

を呈することはなくなった。もう1例では、学童期以降に卒中様発作は見られていないが、易疲労感・活気のなさなどの訴えに対して DCA の投与を行い、自覚的な軽度の改善を認めた。

ミトコンドリア異常による2例の Leigh 脳症の児に DCA の投与を行った。8993T→C による Leigh 脳症の児は、亜急性に進行する傾眠傾向、歩行障害、眼瞼下垂、斜視に対し、DCA は効果を示し、意識レベルの上昇と自発性の向上、眼球症状の改善が見られ、半年後より自立歩行可能となった。

8993T→G の変異による Leigh 脳症の乳児では、急性脳症の当初より DCA 投与されたが、効果は明らかではなかった。その後も DCA は継続されているが、感染・発熱などに伴う乳酸アシドーシスの増悪や画像所見の悪化は特に認められていない。

D. 考察

今回、L-Ar を投与した MELAS 患者では、4 回の乳酸アシドーシスの急性増悪のうち、発症後早期投与された2回については、有効であった可能性が示唆された。

DCA は、これまでも MELAS 患者では使用経験があり、頭痛・卒中様症状などの急性発作性症状への有効性が指摘されている。今回投与した2例中の1例では、同様の効果が認められた。

ミトコンドリア異常による Leigh 脳症に対する DCA の有効性は明らかではないが、今回、比較的軽症型 Leigh 脳症の児では、症状の改善が見られ有効であると判断された。

乳児期に急性脳症で発症した 8993T→G 変異による重症型の児は、感染が契機と思われる急性脳症発症時より DCA を開始したが、重度の後遺症を残し、効果は不明であった。

E. 結論

①L-Ar は、今後も MELAS 患者の急性発作時には、試みられる治療法であると考えられた。特に副作

用と思われる症状もなく安全に施行可能であり、血液ガスなどで診断後に速やかに施行して効果判定すべきであると考えられる。

②DCA は、これまでも症例により反応に差があることが指摘されているが、今回4例中2例では、有効性が認められた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakada C, Tsukamoto Y, Oka A, Nonaka I, Sato K, Mori S, Ito H, Moriyama M. Altered Expression of ARPP Protein in Skeletal Muscles of Patients with Muscular Dystrophy, Congenital Myopathy and Spinal Muscular Atrophy. *Pathobiology*. 2004;71;43-51.
- 2) Torisu Y, Yamamoto T, Fujiwaki T, Kadota M, Oshimura M, Kurosawa K, Akaboshi S, Oka A. Girl with monosomy 1p36 and Angelman syndrome due to unbalanced der(1) transmission of a maternal translocation t(1;15)(p36.3;q13.1). *Am J Med Genet* 2004;131A(1);94-98
- 3) Kambe A, Kamitani H, Watanabe T, Oka A, Inagaki H, Ishii T, Ueki K. A non-NF2 case of schwannomas of vestibular and trigeminal nerves with different mutations of NF2 gene. *Surg Neurol* 2005;63;62-65

2. 学会発表

- 1) 阿部裕一、本田真美、長澤哲郎、二瓶健次 MELAS に対するジクロロ酢酸ナトリウム (DCA) 療法、アルギニン療法における治療効果の検討 第46回日本小児神経学会 東京 平成16年7月15日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（小児疾患臨床研究事業）
分担研究報告書

MELAS 細胞における細胞死過程とその抑制系の検討

分担研究者 森 雅人 自治医科大学小児科学講師
研究協力者 山形崇倫、後藤珠子 自治医科大学小児科学

研究要旨

3243A/G変異を持つ筋芽細胞、リンパ芽球を用い、細胞死誘導時、MELAS治療薬添加時の細胞内ATP量の測定、活性型caspaseを測定した。通常培養下での細胞内ATP量は80%株でも対照と差がなかったが、培地の変更により容易にATP量は低下し、caspase3/7依存性のアポトーシスが常に活性化されていることが確認された。このcaspase3/7活性は血清除去により著明に増加した。MELAS治療薬の検討ではDCAは80%株でのみDCA添加によって有意なATP量の増加が見られたが、効果は12時間では消失していた。この結果はMELASの临床上とよく合致しており、in vivoでの検討が困難なこの疾患において有用な実験系であると思われた。この系を用いて通常培養条件下でもみられているアポトーシスの制御検討を行い、容易に細胞死へと傾く細胞を制御できる薬物の検討を行うとともに、他の変異や病型においてもこの実験系がin vitroでの治療薬の効果判定に利用できる可能性があると思われ、適応症例の選別が困難である治療薬の検討を行い、有効症例の選別が行えるかどうか検討したい。

A.研究目的

MELAS では感染、過労などのストレスを誘因としてけいれん、脳梗塞様発作などの episodic な症状を繰り返し、部分改善をしながら次第に進行していく。また、episodic な病態とは別に難聴、知的障害などの慢性進行性の病態もあり、現在の治療では病気の進行を完全に抑制するのは困難である。我々はこのような MELAS の病態にどのような細胞内機構が関与するかを検討し、有効な治療法を開発する目的で培養筋芽細胞を用いて細胞死プロセスを検討し、MELAS 培養筋芽細胞の細胞死には mt を介した cytochrome c 放出、caspase-9, -3 活性化を経る apoptosis の経路が作動していることを確認し 1)、さらに近年、神経変性疾患などの病態への関与が報告されている ER ストレスによる apoptosis の経路も活性化されてい

