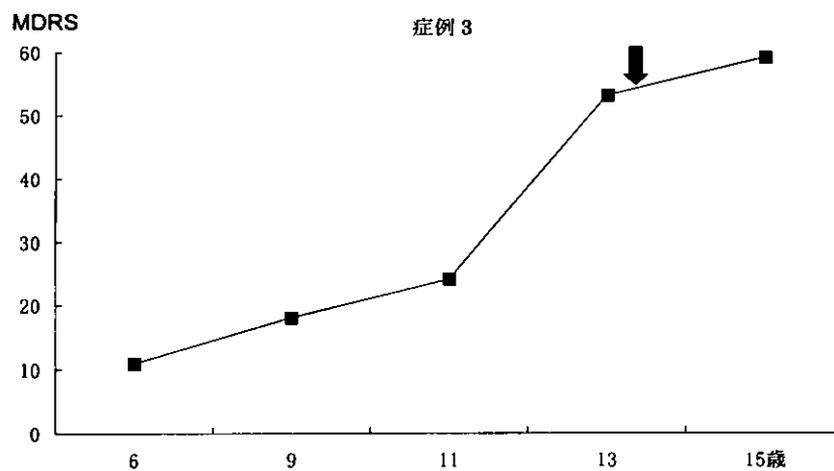
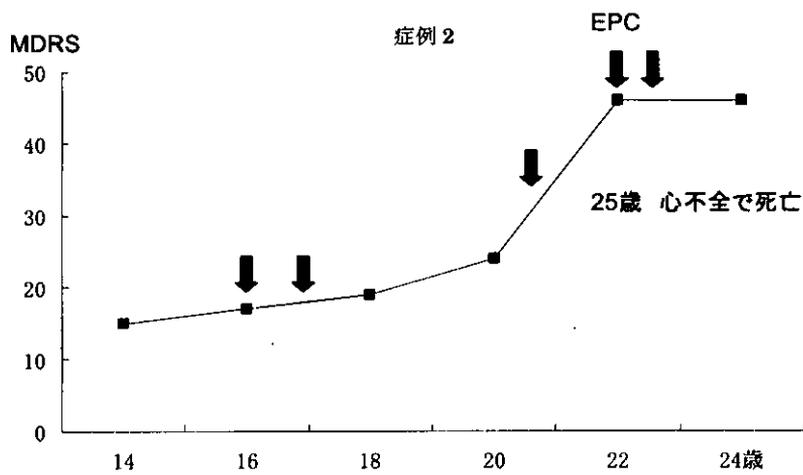
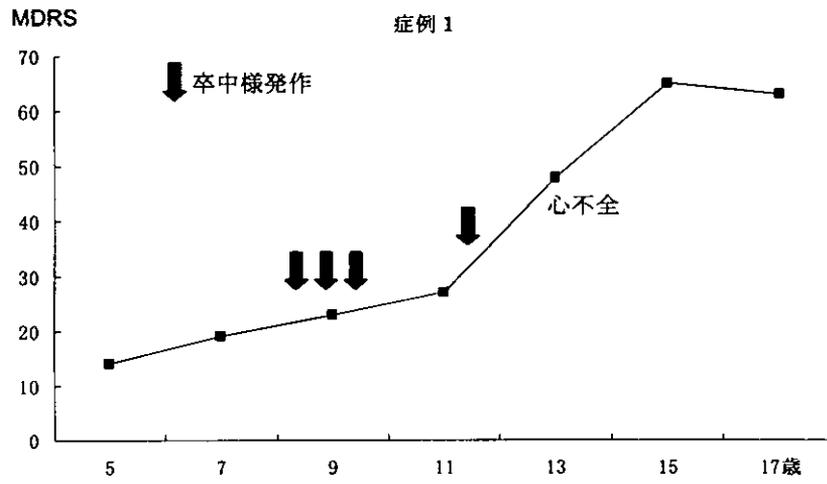


- 2) 田辺雄三: 小児疾患診療のための病態生理 筋・骨・運動器疾患 内分泌性ミオパチー 小児内科 35 suppl.: 964-967, 2003
 - 3) 田辺雄三: 小児外来の検査の要領と診断への活かし方 生検 遺伝子検査 筋生検 小児科臨床 56 suppl.:1463-1470, 2003
 - 4) Kubota H, Kanbayashi T, Tanabe Y, Ito M, Takanashi J, Kohno Y, Shimizu T: Decreased cerebrospinal fluid hypocretin-1 levels near the onset of narcolepsy in 2 prepubertal children. Sleep. 26:555-7, 2003
- 2.研究発表
- 【国内】
- 1) 視床下部に病変があり過眠症を来すと共にオレキシン低値を示した3症例の検討 神林崇, 矢野珠巨, 澤石由記夫, 有井潤子, 久保田博昭, 田辺雄三 日本小児神経学会 2003 福岡
 - 2) 小林一彦, 田辺雄三 MELAS における卒中様発作の臨床的検討 日本小児神経学会 2003 福岡
 - 3) 吉橋学, 有井潤子, 田辺雄三, 鈴木宏, 宮本治子, 藤井克則, 高梨潤一, 河野陽一 A群β溶血性連鎖球菌感染後の急性散在性脳脊髄炎の一例 第45回日本小児神経学会 2003 福岡
 - 4) 永沢佳純, 田辺雄三, 富田美佳, 仙田昌義, 小俣卓, 有井潤子, 久保田博昭, 小林一彦, 藤井克則, 保田貴美子, 前本達男, 高梨潤一, 玉井和人, 河野陽一 本邦における小児 Guillain-Barre 症候群(GBS)の臨床的・電気生理学的特徴 第45回日本小児神経学会 2003 福岡
 - 5) 久保田博昭, 神林崇, 田辺雄三, 伊藤昌弘, 高梨潤一, 河野陽一 髄液中ハイポクレチンが低値であった思春期前発症のナルコレプシーの2例 第45回日本小児神経学会 2003 福岡
 - 6) 新井ひでえ, 田辺雄三, 熊田聡子, 八谷靖夫, 鶴見映子, 神山潤, 古島わかな, 山下純正, 河野陽一 脊髄性筋萎縮症の交感神経機能について 第45回日本小児神経学会 2003 福岡
 - 7) 藤井克則, 田辺雄三, 本島敏乃, 富田美佳, 小俣卓, 久保田博昭, 小林一彦, 高梨潤一, 河野陽一 小児疾患における髄液中14-3-3 protein 検出の意義 第45回日本小児神経学会 2003 福岡
 - 8) 有井潤子, 神林崇, 田辺雄三, 矢野珠巨, 沢石由記夫, 木村滋, 鈴木宏, 宮本治子, 河野陽一 小児神経疾患における髄液中ハイポクレチン(オレキシン)濃度測定の意義 第45回日本小児神経学会 2003 福岡
 - 9) 久保田博昭, 田辺雄三 尿中乳酸高値を呈した Fanconi 症候群, 副甲状腺機能低下症を合併するミトコンドリア病の一例 日本小児腎臓病学会 2003

図1 各症例における MDRS の経年的推移



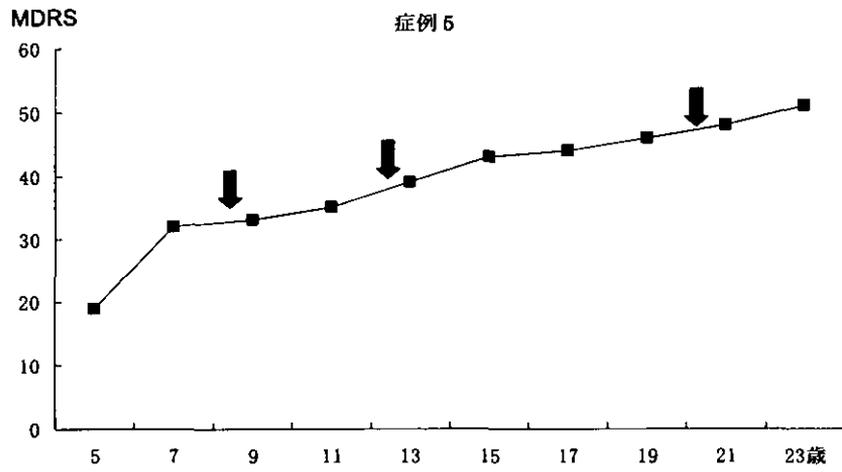
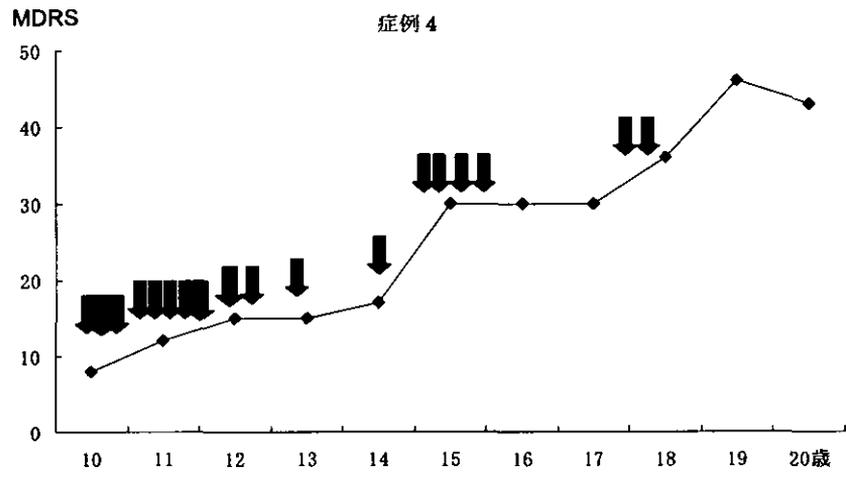


图2 14-3-3 protein detection correlated to MELAS progression

Manifestations

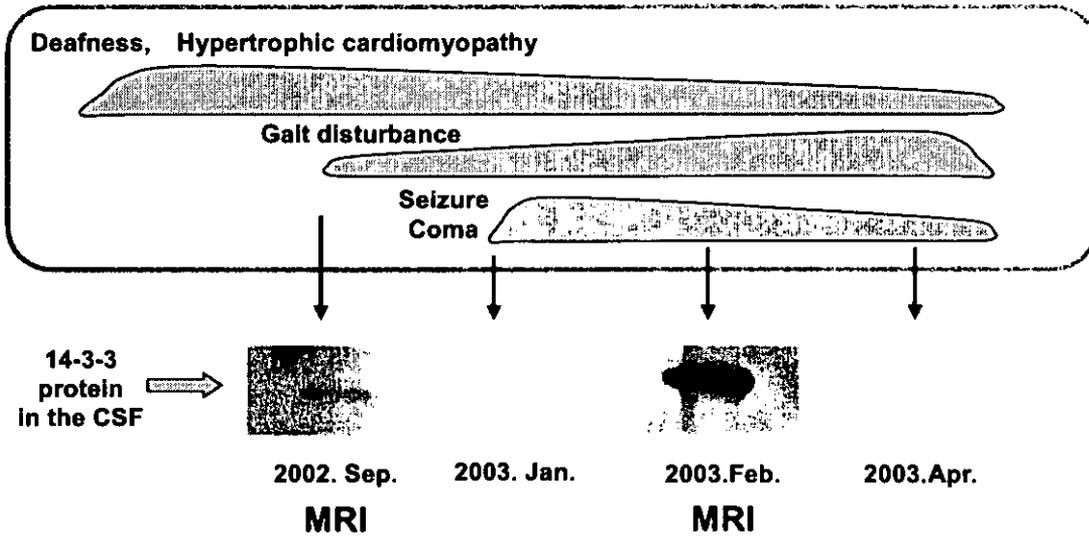
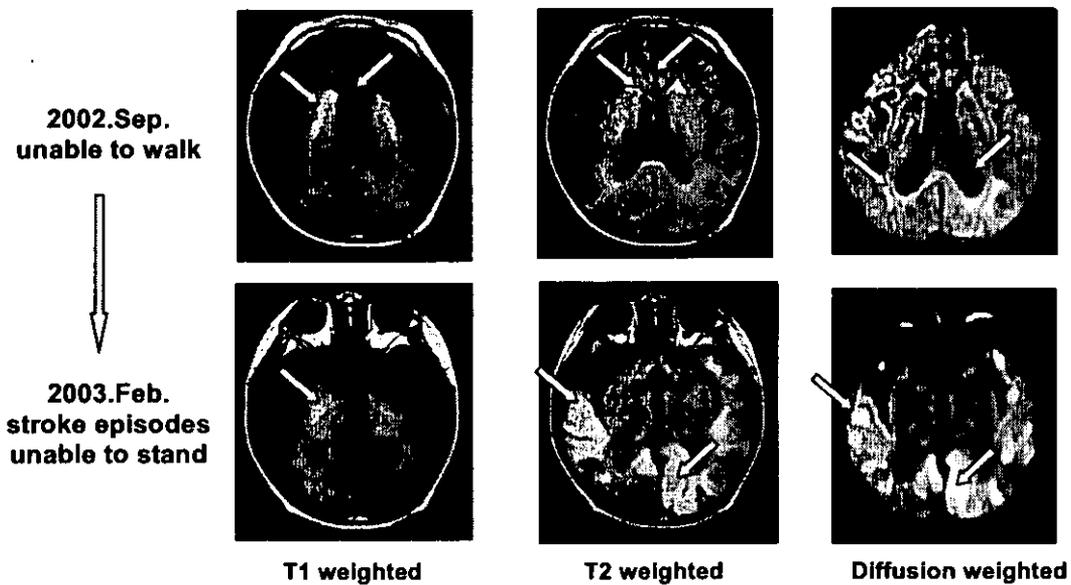


图3 Brain MRI in MELAS



厚生労働科学研究費補助金（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業）
分担研究報告書

小児期発症のミトコンドリア脳筋症に対する L-アルギニンおよびジクロロ酢酸療法の効果判定と分子病態を踏まえた新しい治療法開発に関する臨床研究

小児期発症のミトコンドリア脳筋症に対する治療法開発のための基礎および臨床研究

分担研究者 中野和俊 東京女子医科大学小児科講師

研究協力者 中山智博、佐々木香織、松崎美保子、野田尚子、村上てるみ、
立川恵美子、溝口枝里子、田良島美佳子、斎藤加代子、大澤真木子

研究要旨

ミトコンドリア脳筋症は細胞内小器官であるミトコンドリアの機能障害により全身の種々の臓器が障害される疾患で、エネルギー消費が高い中枢神経系は最も侵されやすく進行性で難治の経過をたどる。これまで我々はHeLa細胞由来の mitochondria-less (ρ^0) 細胞と血小板の融合によりできた cybrid 細胞から、核がなくミトコンドリア活性を持った“ミトコンドリア細胞”を作り出し、持続培養に成功した (Nakano K, et al Mitochondrion 3:21-27: 2003)。

本年度の研究において、ミトコンドリアの働きを理解する基礎的研究として、ミトコンドリア細胞の細胞生物学的解析を行い、ミトコンドリア細胞は原核細胞の性質を持つことがわかった。今後このミトコンドリア細胞を用いて、薬剤がミトコンドリア機能に与える影響を評価するシステムを構築してゆきたい。また、ミトコンドリア脳筋症のうち小児に多い MELAS と Leigh 症候群の臨床症状と病態の把握を試み、それぞれの臨床経過の特徴をまとめた。MELAS は経過とともに発作出現頻度が減少し、急速または緩徐の進行型があり、死因に心筋症、呼吸障害の合併が認められるなどの特徴が認められた。また、Leigh 症候群は臨床と頭部 MRI の経過から亜型分類が可能であると考えられた。これらの特徴を踏まえて今後の薬物治療の評価に生かしてゆきたい。MELAS 患者の脳卒中様症状に対する L-アルギニン治療の試みの検討を進め有効性を認めたが、対象症例が少数であったため今後さらに症例を増やして検討が必要と思われた。