ることを確認してきた。今回、われわれは MELAS 筋芽細胞とリンパ芽球を用い、細胞内 ATP 量の測定、活性型 caspase を測定測定し、細胞死過程の ATP 量の変化と治療薬による変化を検討した。

B.研究方法

① MELAS 患者よりインフォームド Consent のもと採取した生検筋細胞を初代培養後、ori-SV40 DNA にて不死化し、クローン化して使用した。3243A/G 変異を 80%有する細胞株(80%株)と対照として0%有する細胞株(0%株)を使用した。通常培地で培養した後、グルコース欠乏培地に変更し培養を続けることにより、80%株は細胞死が誘導される。各クローンの細胞特性と細胞死誘導、抑制の検討のため、細胞内 ATP 量、caspase3/7 活性をキット (Promega, USA) を用

いて検討した。上記2クローンを使用し、通常培養後、通常培地（血清を含む）、無血清培地に変更し、経時的に細胞内 ATP 量、caspase3/7 活性を測定した。また、MELAS 治療薬である DCA を加え、同様の検討を行った。

② 同様にインフォームドコンセントのもと採取した患者リンパ球を EB ウイルスにて芽球化し、筋芽細胞と同様の実験を行った。患者リンパ球と対象リンパ球の 3243A/G 変異の割合は約 40%と 0%であった。

C. 研究結果

① 筋芽細胞における細胞内 ATP 量、カスパーゼ活性の検討：通常培養下での細胞内 ATP 量は 80%変異株でも対照と差がなかったが、80%株では対照の 0%株の培養条件をグルコース欠乏や、血清除去培養条件下と同様の ATP 変化を示していた。（図1）また、80%株では caspase3/7 活性が確認された。この caspase3/7 活性は血清除去により更に増加した。（図2）DCA を添加した検討では、80%変異株にのみ ATP 量の有意な増加が見られた。（図3）

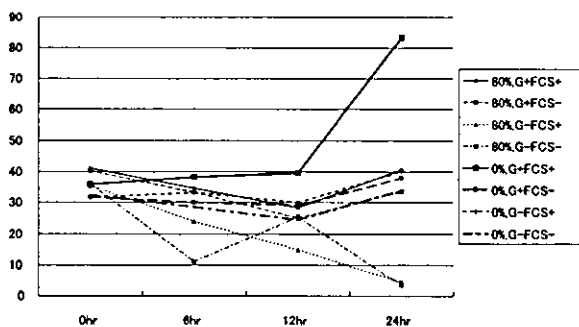


図1. 細胞内 ATP 量の変化：それぞれを通常培養(G+,FCS+)、グルコース欠損(G-,FCS+)、血清欠損(G+,FCS-)、グルコース・血清欠損(G-,FCS-)の条件で培養し、経時的に ATP 量を測定した。

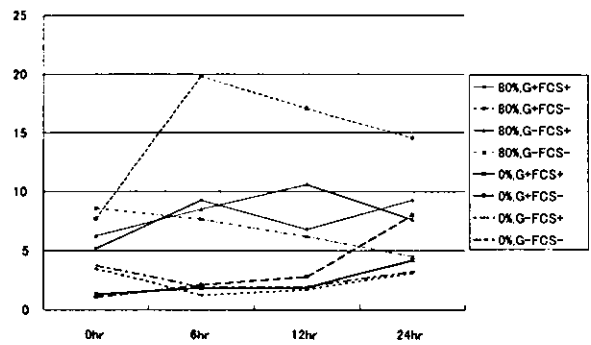


図2. Caspase3/7 活性の変化：図1と同じ条件で caspase3/7 活性を測定した。80%株は刺激がなくても軽度の caspase3/7 の活性が確認された。

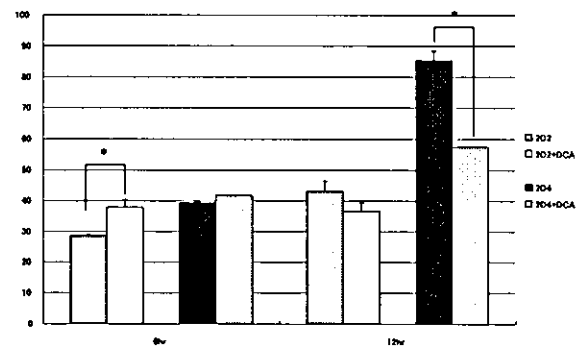


図3. DCA 添加による ATP 量の変化：0%株、80%株に通常培養条件下において DCA を 250 μg/ml で添加し、ATP 量を測定した。80%株では添加 6 時間後に有意な ATP 量の増加が確認された。一方、0%株では 12 時間後に DCA を添加した細胞で有意な ATP 量の低下がみられた。

② リンパ芽球における細胞内 ATP 量、カスパーゼ活性の検討：リンパ芽球でも同様に培養条件の変更、治療薬の添加を行い、細胞内 ATP 量、caspase3/7 活性を計測した。リンパ芽球では細胞死の誘導もみられず、患者リンパ球とコントロールでの差はみられなかった。（データは掲載せず。）

D. 考察

MELAS 培養筋芽細胞の細胞死には mt を介した cytochrome c 放出、caspase-9, -3 活性化を経る apoptosis の経路が作動していることを確認し、さらに、神経変性疾患などの病態への関与が報告されている ER ストレスによる apoptosis の経路

も活性化されていることを以前報告した。今回の細胞内 ATP 量の検討では、通常培養下での細胞内 ATP 量は 80%変異株でも対照と差がなかったが、培地の変更により容易に ATP 量は低下した。これまでに患者線維芽細胞を用い、通常状態での細胞内 ATP 量は異常細胞も正常と変わらず、ATP 合成刺激を与えたときの刺激に対する反応が 2-20 倍程度低下しているという報告があり、筋芽細胞でも同様の結果であった。このように 80%変異を持つ細胞でも通常状態での ATP 量には問題がなかったが、増殖が悪く、caspase3/7 依存性のアポトーシスが常に活性化されていることが確認され、この caspase3/7 活性は血清除去により著明に増加した。このことは MELAS の慢性進行性の病態を反映している可能性もあると考えられた。MELAS 治療薬の検討では DCA は 80%株でのみ DCA 添加によって有意な ATP 量の増加が見られたが、効果は 12 時間では消失していた。臨床的に DCA は短期的には episodic な症状を軽快させるが、長期的には慢性の病態の抑制は困難であり、DCA を補充することで改善できるか、長期の効果が得られるのか検討が必要と思われた。また、リンパ芽球を用いた検討では患者、コントロールの間で差はなく、患者リンパ芽球でも細胞死は誘導されなかった。これはリンパ芽球の変異 DNA の割合が 40%程度と低く、細胞機能不全に至らない量であるためと思われ、リンパ芽球を用いて *in vitro* での細胞病態の検討をするには、細胞ストレスの条件などを更に検討しないと困難であると思われた。

E. 結論

MELAS3243A/G 変異を 80%持つ筋芽細胞は caspase9/3 系と ER ストレスによる caspase-4 系の双方が活性化されていた。更に、この系を用いて通常培養条件下でもみられているアポトーシスの制御検討を行い、容易に細胞死へと傾く細胞を制御できる薬物の検討を行うとともに、他の変異や病型においてこの系が *in vitro* での治療薬の

効果判定に利用できる可能性があると思われ、適応症例の選別が困難である治療薬の検討を行い、有効症例の選別が行えるかどうか検討したいと考えている。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mori M, Yamagata T, Goto T, Saito S, Momoi MY. Dichloroacetate treatment for mitochondrial cytopathy: long-term effects in MELAS. *Brain Dev.* 2004 Oct;26(7):453-8.
- 2) Kubota M, Sakakihara Y, Mori M, Yamagata T, Momoi-Yoshida M. Beneficial effect of L-arginine for stroke-like episode in MELAS. *Brain Dev.* 2004 Oct;26(7):481-3
- 3) Mizuguchi M, Mori M, Nozaki Y, Momoi MY, Itoh M, Takashima S, Hino O. Absence of allelic loss in cytomegalic neurons of cortical tuber in the Eker rat model of tuberous sclerosis. *Acta Neuropathol (Berl).* 2004 Jan;107(1):47-52.
- 4) 四津有人, 諏訪清隆, 森雅人, 山形崇倫, 水口雅, 桃井真里子. 副鼻腔から中耳に至る広汎な炎症を示した Gradenigo 症候群の MRI 所見. *脳と発達* 36 巻 4 号 Page334-338
- 5) 森雅人, 塩川宏郷, 後藤珠子, 津留智彦, 水口雅, 宮本信也, 桃井真里子. 横紋筋融解症, 肝機能障害を合併した神経性食思不振症の 1 男児例. *日本小児科学会雑誌* 108 巻 5 号 Page774-777

2. 学会発表

- 1) 今井真理, 清水純, 森雅人, 山形崇倫, 水口雅, 桃井真里子. インフルエンザ脳症癲癇重積型の臨床経過と画像所見. 第 46 回日本小児神経学会総会, 東京, 2004 年 7 月 15 日 - 17 日. *脳と発達* 36Suppl. S265,2004
- 2) 森雅人, 諏訪清隆, 山形崇倫, 安原昭博, 桃井

真里子自閉性障害患児における 7 番染色体長腕自閉性障害候補遺伝子の検索. 第 46 回日本小児神経学会総会、東京、2004 年 7 月 15 日 - 17 日. 脳と発達 36Suppl. 脳と発達. 36Suppl. S246, 2004