A.研究目的

ミトコンドリア脳筋症は細胞内小器官であるミトコンドリアの機能障害により全身の種々の臓器が障害される疾患で、エネルギー消費が高い中枢神経系は最も侵されやすく進行性で難治の経過をたどる。ミトコンドリア脳筋症へ種々試みられており、我々は、ジクロロ酢酸 Na、クレアチン、ミダゾラム (大津

ら.脳と発達 35:71-74:2003)、ビタミン B1、B2、コエンザイム Q10 などを試み一定の効果を得た (中野ら.東女医大誌 70:E10-E15:2000)。しかし、その効果は病期の進行とともに減弱することを経験している。治療法は確立していない理由のひとつには、ミトコンドリア脳筋症の病態解明は未だ不十分がある。我々は、本研究班においてミトコンドリア脳筋症の病

態解明および治療法の確立を目指して、ミトコンドリア脳筋症の臨床症状と病態の把握、ミトコンドリア脳筋症への治療の試み、細胞レベルでのミトコンドリアの働きを理解する基礎的研究を進めてきた。昨年度の本研究班において、我々は、ミトコンドリア脳筋症におけるクレアチン治療の効果の検討効果をまとめ MELAS に有効の場合があること示した。また、これまで我々は HeLa 細胞由来の mitochondria-less (p^0) 細胞と血小板の融合によりできた cybrid 細胞から、核がなくてミトコンドリア活性を持った“ミトコンドリア細胞”を作り出し、持続培養に成功した (Nakano K, et al Mitochondrion 3:21-27: 2003)。このミトコンドリア細胞は発明名称「核を持たずにミトコンドリア活性を示す培養可能なミトコンドリア細胞」(出願番号：特許 2002-139673)として特許を取得した。

本研究班における小児科、神経内科領域でのミトコンドリア脳筋症の疫学調査では、全体では MELAS (mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes)が 32%、Kearns-Sayre 症候群 (KSS) が 20.8%、Leigh 症候群 18.5%であった。しかし、小児科領域と神経内科領域ではその分布が異なり、小児科領域においては、Leigh 症候群が 31.1%、MELAS が 29.9%であったのに対し、神経内科領域では Kearns-Sayre 症候群 (KSS) が 20.8%、KSS が 38.6%、MELAS が 34.7%であった。小児科領域では MELAS と Leigh 症候群の発症頻度が高いといえる。

我々の本年度の研究において、ミトコンドリアの働きを理解する基礎的研究として、ミトコンドリア細胞の細胞生物学的解析を行った。また、ミトコンドリア脳筋症への治療戦略の一環として、ミトコンドリア脳筋症のうち小児に多い MELAS と Leigh 症候群の臨床

症状と病態の把握を試み、さらに、MELAS への L-アルギニン治療の試みの検討を進めた。

B.研究方法

1. 核を持たないミトコンドリア細胞の細胞生物学的研究

従来ミトコンドリアは細胞外で培養は不可能と考えられてきた。我々はミトコンドリアの性質を保ちながら核のない安定した cell line の分離に成功し、この細胞が増殖することを発見した。今回我々はミトコンドリア細胞の生物学的特性を明らかにするために、酵素活性や構成蛋白の解析を行った。ミトコンドリア細胞を用い、Succinate cytochrome c oxidoreductase(複合体 II + III)、cytochrome c oxidase (複合体IV)の呼吸鎖酵素活性の測定および組織化学染色を行った。細胞骨格およびミトコンドリア構成蛋白に対する抗体を用い、細胞の免疫染色を行った。核およびミトコンドリア DNA(mtDNA)の PCR 解析を行った。

2. MELAS の臨床症状と病態の研究

対象は、症状、高乳酸アシドーシス、筋生検上 ragged red fiber の存在、mtDNA 変異の有無などにより診断した MELAS の 8 例 (男 3 例、女 5 例)である。症例は、初発 3 歳から 15 歳 2 ヶ月、最終受診時年齢 6 歳 11 ヶ月から 29 歳であった。MELAS 例における症状、経過を後方視的に分析した。

3. Leigh 症候群の臨床症状と病態の研究

対象は、Leigh 症候群と診断した 10 例 (男 2 例、女 8 例)である。Leigh 症候群は、発症年齢は日齢 0 から 8 歳 (平均 2 歳 2 ヶ月)、最終受診年齢は 1 歳 7 ヶ月から 17 歳 4 ヶ月、死亡が 2 例であった。Leigh 症候群症例の臨床経過と頭部 MRI の縦断的に検討した。観察期間は 1 年 7 ヶ月から 10 年 9 ヶ月 (平均 5 年 8 ヶ月)であり、観察の間隔は、1 ヶ月から 3 年であった。計 75 の脳 MRI を主に T2 強調画像 (軸位断、矢状

断、冠状断)にて検討した。Leigh 症候群における亜型分類を試みた。

4. MELAS 患者の脳卒中様発作に対する L-アルギニン療法の効果の検討

対象は、MELAS の 2 例、3 エピソードである。症例 1 は 14 歳女児、6 歳過ぎより頭痛あり、9 歳時、意識障害を合併した。mtDNA は A3243G 変異、筋病理で RRFs を認めた。本例は 1 エピソードで、頭痛、嘔吐、閃輝暗点を主症状とした。症例 2 は 16 歳男児、8 歳時に高音域難聴、10 歳時に視力低下、13 歳から単純部分発作、全身強直発作が出現。mtDNA 変異は未検出、筋病理で SSV を認めた。本例は 2 エピソードで、眼痛・頭痛を主症状とした。

倫理委員会の許可後、保護者からインフォームドコンセントを得た上で、10%塩酸 L-アルギニン製剤 5ml-10ml/kg を 1 時間以上かけて点滴静注を行った。評価は古賀（久留米大学小児科）のプロトコルを用いて、卒中様発作時の臨床症状の変化（頭痛・眼痛、嘔吐、嘔気、閃輝暗点、一過性失明、半身痙攣、意識障害の有無と移動の難易度）、および臨床検査の変化を経時的に 24 時間観察した。

（倫理面への配慮）

研究に先立ち、患者には研究の目的および、主旨を十分に説明し、同意が得られた場合のみ、研究に用いた。L-アルギニン療法に関しては、使用に先立って大学内の倫理委員会の承認を得て患者本人、両親または保護者のインフォームドコンセントを得た上で治療を行った。遺伝子解析研究に関しては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守する。

C. 研究結果

1. 核を持たないミトコンドリア細胞の細胞生物学的研究

ミトコンドリア細胞の呼吸鎖酵素活性は、

複合体 II + III、IV の活性が認められた。ミトコンドリア細胞は Gomori-trichrome 染色、SDH 染色、CCO 染色すべて陽性に染まった。細胞免疫染色では、細胞骨格である tubulin, actin また呼吸鎖及びミトコンドリア内膜タンパクの抗体(anti complex IV subunit I-IV・IV, anti SURF-1)で染色性が認められた。これらの結果より、ミトコンドリア細胞は mtDNA にコードされているミトコンドリア呼吸鎖酵素タンパクのみならず核 DNA に支配されている細胞骨格タンパク、呼吸鎖及びミトコンドリア内膜タンパクを保持していることが確認できた。PCR の検討からミトコンドリア細胞は mtDNA および核 DNA を保持することが推定される。