- 3) 諏訪清隆, 山形崇倫, 森雅人, 桃井真里子. 自閉性障害者における FMR2 遺伝子異常の検索. 脳と発達 36Suppl. S198, 2004
- 4) 伊藤綾, 森雅人, 山形崇倫, 桃井真里子. Early-onset ataxia with oculomotor apraxia and hypoalbuminemia(EAOH) の姉妹例における APTX 遺伝子解析. 脳と発達 36Suppl. S183, 2004
- 5) 今井真理, 森雅人, 山形崇倫, 桃井真里子. ミオクロニー失立てんかんで発症し A8344G 変異が同定された 1 幼児例. 第 47 回日本先天代謝異常学会、宇都宮、2004 年 11 月 11 日-13

日. (日本先天代謝異常学会雑誌 20(2): 188, 2004)

- 6) 森雅人, 後藤珠子, 山形崇倫, 桃井真里子. MELAS 筋芽細胞における細胞死とその抑制. 第 47 回日本先天代謝異常学会、宇都宮、2004 年 11 月 11 日-13 日. (日本先天代謝異常学会雑誌 20(2): 190, 2004)

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関する研究

- (1) Leigh 脳症 (8993T→G 変異) における経時的頭部画像変化の検討
- (2) 細胞内 Ca²⁺ imaging、細胞内 pH を指標とした培養細胞における薬物の影響に関する検討

分担研究者 杉江秀夫 浜松市発達医療総合センター所長

研究協力者 平野浩一、宮本健、古橋協、福田冬季子、伊藤政孝、鈴木輝彦
浜松市発達医療総合センター小児神経科、浜松医科大学小児科

研究要旨

1. ジクロロ酢酸 (DCA) の投与により臨床症状が増悪した Leigh 脳症の姉妹例の脳画像所見の推移について報告した。
2. 1で報告した患者の線維芽細胞を用いて、クレアチン前処理細胞と無処理細胞における、chemical hypoxia における細胞の変化を比較した。細胞内 Ca²⁺ 濃度について有意な差は見られなかった。本法は薬物の影響を in vitro で検討することが可能であり、薬物の薬理作用と臨床応用の関連について基礎データが提供できると思われる。

A. 研究目的

ミトコンドリア異常症は多臓器に及ぶ臨床症状を来し、進行性で予後の不良なものもある。昨年度 Leigh 脳症の女兒でジクロロ酢酸 (DCA) の投与により、症状が増悪した例に対して、creatine monohydrate (クレアチン) を投与し、その臨床効果について検討した。今回はこの3年間にわたる脳画像所見の変化を姉妹例で検討するとともに、ARGUS-50 を用いた細胞内 Ca²⁺ imaging を用いて患者線維芽細胞における薬物投与による変化についても検討した。

B. 研究方法

(1) 乳児早期に発症した Leigh 脳症 (8993T→G 変異) 姉妹例の頭部画像 (MRI または CT) の推移を検討した。

(2) 上記患者 (第2子) から家族の同意を得て採取した線維芽細胞を用いて、細胞内 Ca²⁺ 濃度の変

化を Argus-50 (浜松ホトニクス) を用いて算出した。chemical hypoxia は KCN を培養液に添加し作成し、そのストレスに対応する細胞内 Ca²⁺ 濃度の変化を観察した。またクレアチンを chemical hypoxia を与える前に添加して処理し、細胞内 Ca²⁺ 濃度の変化でその効果について検討した。

C. 研究結果

(1) 画像の推移

症例 1) 姉: (生後3ヶ月半) 発達遅滞、低緊張、乳酸アシドーシス精査時の頭部 MRI にて両側被殻背側に T2 延長領域、CT では低吸収域を認めた。

(4ヶ月) 痙攣頻発、CT 上両側レンズ核の尾側から被殻背側部、左右視床、左右大脳脚、左側頭葉内側、左前頭頭頂葉に低吸収域が出現。症状変化に伴い病変が増加増大。

(4ヶ月半) MRI では両側被殻背側の T2 延長域が明瞭化し、新たに左側頭葉内側部、左前頭頭頂

葉に高信号域が出現。MRS では基底核領域で乳酸レベル高値、NAA レベル減少。

(5ヶ月) CT: 両側尾状核、被殻、淡蒼球、視床、大脳脚、前頭側頭葉の低吸収域が増加、増大と、病変は短期間の間にかなり拡大し、脳萎縮や脳室拡大も顕著となった。左前頭頭頂葉の病変は縮小。

(5ヶ月半) CT: 基底核病変の広がりの変化は乏しいが、脳室拡大傾向進行。

(7ヶ月) CT: 基底核、大脳半球(特に前頭葉、頭頂葉)や中脳の萎縮が進行し、脳室、脳溝も拡大。11ヶ月時に永眠。

症例2) 妹: 生直後より低緊張、哺乳微弱、乳酸アシドーシスを認めたが

(日齢45) MRI では髄鞘化を含め異常を認めず。

(日齢72) CT: 両側被殻から淡蒼球に低吸収域出現

(日齢74) CT: 発熱時に急性呼吸不全症状発症後より両側中脳、被殻から淡蒼球にかけて、低吸収域が出現

(日齢81) CT: 両側中脳、両側被殻から淡蒼球にかけて、出血と考えられる高吸収域が出現。両側の外包、両側の深部白質にも低吸収域が出現し、病変域が拡大。

(3ヶ月) CT: 両側基底核の低吸収域は明瞭化し、低吸収域と隣接する側脳室が拡大。両側前頭葉や側脳室の脳溝が以前より目立ってきている。

(4ヶ月) CT: 境界明瞭な低吸収域が左後頭葉にも出現。脳室も拡張し、著明な白質優位な脳萎縮の進行。両側大脳脚にも低吸収域。

(5ヶ月) MRI : 脳萎縮がさらに進行。

(7ヶ月) CT: 脳萎縮が若干進行している。両側レンズ核～大脳深部白質に嚢胞変性巣出現。右硬膜下血腫出現。

(9ヶ月) MRI: 脳幹にも萎縮が認められる。脳室拡大の進行。

(1歳1ヶ月) CT: 脳室の拡大、両側レンズ核の嚢胞状変化、大脳および脳幹の軽度萎縮を認める。

(1歳2ヶ月) CT: 小脳半球も萎縮所見出現。

(1歳7ヶ月) CT: 全ての脳室が著明に拡大し、

大脳の実質は萎縮。

両側大脳基底核にも嚢胞性の萎縮が見られ、病変が拡大。小脳半球の萎縮。

(2歳8ヶ月) CT: 前頭葉、側頭葉優位の脳萎縮と脳室拡張、両側基底核の嚢胞変性があり。脳幹や小脳半球も萎縮あり。

以後4歳5ヶ月時まで追跡しているが、著明な脳室拡大、脳実質の萎縮を来とし、両側基底核にも軟化萎縮による嚢胞性構造が継続し脳幹、小脳萎縮所見を認めているが、CT 画像の変化は緩徐である。

(2)Leigh 脳症の第2子の培養細胞に対してクレアチンを培地に加え前処理をした後に KCN で chemical hypoxia を与え細胞内 Ca²⁺濃度の変化を観察した。前処置を行った細胞と行わなかった細胞とに細胞内 Ca²⁺濃度の変化は特に有意な差はなかった。

D.考察

Leigh 脳症 (8993T→G 変異) の1姉妹例の経過を示した。本例においては、低緊張や乳酸アシドーシスが存在しても生後暫くはMRIにて形態、髄鞘化上は無所見の時期が存在した。呼吸障害や痙攣などの症状を呈するようになると、両側被殻から淡蒼球の病変が数日から数週間の経過で急激に尾状核、外包、脳室周囲などに拡大進行し、前頭葉白質優位に脳萎縮・脳室拡大が進行する。病巣は拡大し、中脳、大脳脚病変伸展に加え小脳・脳幹の萎縮性変化に至る。両側基底核病変は軟化萎縮による嚢胞性構造を呈してくる。これに伴い症状進行が緩徐化していくが、時に硬膜下血腫などの出血性病変も合併する。このように画像の変化は比較的短期に起こる時期があり、脳内のエネルギークリーゼとの関連が示唆される。クレアチンは糖原病、ミトコンドリア病などに試されているが、その機序としてはクレアチン/クレアチンリン酸(PCr)の貯蔵がクレアチン補充療法により高まり、ミトコンドリアおよび細胞のクレアチンキナーゼとATP/ADPを介しての細胞へのATP

供給が高まる効果が期待されている。今回用いた患者培養細胞において検討したクレアチンの効果については、Ca²⁺濃度の変化を観察する限り有意な改善は見られなかった。これは投与量の違い、細胞種類の違いなどが関わっていると考えられるが、さらに条件を検討する必要があると思われる。臨床効果を期待する薬剤についてその薬効の機序について検討することは重要である。さらに病的細胞と正常細胞を今後比較してゆく予定である。

E. 結論

Leigh 脳症における画像所見は進行度と関連して重要である。細胞内 Ca²⁺により病的細胞での薬物の影響を検索し臨床的な薬物療法に対する基礎的な指標のひとつとして利用ができる可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sugie Y, Sugie H, Fukuda T, et al. Relationship between Pervasive Developmental Disorders (PDDs) and Neonatal Factors: Comparison with Normal Subjects. Autism (in press)
- 2) 杉江陽子、杉江秀夫。発達障害と遺伝—最近の知見—。発達障害医学の進歩 16巻 診断と治療社 pp37-44、2004
- 3) Sugie Y, Sugie H, Fukuda T, et al. Clinical efficacy of fluvoxamine and functional polymorphism in a serotonin transporter gene on childhood autism. J Autism Dev Disorder (in press)
- 4) Maruyama K, Suzuki T, Koizumi T, Sugie H, Fukuda T, Ito M, Hirato J. Congenital form of

glycogen storage disease type IV: a case report and a review of the literature. *Pediatr Int.* 2004 Aug;46(4):474-7.