2. MELAS の臨床症状と病態の研究

初発症状は、筋症状 4 例、中枢神経症状 3 例、両者同時出現 1 例であった。片頭痛様発作を 28 エピソードに認めた。痙攣を伴う発作が認められた 7 例 31 エピソードの内、痙攣に先行して 4 例 7 エピソードに頭痛を、3 例 6 エピソードに嘔吐を、2 例 5 エピソードに視覚症状を認めた。片頭痛、嘔吐、意識障害、半盲・羞明、閃輝などの眼症状、痙攣（全身性痙攣、部分痙攣、持続性部分痙攣：EPC、眼瞼ミオクローヌス）、一過性片麻痺、小脳性失調が出現した。同一症例で経時的に痙攣発作型・出現部位が変化し、4 例では多源性、1 例では交代性痙攣、4 例では群発、2 例では EPC が出現した。経過とともに発作出現頻度が減少する一方で、脳筋症が徐々に進行するタイプ、急速に脳筋症が進行するタイプ、心筋症が進行するタイプを認めた。死亡例は 3 例で初発年齢は 3 歳 5 ヶ月から 7 歳 7 ヶ月であった。死亡時年齢は 6 歳 11 ヶ月から 14 歳 3 ヶ月、拡張型心筋症、乳酸性アシドーシスを伴う痙攣群発、誤嚥性肺炎にて死亡、内 2 例で知的、運動機能は最重症であった。

3. Leigh 症候群の臨床症状と病態の研究

Leigh 症候群は、縦断的、経時的な頭部 MRI と臨床経過の検討から、①基底核型、②大脳皮質基底核型、③大脳皮質基底核脳幹型、④小脳基底核型、⑤小脳脳幹型に分類されると考えられた。①基底核型は臨床症状として、主に錐体外路症状を特徴とし、MRI では主に被殻、尾状核などの基底核の T2 強調像での高信号を示す。臨床症状が出現する以前から基底核病変が出現し、主な障害部位が基底核に限局したままであった。病因遺伝子は不明で COX 部分欠損が認められた。②大脳皮質基底核型は臨床症状として、重度の精神遅滞、筋緊張低下、乳幼児期からの West 症候群などのけいれんを特徴とする。MRI では、大脳皮質の萎縮、基底核の高信号を示す。病因遺伝子は不明である。③大脳皮質基底核脳幹型は大脳から脳幹まで広範囲の萎縮を呈する重症型で、臨床症状として、呼吸障害、嚥下障害などの脳幹障害が特徴である。出生直後から乳児期に発症し、重度の精神遅滞、West 症候群などのけいれんがあり、生命予後不良である。MRI では、著明な大脳皮質の萎縮、基底核および脳幹の萎縮を認める。病因遺伝子は T8993G 変異が認められた。④基底核小脳脳幹型は臨床症状として、歩行時のふらつきなどの小脳症状を呈する。幼児期以降に発症し、精神遅滞は境界から軽度だが、感染時に神経症状が劇的に増悪、退行することが特徴である。MRI 上、小脳の萎縮、基底核病変を主体とする。病因遺伝子は T8993C、T9176C 変異が認められた。⑤小脳脳幹型は精神遅滞が軽度で、小脳症状が目立つこと、ミオクローヌスを呈することが特徴であった。また、しばしば感染などをきっかけに、呼吸障害などの重篤な脳幹障害を認めた。錐体外路症状を認めなかった。MRI でも基底核の所見を認めず、小脳の萎縮、中脳、延髄などの脳幹の高信号、

萎縮が主体であった。病因遺伝子は A8344G 変異が認められた。

4. MELAS 患者の脳卒中様発作に対する L-アルギニン療法の効果の検討

検討した 2 症例 3 エピソードにおいて L-アルギニン点滴静注を開始後、頭痛・眼痛は 1 時間以内に軽減、消失したが、閃輝暗点は頭痛・眼痛よりも消失までに時間を要する傾向にあった。しかし、いずれの症状も 24 時間以内に消失した。L-アルギニン点滴静注により従来経験している卒中様発作より短時間に改善した。

D. 考察

1. ミトコンドリアを理解する基礎的研究

細胞小器官であるミトコンドリアはかつて自由に生きていた細菌(原核細胞)であって、2 億年前にこの細菌が宿主(有核細胞)と共生したという仮説が広く考えられている。最近の研究でミトコンドリアと α -proteobacteria は多くの遺伝的相同性が認められておりこの仮定は支持されている(Gray W., et al. *Science* 283, 1476-1481:1999)。しかし、永年の進化の過程で共生した原核細胞の DNA の多くは核に移行したため、これまではミトコンドリアは独自に増殖する能力が無いと考えられてきた(Martin W., *Science* 287, 1219 :2000)。

我々は核がなくても持続的に培養可能なミトコンドリア活性を示すミトコンドリア細胞を作り出した(Nakano K, et al *Mitochondrion* 3:21-27: 2003)。このミトコンドリア細胞は核を有しなくても増殖が可能であり、また、核と mtDNA 双方にコードされるタンパクを持つことから、ミトコンドリア細胞は原核生物の要素を持つと考えられる。我々のミトコンドリア細胞の細胞生物学的研究は解析途中だが、2 億年の昔の原核生物に近いものに先祖がえりした可能性も考えられる。mtDNA と核

DNA の相互関係の解明は不十分だが、ミトコンドリア細胞の DNA をさらに詳しく解析することによりミトコンドリア細胞を維持するのに何が必要なのか明らかにすることができる。我々は T9176C 変異のミトコンドリア細胞が野生型のそれよりミトコンドリア膜活性が低値であることを示した (Nakano K, et al Mitochondrion 3:21-27: 2003)。このことは mtDNA 変異によるミトコンドリア活性の変化は、ミトコンドリア細胞が有核細胞より明らかになる可能性があることを示唆する。今後、mtDNA 変異によるミトコンドリア細胞の特異性への理解が深まれば、L-アルギニン、ジクロロ酢酸 Na、クレアチンなどが選択的に使用可能となると考える。

2. ミトコンドリア脳筋症における臨床症状と病態の研究

ミトコンドリア脳筋症は MELAS や Leigh 症候群など同一疾患内においても症状の発現は様々であり、同一患者においても長期の経過で症状は変化する。ミトコンドリア脳筋症に対する治療薬が、同一疾患でも、有効と無効の場合がある。また、同一患者においても当初は有効であった治療薬が症状の進行とともに無効になる場合があることを経験している。これらはミトコンドリア脳筋症の各疾患の臨床的特徴、自然経過の特徴や重症度がどのように影響するかを評価が重要であることを意味する。

この度、我々は MELAS と Leigh 症候群の長期経過を診て臨床的特徴を観察した。MELAS は経過とともに発作出現頻度が減少し、急速または緩徐の進行型があり、死因に心筋症、呼吸障害の合併が認められるなどの特徴が認められた。また、Leigh 症候群は臨床と頭部 MRI の経過から亜型分類が可能であると考えられた。これらの特徴を今後検討して、さらにそれぞれの特徴と治療薬への相関を調

べ治療薬の評価へとつなげてゆきたいと考えている。

3. 脳卒中様発作に対する薬物療法

MELAS は卒中様発作を繰り返して神経症状は進行する。我々はこれまで卒中様発作に対して、ジクロロ酢酸 Na、クレアチン (中野ら.東女医大誌 70:E10-E15:2000)、ミダゾラム (大津ら.脳と発達 35:71-74:2003)を試み一定の効果を得た。近年、L-アルギニンの血管拡張作用が着目され、古賀らは卒中様発作への L-アルギニンの点滴静注療法が有効と報告している (Koga Y. et al. Neurology 58:827-828, 2002)。この度の我々の「MELAS 患者の脳卒中様発作に対する L-アルギニン療法の効果の検討」では、検討した 2 症例 3 エピソードにおいて L-アルギニン点滴中より症状は軽減し、開始後 24 時間以内に症状は消失した。これまで我々は脳卒中様発作に対するミダゾラムの速効性の効果を経験しているが (大津ら.脳と発達 35:71-74:2003)、L-アルギニン療法においても自然経過に認められる頑固な持続する頭痛が即効的に改善することが確認できた。しかし、検討した症例は少数であり L-アルギニン療法の有効性を実証するために今後さらに症例を重ねる必要がある。