- 5) Tomihira M, Kawasaki E, Nakajima H, Imamura Y, Sato Y, Sata M, Kage M, Sugie H, Nunoi K. Intermittent and recurrent hepatomegaly due to glycogen storage in a patient with type 1 diabetes: genetic analysis of the liver glycogen phosphorylase gene (PYGL). *Diabetes Res Clin Pract.* 2004 Aug;65(2):175-82.
 - 6) 杉江秀夫。軽度発達障害児への援助と対応：医療と学校保健の連携のあり方。学校保健研究 46(5):472-477, 2004
- ##### 2. 学会発表
- 1) Sugie H. Muscle Glycogen Storage Diseases: Overview and diagnostic approach. Scientific and Clinical Symposia. Advances in Glycogen Storage diseases. 3rd Annual Scientific Meeting Asian & Oceanian Myology Center. January 9, 2004. Singapore
 - 2) Sugie Y, Sugie H, Fukuda T, Nakabayashi M, Sasada Y, Fukashiro K, Hirata A, Suzuki M. Relationship between 5-HT_{2A}R gene polymorphism and neonatal factors in autism. 51st Annual Meeting of American Academy of Child and Adolescent Psychiatry, Washington DC, USA, October 19-24, 2004

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

MELAS 患者のジクロロ酢酸ナトリウム(DCA)療法に関する研究
-DCA 濃度測定中の MELAS 患者 34 例のアンケート調査-

分担研究者 内藤 悦雄 徳島県立ひのみね整肢医療センター小児科部長
徳島大学医学部小児科講師

研究要旨

現在、ジクロロ酢酸ナトリウム(DCA)療法はMELAS患者の治療法の1つとして 多数の施設で試みられているので、本研究ではDCA療法中のMELAS患者の臨床的検討を行なった。現在、徳島大学医学部小児科では血中および髄液中DCA濃度の測定を行っており、最近3年間でDCA濃度の測定を行なったMELAS患者34例を対象にしてアンケート調査を行ない、DCA療法中のMELAS患者の臨床的効果と副作用についての検討を行なった。

本研究の対象となった34例のMELAS患者は全例mtDNA tRNA Leu(UUR)A3243G変異を有し、血中または髄液中乳酸の高値を呈していた。DCA投与前に患者本人と保護者にDCAの効果や副作用についての説明を十分に行い、同意が得られた後にDCAの経口投与を4ヵ月～10年間行った。多くの患者では脳卒中様症状、頭痛・嘔吐発作、知的障害、筋力低下、ミオクローヌスなどがみられ、これらの症状の多くは改善した。しかし、投与2年以上になると視力障害、難聴、痙攣、筋力低下、眼瞼下垂などの新たな症状が出現してきた。投与2年以内では脳卒中様発作の再発はみられなかったが、投与3年目と投与9年目の2例において脳卒中様発作の再発がみられた。

DCAの副作用については肝機能障害(28%)と末梢神経障害(8%)が認められたが、DCAの投与を中止するような重篤な副作用はみられなかった。

A.研究目的

DCA療法中のMELAS患者34例にアンケート調査を行ない、MELAS患者に対するDCA療法の臨床的効果と副作用について検討する。

B.研究方法

現在、徳島大学医学部小児科では血中および髄液中DCA濃度の測定を行なっている。最近3年間でDCA濃度の測定を行なったMELAS患者34例に対してアンケート調査を行ない、DCA療法中のMELAS患者の臨床的検討を行なった。アンケート調査の項目は臨床症状の変化、乳酸値の変動、副作用、併用薬などである。多くの患者では

脳卒中様症状、頭痛・嘔吐発作、知的障害、ミオクローヌス、多毛、低身長などがみられた。治療効果はそれぞれの症状が消失した、改善した、不変であった、悪化した、新たに出現したの5段階で評価した。

(倫理面への配慮)

DCA治療を行う際には、患者本人または家族に対してDCA治療の主旨、効果、副作用等に関する説明を十分におこない同意を得た上で投与した。

C.研究結果

MELAS患者34例のDCA投与開始の平均年齢は

10.4歳であり、アンケート調査時点でのDCA投与期間は4ヵ月～10年3ヵ月間であった。2年以内の投与は14例、2～4年間の投与は10例、4年以上の投与は10例であった。DCAの投与法は多くの患者では最初50mg/kg/回を12時間ごとに3回経口投与した後、25mg/kg/回に減量し血中乳酸値およびDCA濃度を指標にしてDCAの維持量を決定した。DCA投与によりビタミンB1欠乏状態になるために、ビタミンB1の併用投与も必ず行なった。MELAS患者へのDCA平均投与量は820mg/日(270mg～1800mg/日)であった。体重(kg)当たりのDCA平均投与量は31mg/kg/日(14～50mg/kg/日)であった。DCA投与による血中乳酸値の変動では、DCA投与前の平均乳酸値は40mg/dl(14～98mg/dl)であり、DCA投与中の平均乳酸値は15mg/dl(7～35mg/dl)と多くの患者の血中乳酸値は正常化していた。DCA投与による髄液中乳酸値の変動についてはDCA投与前の平均乳酸値が48mg/dl(30～84mg/dl)であり、DCA投与中の平均乳酸値は29mg/dl(16～39mg/dl)であった。DCA投与により血中乳酸値だけでなく髄液中乳酸値も著明に低下していた。DCA濃度の測定回数は平均4.2回/年(1～15回/年)であった。血中DCA濃度(DCA服用2時間後)の平均値は79.3 μ g/ml(14.5～243.6 μ g/ml)であり、現時点では血中DCA濃度の安全域を150 μ g/ml以下と考えているので、多くの患者ではこの濃度内でコントロールできていた。髄液中DCA濃度(DCA服用2時間後)の平均値は39.3 μ g/ml(17.3～66.8 μ g/ml)であり、血中DCA濃度の約50%が移行しており、DCAの髄液への移行も良好であった。