E. 結論

本年度の研究において、ミトコンドリアの働きを理解する基礎的研究として、ミトコンドリア細胞の細胞生物学的解析を行い、ミトコンドリア細胞は原核細胞の性質を持つことがわかった。今後このミトコンドリア細胞を用いて、薬剤がミトコンドリア機能に与える影響を評価するシステムを構築したい。また、ミトコンドリア脳筋症のうち小児に多い MELAS と Leigh 症候群の臨床症状と病態の把握を試み、それぞれの臨床経過の特徴をまとめた。これらの特徴を踏まえて今後の薬物治

療の評価に生かしてゆきたい。MELAS 患者の脳卒中様症状に対する L-アルギニン治療の試みの検討を進め有効性を認めたが、対象の症例が少数であったため今後さらに症例を増やして検討が必要と思われた。

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1.論文発表

- 1) 中野和俊、王 崇メイ、武藤順子ら。ミトコンドリア脳筋症の治療-1999 年- 東女医大誌 70:E10-E15:2000
- 2) Nakano K., Ohsawa I, Yamagata K et al. Continuous culture of novel mitochondrial cells lacking nuclei. Mitochondrion 3:21-27:2003
- 3) 松崎美穂子、中野和俊、大澤真木子。MELAS における脳卒中様発作と臨床小児科 44:377-385:2003
- 4) Yasaki E, Saito Y, Nakano K, et al. Characteristics of breathing abnormality in Leigh and its overlap syndromes. Neuropediatrics 32:299-303:2001
- 5) Nakano K, Zhagi Z, Shimozawa N, et al. D-bifunctional protein deficiency with fetal ascites, polyhydramnios, and contractures of hands and toes. J Pediatr 139:865-867:2001
- 6) 中野和俊、中山智博、佐々木香織。心ブロック 日本臨床:60 増刊:652-655:2002
- 7) 伊藤 康、中野和俊、宍倉啓子ら。乳児期発症筋型極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症の 1 例。 35:491-497:2003
- 8) 中野和俊、中山智博、佐々木香織ら。ミトコンドリア脳筋症(MELAS, Leigh 症候群)を成因とする小児難治性てんかんの診断、治療に関する研究 てんかん治療研究振興財団研究年報 15:49-56:2003

2.学会発表

- 1) 中野和俊、中山智博、佐々木香織ら。核を持たずにミトコンドリア活性を示す“ミトコンドリア細胞”の増殖と酵素活性の検討。第 45 回日本小児神経学会、福岡、2003
- 2) 松崎美保子、中野和俊、佐々木香織ら。MELAS における脳卒中様発作の臨床的特長、脳波、脳画像の経時的変化。第 45 回日本小児神経学会、福岡、2003
- 3) 田良島美佳子、中野和俊、佐々木香織ら。Leigh 症候群の経過-頭部 MRI 画像を中心に-。第 45 回日本小児神経学会、福岡、2003
- 4) 中山智博、中野和俊、野田尚子ら。核をもたないミトコンドリア細胞の細胞生物学的研究。第 3 回日本ミトコンドリア研究会 福岡 2003
- 5) 松崎美保子、中野和俊、佐々木香織ら。小児発症 MELAS の予後。第 3 回日本ミトコンドリア研究会 福岡 2003
- 6) 立川恵美子、中野和俊、中山智博ら。Leigh 症候群の原因となる T9176C ミトコンドリア DNA 変異を持つサイブリッド細胞増殖速度の検討。第 46 回日本先天代謝異常学会 松江 2003
- 7) 中野和俊、中山智博、佐々木香織ら。ミトコンドリア脳筋症(MELAS, Leigh 症候群)を成因とする小児難治性てんかんの診断、治療に関する研究 てんかん治療研究振興財団研究報告会 千里 2003

H.知的財産権の出願・登録状況

1.特許取得

発明名称「核を持たずにミトコンドリア活性を示す培養可能なミトコンドリア細胞」(出願番号:特許 2002-139673)として特許を取得した。

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

小児期発症のミトコンドリア脳筋症に対する L-アルギニンおよびジクロロ酢酸
療法の効果判定と分子病態を踏まえた新しい治療法開発に関する臨床研究

高乳酸血症と脳卒中様症状を伴うミトコンドリア脳筋症の臨床的研究

分担研究者 松岡太郎 市立豊中病院小児科主任医長

研究要旨

高乳酸血症と脳卒中様症状を伴うミトコンドリア脳筋症（mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes、以下 MELAS）は、繰り返す脳卒中様症状が特徴的である。しかし、経過観察中には、中枢神経系以外の様々な臨床症状や所見を呈する。今回、2例の MELAS の経過観察中に、1例においては偽性腸閉塞を、1例においては糖尿病の発症を認め、共に治療に難渋したので報告する。

A.研究目的

高乳酸血症と脳卒中様症状を伴うミトコンドリア脳筋症（mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes、以下 MELAS）の中枢神経系以外の臨床的特徴を明らかにする。

B.研究方法

共に女兒の MELAS 2例を対象とした。2例共に、血液を用いた PCR 法による検索でミトコンドリア DNA 塩基番号 3243 のアデニンからグアニンへの点変異を認めた（遺伝子解析をしていただきました国立精神・神経センター神経研究所の後藤雄一先生に深謝いたします）。症例 1 は診断時年齢 4 歳、死亡時年齢 9 歳、経過観察期間 5 年 1 カ月であった。症例 2 は診断時年齢 14 歳、現在の年齢 20 歳、経過観察期間 5 年 11 カ月である。

C.研究結果

研究結果

① 症例 1：偽性腸閉塞

本症例は、5 歳時から寝たきりであり、反

復する誤嚥性肺炎のため、6 歳時に噴門形成術と胃瘻造設術を施行されていた。8 歳 11 カ月時（死亡前 2 カ月）に肺炎に罹患し入院となった。胃瘻からの注入がほぼ全量停滞し胆汁が混じるようになった。パントテン酸（ビタミン B5）やジノプロスト（プロスタグランジン F2α）を投与したが改善しなかった。入院 1 週間後の極期には絶食となり、中心静脈栄養の開始が検討された。この時の血清アミラーゼが正常上限の約 8 倍に上昇していた。肺炎の改善に伴い、保存的治療にて胃瘻からの注入が可能となり、入院 3 週間後の退院時には、注入量は入院前と同量とすることができた。血清アミラーゼは低下していたが、なお正常の 2 倍と軽度上昇していた。

② 症例 2：糖尿病

本症例は、MELAS と診断された 14 歳時から OGTT は「糖尿病型」を示していた。HbA1c の上昇は軽度であった。17 歳時から血液検査で HbA1c 値の上昇が明らかとなった。グルカゴン負荷試験ではインスリンの分泌は比較的保たれていた。食事療法と運動療法が

指導されたが、食欲不振や筋力低下のため十分に施行されていなかった。18歳時にHbA1cが13%となったため、ご家族と相談し、インスリン療法が「一日2回打ち」で開始となった。低血糖発作を呈することなく、HbA1cは順調に低下した。しかし、約3年間ほぼコントロールされていた脳卒中様症状がHbA1cの低下とともに再出現し、反復した。HbA1cが7%まで低下した時点で痙攣重積を呈し、回復後も運動障害と人格障害が残った。以後は「緩めの」コントロールとし、HbA1cは10%以上である。脳卒中様症状の再発はない。

D.考察

- ① ミトコンドリア脳筋症における偽性腸閉塞は難治性で生命予後に大きく関与する。
- ② 血清アミラーゼ値は、ミトコンドリア脳筋症における潜在的な偽性腸閉塞のモニタリングに有用かも知れない。
- ③ (1) 毎日一定のカロリーを規則正しく摂取するのが困難で、食事療法が十分にできない、(2) 筋力低下や失調などのため、運動療法が十分にできない、などの理由で、ミトコンドリア脳筋症の耐糖能異常の治療は困難である。