多くの患者では脳卒中様症状、頭痛・嘔吐発作、知的障害、筋力低下、ミオクローヌスなどがみられ、これらの症状の多くは改善がみられたが、多毛、低身長などの症状は改善しなかった。DCA投与2年以上になると視力障害、難聴、痙攣、筋力低下、眼瞼下垂などの新たな症状が出現してきた。投与2年以内では脳卒中様発作の再発はみら

れていなかったが、投与3年目と投与9年目の2例において脳卒中様発作の再発がみられた。

DCAの副作用については肝機能障害(28%)と末梢神経障害(8%)が認められたが、DCAの投与を中止するような重篤な副作用はみられなかった。

D.考察

徳島大学医学部小児科では血中および髄液中DCA濃度の測定を行っており、最近3年間でDCA濃度の測定を行なったMELAS患者34例において、これらの臨床経過についてのアンケート調査を行ない、DCA療法中のMELAS患者の臨床的検討を行なった。DCA療法中の大部分のMELAS患者では血中乳酸値は正常化し、髄液中乳酸値も著明に低下していた。DCA服用2時間後の血中平均DCA濃度は約80 μ g/mlであり、現時点では血中DCA濃度の安全域を150 μ g/ml以下と考えているので、多くの患者ではこの濃度内でコントロールできていた。髄液中平均DCA濃度は約40 μ g/mlであり、血中DCA濃度の約50%が髄液内に移行できていた。MELAS患者の主症状である脳卒中様発作を防ぐためには、脳内でのピルビン酸代謝の改善が必要であり、このためには、十分量のDCAが髄液中に移行し、髄液中乳酸値を低下させることが重要である。

多くのMELAS患者では脳卒中様症状、頭痛・嘔吐発作、知的障害、ミオクローヌスなどがみられ、これらの症状は改善したが、多毛、低身長などの症状は改善しなかった。投与2年以内では脳卒中様発作の再発はみられていなかったが、投与3年目と投与9年目の2例において脳卒中様発作の再発がみられた。DCAの副作用については肝機能障害(28%)と末梢神経障害(8%)が認められたが、DCAの投与を中止するような重篤な副作用はみられなかった。

DCA療法中のDCA濃度測定の利点としては(1)DCA療法中のDCAの過剰投与を防ぐことにより、DCAの副作用の発生を減らせることが

できる。(2) DCA は吸湿性が非常に強いので、DCA の保管が不十分である時には、正確に DCA を服用できていない場合がある。DCA を確実に服用できているかどうかの判定にも有用である。

(3) DCA の代謝は個人によってかなり異なる。DCA 投与中でも効果がみられない場合、十分の血中 DCA 濃度があっても効果がないのか、血中 DCA 濃度が低いために効果がないのかが判定できる。(4) MELAS 患者の髄液中 DCA 濃度の測定により、髄液内へ移行する DCA 濃度が十分かどうかの検討ができる。

E. 結論

DCA の短期間の適量投与では、重篤な副作用はみられなかった。現在、進行性の MELAS 患者に対する治療法が確立されていないので、まず DCA 療法を約 1 ヶ月間行ない、臨床症状の改善がみられなければ中止し、効果があれば血中乳酸と DCA 濃度を指標にして DCA を必要最少量に維持するのが合理的と考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Wada N, Matsuishi T, Nonaka M, Naito E,

Yoshino M. Pyruvate dehydrogenase E1alpha subunit deficiency in a female patient: evidence of antenatal origin of brain damage and possible etiology of infantile spasms. *Brain Dev.* Jan;26(1):57-60, 2004.

2) Tominaga K, Matsuda J, Kido M, Naito E, Yokota I, Toida K, Ishimura K, Suzuki K, Kuroda Y. Genetic background markedly influences vulnerability of the hippocampal neuronal organization in the "twitcher" mouse model of globoid cell leukodystrophy. *J Neurosci Res.* Aug 15;77(4):507-16, 2004.

3) Kotani Y, Yokota I, Kitamura S, Matsuda J, Naito E, Kuroda Y. Plasma adiponectin levels in newborns are higher than those in adults and positively correlated with birth weight. *Clin Endocrinol (Oxf).* Oct;61(4):418-23, 2004.