- ④ MELASの自験例では、インスリンを用いた糖尿病の治療が脳卒中様症状の誘発因子になった可能性がある。

E.結論

ミトコンドリア脳筋症における偽性腸閉塞や糖尿病などの中枢神経系以外の症状や所見に対する治療方針の選択には、原病の予後を含めた十分な検討が必要と考えられる。

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1.論文発表

なし

2.学会発表

なし

H.知的財産権の出願・登録状況

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

小児期発症のミトコンドリア脳筋症に対する L-アルギニンおよびジクロロ酢酸
療法の効果判定と分子病態を踏まえた新しい治療法開発に関する臨床研究

ミトコンドリア異常を持つ培養細胞における動態変化に関する検討
－細胞内活性酸素発現変化及び遺伝子発現変化－

分担研究者 馬嶋秀行 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
腫瘍学講座顎顔面放射線学研究分野・宇宙環境医学講座教授
研究協力者 犬童寛子、富田和男

研究要旨

小児期発症のミトコンドリア脳筋症ではミトコンドリア DNA 突然変異がその原因であることが知られている。ミトコンドリア DNA 突然変異を有する細胞では、ミトコンドリア DNA が電子伝達系の一部の構成蛋白質をコードしているため、不完全な電子伝達系から発生するスーパーオキシド量を増大している可能性がある。しかし、細胞中に発生する活性酸素のうち、ミトコンドリアから発生酸素がどのくらいの割合なのかは明らかではない。本研究では、新しく開発したヒドロキシラジカル検出試薬を用い、共焦点レーザー顕微鏡にて生細胞を観察し、細胞中の活性酸素発生を検出して、細胞内活性酸素の分布を調べた。その結果、細胞内発生活性酸素のうち、その大部分は、ミトコンドリアから発生していることを検証し、また、その活性酸素発生量は、電子伝達系の阻害剤で増大する事を見出した。さらに、ミトコンドリア DNA 障害細胞でも発生する活性酸素の増大を認めた。これらは、小児期発症のミトコンドリア脳筋症の発症機序の一つが、ミトコンドリアから発生する活性酸素発生である可能性を示唆した。

A.研究目的

小児期発症のミトコンドリア脳筋症ではミトコンドリア DNA 突然変異がその原因であることが知られている。ミトコンドリア DNA 突然変異等ミトコンドリア障害を有するとこれにより活性酸素が発生し、これがミトコンドリア脳筋症の病因となっている可能性が高い。

本研究ではミトコンドリア由来活性酸素検出法をまず確立する事を行い、ミトコンドリア障害細胞からの活性酸素増大を調べる事を目的とした。

B.研究方法

生細胞を用い、新しく開発を行った 2-[6-(4'-hydroxy)phenoxy-3H-xanthen-3-on-9-y l] benzoic acid (HPF)を用い、共焦点レーザー顕微鏡でミトコンドリアから発生する活性酸素の画像的検出を試みた。

C.研究結果

本研究では、ヒト細胞（143B）を用いた（他の細胞でもよい）。ヒト細胞は、10% 牛胎児血清を含むダルベッコ MEM 培養液を用い、37℃にて5%炭酸ガスを含む空気中

で培養した。細胞を上記の培養液を含むグラスボトムディッシュ(MarTek Corp., Ashland, MA, U.S.A.)に播種し、およそ1日上記の条件にて培養した。上記の培養液をハンス液(HBSS)(10.0 mM HEPES, 1.0 mM MgCl₂, 2 mM CaCl₂, and 2.7 mM glucose, pH 7.3±0.05)に置換する。活性酸素の観察には、活性酸素種のうちヒドロキシラジカルを比較的特異的に反応し蛍光を発するHPFを用いた。共焦点レーザー顕微鏡にて、500μWの488nmの励起光を0.4秒間照射し、515nmバリアフリーフィルターを用い、観察する。画像はコンピューターに保存し、後、コンピューター上で蛍光強度を作成したプログラムを用い強度を求めた。

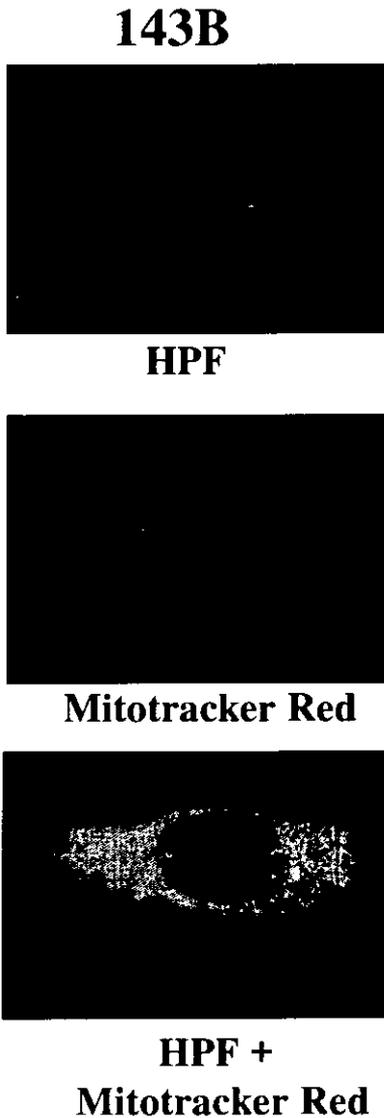


図1 HPFを用い観察された蛍光観察像

HPFを用いた活性酸素検出は、ミトコンドリア付近に認められ、ミトコンドリア特定検出試薬の分布と一致したことにより、HPFを用いるとミトコンドリアから発生する活性酸素を検出していることが明らかとされた。(図1)

また、電子伝達系の阻害剤(マイトマイシンAおよびロテノン)を用いることにより、ミトコンドリア由来活性酸素発生が増強して観察され、MnSOD遺伝子のトランスフェクションにより減少が観察された。(図2)

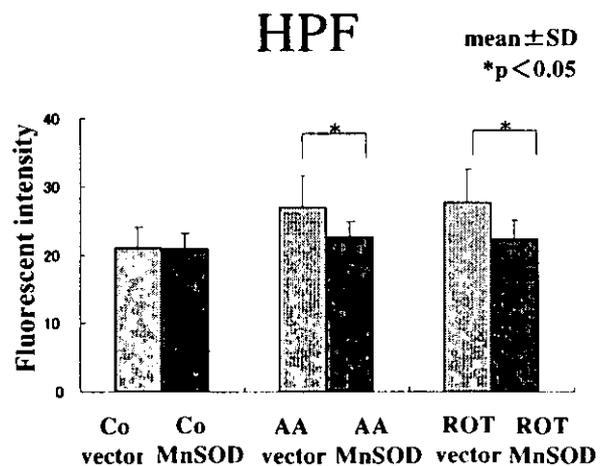


図2 アンタマイシンA及びロテノンを用いた蛍光検出量、ならびにMnSODを発現したときの蛍光検出量

D. 考察

最近、原因不明の難病等の原因が実は活性酸素の病気であるということがわかりつつある。これらの病気は急性ではなく慢性の症状を伴うことが多い。また、種々の毒物等の細胞に対する影響は、細胞核DNAに対する影響のみではなく、細胞内 redox status、anti-oxidative response、シグナルトランスダクション系、DNAトランスクリプション系の変化を伴う複雑な様相を示し、この結果として、細胞死がおこることが明らかにされつつある。一方、細胞の致死にはネクローシスとアポトーシスの2つの形態があることが知られている。アポトーシスの致死形態の最

近の知見では、アポトーシスにミトコンドリアが重要な役割を果たしていることが唱えられ、これらは総称してミトコンドリア関連死 (mitochondria mediated cell death) と呼ばれている。ミトコンドリア関連死では、ミトコンドリアの膜電位の減少あるいは変化、細胞内カルシウムの上昇、通常ミトコンドリアに存在するチトクローム c の放出が報告され、我々はさらに、ミトコンドリアに存在する MnSOD over expressed 細胞でアポトーシスが抑制されることを明らかにしている。また、酸化ストレスによりミトコンドリア DNA に突然変異を多く発生し、老化、および、アルツハイマー、パーキンソン、ALS 等、多くの神経疾患でやはりミトコンドリアの障害がみついている。すなわち、酸化ストレスとミトコンドリア障害の関連が浮きぼりにされてきている。このほか、ミトコンドリアには、前述のアポトーシスの前駆体であるチトクローム c をはじめ、apoptosis-inducing factor (AIF)、また、caspase 前駆体が存在し自らの細胞の致死に機能している。ミトコンドリアの本来の機能は細胞内の最大のエネルギー産生機能である。

ミトコンドリア電子伝達系とスーパーオキシド産生

ミトコンドリア内膜には電子伝達系が存在し酸素下で ATP 合成が行なわれている。この電子伝達系は Complex I から V および ATP synthase、ANP translocator から構成されている。一方、ミトコンドリアには DNA が存在し、この DNA はこれらの蛋白質のうち 13 の蛋白質をコードしている。ミトコンドリア DNA では核 DNA とコドンのシーケンスが異なることが知られている。このミトコンドリア電子伝達系は電子の酸化還元をくり返し、その間に水素イオンを膜間隙に

移し、再び水素イオンをマトリックスに移行させ、そのエネルギーにより ATP を ADP に変換し、その産生された ATP を膜間隙に移行している。この複雑な“バイオマシン”は細胞中の最も大きなエネルギー製造器官となっているが、一方完璧なマシンではなく、電子の“もれ”を生じることが知られている。このもれは Complex I と III から最も生ずる。通常、正常な状態でも 2~3% の電子のもれが生じ、これからスーパーオキシドが発生すると考えられている。則ち、このもれ電子は酸素により確保され、酸素はスーパーオキシドとなる。成人で 1 日およそ 250g の酸素を消費するが、この 2~3% の電子のもれにより細胞では最大のスーパーオキシドの発生源となっている。ミトコンドリアには、特有のマンガンスーパーオキシドが存在するが、この酵素の役割はこのスーパーオキシドを捕獲する役割上重要であることが容易に示唆される。

電子伝達系の異常と疾患

最近、この電子伝達系の異常による病気が多数報告されつつある。パーキンソン病では、電子伝達系の Complex I にその異常が集中している。前述のようにこの部は最も大きなスーパーオキシドのもれを生ずる部であり、この部の異常により、さらにスーパーオキシドのもれを生ずることが考えられる。この結果多量のスーパーオキシドが発生し、これがパーキンソン病の病因になっていることも考えられる。パーキンソン病のほか、多くの神経系疾患でミトコンドリア DNA の突然変異が報告されている。これらの疾患でも同様にミトコンドリアから大量のスーパーオキシドの発生が容易に予想され、これが病因となっている可能性が大きい。老化研究では、細胞の加齢に伴い、ミトコンドリア

DNA の欠損がおこることが知られている。ミトコンドリア DNA は人では 16569 の塩基対からなるが、このうち、一定の部分が消失する、common deletion の現象が報告されている。加齢により、このような common deletion が増大し、また、神経障害疾患では特に、この common deletion が早期におこり始めることが知られている。ミトコンドリア DNA common deletion では、この部が特に電子伝達系の ATPase 蛋白質を部分的にコードしているため前述のように、より大量のスーパーオキシドが放出されることが予想される。これが、疾病の原因になっている可能性が大きい。スーパーオキシドが細胞内酸化の源であるということはすでに 30 年前からスーパーオキシドセオリー (Superoxide Theory) として唱えられている。

スーパーオキシドセオリー (Superoxide Theory)

スーパーオキシドセオリー (Superoxide Theory) とは、活性酸素のうちスーパーオキシド (O_2^-) こそが、活性酸素群系列の最初を担う重要な物質であるという説である。これは、1969年に Fridovich 博士がスーパーオキシドを駆除するスーパーオキシドディスムターゼ (Cu Zn SOD) を発見したことにその端を発する。同博士は、1973年にはミトコンドリアマンガンスーパーオキシドディスムターゼ (MnSOD) をも発見している。ところが、およそ、その10年後には、スーパーオキシドセオリーは、あまり効果がないようなことになってしまう。それは、スーパーオキシドはそれ自体活性は弱く、反応性に乏しいとする研究が発表されたことによる。実は、このことは数年前まで、信じられてきた。この反論説から、また、数年が経過したころには、一酸化窒素が発表

され注目されることになる。そののち、スーパーオキシドと一酸化窒素は容易に反応し、peroxinitrite という反応活性の著しく高い物質に変わることがわかった。我々は、1998年には、マンガンスーパーオキシドディスムターゼの遺伝子をトランスフェクトした細胞では、活性酸素刺激により生じるアポトーシス死に対し抵抗性を示すことを明らかにした。すなわち、ミトコンドリア内スーパーオキシドの量を少なくするようにコントロールすることこそ、一連の後に続く生体内反応を制御することが可能であるということの意味する。

本研究では、新しい活性酸素検出蛍光試薬 HPF を観察することにより細胞内活性酸素がミトコンドリアに集中して認められることを確認することができ、しかも、その活性酸素は電子伝達系阻害剤で増大し、MnSOD により減少した。これらは、上記のスーパーオキシドがミトコンドリアから発生している事を示し、かつ細胞内発生活性酸素の大半がミトコンドリアから発生していることを示している。これらから、小児期発症のミトコンドリア脳筋症の発症機序の一つが、ミトコンドリアから発生する活性酸素発生である可能性を示唆した。

E. 結論

現在まで、細胞内活性酸素の検出には 2,7-dichlorofluorescein diacetate (DCF)、および dihydrorhidamine 123 (DHR)、及び hydroethidine (HE) があるが、いずれも、活性酸素発生細胞内小器官を特定できない。我々の新しく作成した HPF は、OH ラジカルを特異的に検出する (Setsukinai et al., JBC, 2003)。この HPF を用い、細胞内 ROS 検出を行うと、

1) 蛍光はミトコンドリア付近に集中して認められた。

2) ミトコンドリアを特異的に認識する蛍光試薬(Mitotracker)を用い、1) の画像を重ねると両者が一致して認められた。

3) さらに、HPF の蛍光は細胞内 MnSOD 遺伝子の発現により抑制された。

これらより、1) で認められた蛍光部はミトコンドリアから発生し、スーパーオキシドに起因すると言う事が明かにされた。従って、細胞内に発生する活性酸素のほとんどはミトコンドリアから発生する事が世界で初めてわかった。来年度は、さらにミトコンドリア DNA 障害とミトコンドリア発生活性酸素について調べ、ミトコンドリア発生活性酸素を明かにする予定である。

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1.論文発表

【原著】

英文

- 1) Kakinuma S, Kubo A, Amasaki Y, Nojima K, Monobe M, Majima HJ, Imaoka T, Nishimura M, Shimada Y: Loss of heterozygosity in heavy-ion- induced murine T-cell lymphomas, *Biological Sciences in Space*, 17(3):187, 2003.
- 2) Yen H-C, Nien C-Y, Majima HJ, Lee C-P, Chen S-Y, Wei J-S. Increase of Lipid Peroxidation by Cisplatin in WI38 but not in SV40-transformed WI38 cells. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2003 17(1):1-8.
- 3) Setsukinai K, Urano Y, Kakinuma K, Majima HJ, Nagano T: Development of novel fluorescence probes that can reliably detect reactive oxygen species and distinguish specific species. *J Biol Chem* 2003. 31; 278(5): 3170-5.
- 4) Hirai F, Motoori S, Kakinuma S, Tomita K, Indo HP, Kato H, Yamaguchi T, Yen H-C, St.Clair DK, Nagano T, Ozawa T, Saisho H and Majima HJ: Mitochondrial Signal Lacking Manganese Superoxide Dismutase Failed to Prevent Cell Death by Reoxygenation following Hypoxia in a Human Pancreatic Cancer Cell Line, KP4. *Antioxidant & Redox Signaling*, 2004 (in press).
- 5) Kariyazono H, Nakamura K, Arima J, Ayukawa O, Onimaru S, Masuda H, Iguro Y, Majima HJ, Sakata R, Yamada K: Evaluation of anti-platelet aggregatory effects of aspirin, cilostazol and ramatroban on platelet-rich plasma and whole blood. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* 2004 (in press).

2.学会発表

【国内】

- 1) 瀬月内健一、浦野泰照、柿沼カツ子、馬嶋秀行、長野哲雄：活性酸素種を区別して検出可能な蛍光プローブ HPF, APF の開発と生物応用～活性酸素種の種選択的な役割の解明を目指して～、第 25 回日本フリーラジカル学会学術集会、東京、平成 15 年 6 月 27 -28 日
- 2) 犬童寛子、富田和男、岩下洋一朗、小松山加與、瀬月内健一、浦野泰照、長野哲雄、松岡由起、深作昇、小澤俊彦、馬嶋秀行：放射線照射後細胞内に生ずる活性酸素の検出とビタミン E の効果、第 25 回日本フリーラジカル学会学術集会、東京、平成 15 年 6 月 27 日-28 日
- 3) 馬嶋秀行：ミトコンドリア障害と活性酸素との関連、招待講演、第 50 回日本臨床検査医学会総会、広島、平成 15 年 10 月 29-31 日
- 4) 犬童寛子、富田和男、岩下洋一朗、小松山加與、瀬月内健一、浦野泰照、長野哲雄、松岡由起、深作昇、小澤俊彦、馬嶋秀行：ミトコンドリア由来活性酸素の

検出とビタミン E の効果、座長、第 3 回日本ミトコンドリア研究会年会、平成 15 年 12 月 18-20 日

- 5) 馬嶋秀行、富田和男、岩下洋一朗、犬童寛子、石岡憲昭、東端 晃、藤高和信：ヒト神経前駆細胞における低線量放射線照射効果-DNA アレイによる遺伝子活性変化-、第 20 回宇宙利用シンポジウム、相模原、平成 16 年 1 月 22-23 日

【国外】

- 1) Majima HJ, Davidson M, Indo H, Koga Y, Tomita K, Yen H-C, Setsukinai K, Urano Y, Nagano T, Ozawa T: Differential Expressions of ROS in Mitochondria DNA deletion Cybrids, MITOCHONDRIA 2003, San Diego, USA, June 12-14, 2003.
- 2) Majima HJ, Tomita K, Kakinuma S, Iwashita Y, Indo H, Yen H-C, Hayata I, Ozawa T: Differential gene activation in mitochondrial DNA damaged cells, 招待講演・座長, 1st Biennial Meeting of SFRR Asia, Seoul, Korea, Nov. 6-8, 2003.
- 3) Indo H, Davidson M, Koga Y, Tomita K, Yen H-C, Setsukinai K, Urano Y, Nagano T, Ozawa T, Majima HJ: Microscopic Evidence of ROS Generation from Mitochondria in DNA Damaged Cells, 10th Annual Meeting of Society for Free Radical Biology and Medicine, Seattle, USA, Nov 20-24, 2003.
- 4) Yen H-C, Chang H-M, Yang Y-Y, Majima HJ, Lee C-P: Levels of Reactive Oxygen Species and Primary Antioxidant Enzymes in WI38 versus Transformed WI38 Cells Treated with Bleomycin, 10th Annual

Meeting of Society for Free Radical Biology and Medicine, Seattle, USA, Nov 20-24, 2003.

- 5) Setsukinai K, Urano Y, Kakinuma K, Majima HJ, Nagano T: Development of Novel Fluorescence Probes that can Reliably Detect Reactive Oxygen Species and Distinguish Specific Species, and Their Application to Living Neutrophils, 10th Annual Meeting of Society for Free Radical Biology and Medicine, Seattle, USA, Nov 20-24, 2003.
- 6) Majima HJ, Davidson M, Indo H, Koga Y, Tomita K, Yen H-C, Setsukinai K, Urano Y, Nagano T, Ozawa T: Intra-cellular ROS Detections in Mitochondria Damaged Cells, 招待講演, 10th International SPACC Symposium, Auckland, New Zealand, Nov 26-28, 2003.
- 7) Majima HJ, Indo H, Suzuki M, Kakinuma S, Yamaguchi C, Saigo K, Tomita K, Yen H-C, Setsukinai K, Urano Y, Nagano T, Ozawa T: Post X-ray-Treatment by Vitamin E Protects Cells against Apoptosis, 招待講演・座長, International Joint Meeting on Food Factors and Free Radicals in Health & Disease, Kyoto, Japan, Dec 4-7, 2003.

H.知的財産権の出願・登録状況

- 1.特許取得
なし
- 2.実用新案登録
なし
- 3.その他
なし

小児期発症のミトコンドリア脳筋症に対する L-アルギニンおよびジクロロ酢酸
療法の効果判定と分子病態を踏まえた新しい治療法開発に関する臨床研究

分担研究者 石井正浩 久留米大学医学部小児科講師

研究要旨

MELAS 患児と川崎病既往児に対して血管内皮機能の非観血的評価法による検討を行った。また、ビタミン C が血管内皮機能に与える効果を検討した。MELAS 患児と川崎病既往児では血管内皮機能の著明な低下が認められた。ビタミン C を投与することにより、血管内皮機能の改善が認められた。今後、ビタミン C は MELAS 患児や川崎病既往児の治療戦略において重要なものになりうる可能性が示唆された。

A.研究目的

MELAS 患児と川崎病既往児に対して血管内皮依存性の血管拡張をみる非観血的検査法である Flow Mediated Dilatation (FMD)を用いて血管内皮機能の検討を行った。また、ビタミン C が血管内皮機能に与える効果を検討した。

B.研究方法

MELAS 罹患児 14 名を対象とした。性別は男 9 名、女 5 名であり、検査時年齢は 8-45 歳 (12.5 ± 3.1 歳) である。対照(cont)群は年齢・性別を一致させた健常人 13 名とした。川崎病既往児の検討は重症の冠状動脈障害をきたした川崎病罹患児 13 名を対象とした。性別は男 9 名、女 4 名で、検査時年齢は 9-23 歳 (15.8 ± 1.4 歳) であり、川崎病発症年齢は 6 ヶ月-8 歳 (3.5 ± 2.6 歳) である。川崎病発症からの観察期は 5-21 年 (12.3 ± 1.6 年) であった。高周波超音波装置を用いて血管内皮依存性の拡張である %FMD を求めた。その後、ビタミン C2000mg を経口もしくは静脈内投与し、%FMD を計測した。ニトロールを舌

下させ、血管内皮非依存性の拡張である %NTG-D を計測した。

C.研究結果

MEAS 患児において %FMD は対照群に比して有意に低下していた (3.8% vs. 14.2%, $p < 0.05$)。%NTG-D は MELAS 患児と対照群間で有意な差を認めなかった。このことより MELAS 患児での血管内皮機能低下が示唆された。川崎病既往群においても同様に %FMD のみ低下していた (4.2%)。この事より、血管内皮機能の低下が示唆された。ビタミン C 投与後、MELAS 患児の %FMD は改善した (8.1%)。川崎病既往児においても同様に %FMD は改善した (10.3%)。また、%NTG-D はビタミン C の影響は受けなかった。この事よりビタミン C 投与が血管内皮機能を改善させることが示唆された。

D.考察

MELAS 患児と川崎病既往児において血管内皮機能が低下していることが考えられた。この事が、種々の病態と関連していると考え

られる。また、ビタミンCが血管内皮機能を改善させ、今後の治療戦略に役立つことが考えられた。

E.結論

MELAS 患児と川崎病既往児では血管内皮機能の著明な低下が認められた。ビタミンCを投与することにより、血管内皮機能の改善が認められた。

F.健康危険情報

MELAS 患児と川崎病既往児では血管内皮機能の著明な低下が認められた。

G.研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H.知的財産権の出願・登録状況

- 1.特許取得
なし
- 2.実用新案登録
なし
- 3.その他
なし