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

近赤外分光法によるミトコンドリアミオパチー患者の筋血流、酸素摂取率の検討

分担研究者 萩野谷和裕 東北大学大学院小児病態学分野助教授

研究協力者 孫 桂蓮¹、呉 艶玲¹、石飛真美子¹、福与なおみ¹、宮林重明²、大村清³

¹東北大学小児科、²国立仙台病院小児科、³国立療養所西多賀病院小児科

研究要旨

近赤外分光を用いて前腕骨格筋内の血流量と酸素摂取量を非侵襲的に測定し、ミトコンドリア病において異常が検出できるかを検討した。正常対照として10歳から35歳のボランティア15名、6歳から26歳のミトコンドリア病患者8名、6歳から13歳のDMD10名について同意を得た上で検討した。安静時と軽度の運動負荷時の前腕筋血流量は正常対照に比してミトコンドリア病患者では優位に増加していた。筋酸素摂取量は正常対照およびDMD患者に比して有意な差はなかった。

A.研究目的

ミトコンドリアミオパチーにおける生化学的マーカーは血中乳酸・ピルビン酸の上昇であり、好氣的運動時の著明な変化が本症の診断時に臨床的に用いられることが成人では多いが、幼小児や歩行が困難な患者では運動負荷はできない。

近赤外分光法（NIRS）は非侵襲的に骨格筋の血流および酸素摂取率をモニターすることが可能な方法であり、近年各種の臨床応用が検討されている。我々は、本法によりミトコンドリアミオパチー患者と正常対照が区別できるかの検討をしている。さらに本症に対する何らかの治療的試みの評価の手段としてNIRSが利用できないかを今後の検討の目的としている。

今年度は対象をさらに多くのミトコンドリア病患者に広げ、また、Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)患者も疾患対照として検討した。

B.研究方法

対象：正常対照として10歳から35歳のボランティア15名、6歳から26歳のミトコンドリア病患者8名、6歳から13歳のDMD10名について同

意を得た上で検討した。ミトコンドリア病患者の内訳は、Leigh 脳症3名、MELAS3名、PDHD欠損症1名、CPEO1名であった。

方法：1) 安静臥床後に非利き手(左)の上腕に血圧測定用のマンシェットと巻き、前腕の浅指屈筋筋腹に近赤外分光光度計(NIRO300, 浜松ホトニクス)の入光部と受光部を4cmの間隔で長軸方向に貼り付ける。Pathlength factorは4.0を採用。0.1秒毎に筋組織中の酸素化ヘモグロビン(HbO₂)、還元ヘモグロビン(RHb)、総ヘモグロビンの濃度変化をモニターする。

2) モニター開始後、静脈駆血(50mmHg)を20秒間行う。その後圧を緩め5分後もう1回繰り返す。5分の休息後、動脈駆血(200mmHg)を40秒間行う。これを5分後に再度施行する。

3) 次に、握力計にて最大握力の10%の力で握力計を握ってもらい、1分後にそのままを保ちながら静脈駆血を20秒間施行する。これを5分の休息後もう1回繰り返す。次に、握力計にて最大握力の10%の力で握力計を握ってもらい、1分後にそのままを保ちながら動脈駆血を40秒間行う。これを5分の休息後もう1回繰り返す。

4) 前腕筋血流量および前腕酸素摂取率は van Beekvelt らの方法により算出した^{1, 2, 3}。

a) 前腕筋血流量: 静脈駆血時の HbO₂ と RHb の濃度変化率($\mu\text{M}/\text{sec.}$)を計測し、その結果を $\text{ml} / \text{min.} / 100 \text{ ml tissue}$ に換算する。今回は Hb を $13.5\text{g}/\text{dl}$ 、Hb の分子量は 64000 として計算した。

b) 前腕酸素摂取率: 動脈駆血時の HbO₂ の減少率($\mu\text{M} / \text{sec.}$)を計測し、その結果を $\mu\text{moleO}_2 / \text{min.} / 100 \text{ g tissue}$ に換算する。筋の比重は 1.04 とし、ヘモグロビンと酸素のモル比は $1:4$ として計算した。

4) 近赤外光による酸素摂取率は皮下脂肪の厚さにより影響を受けるため、検査後超音波エコーにより、プローベを塗布した部位の皮下脂肪の厚さを計測した。

C. 研究結果 (Figures 1-3)

1) ミトコンドリア病の安静時の前腕筋血流量は

正常対照に比して有意な増加が認められた ($p < 0.05$)。安静時の前腕筋酸素摂取量は正常対照に比して有意な差はなかった。DMD 患者では筋血流量、酸素摂取量ともに対照に比して差は認められなかった。

2) 軽度運動負荷時の計測については知的障害児、および幼少の患者は指示に従えないため検討からはずした。このためミトコンドリア病患者の検討は 5 例のみとなった。軽度運動負荷時の前腕筋血流量はミトコンドリア病患者において有意に上昇していた ($p < 0.01$)。筋酸素摂取量は正常対照と有意な差がなかった。DMD 患者では正常に比して血流量・酸素摂取量ともに、低下傾向が見られたが統計学的有意差はなかった。

3) 3 群間で皮下脂肪の比較を行ったが、統計学的に有意な差はなかった。しかし対照をグラフにプロットするとやはり既報のように皮下脂肪の厚さにより値が影響を受けることが解った。

Figure 1

安静時の左前腕筋血流量・酸素摂取量の比較

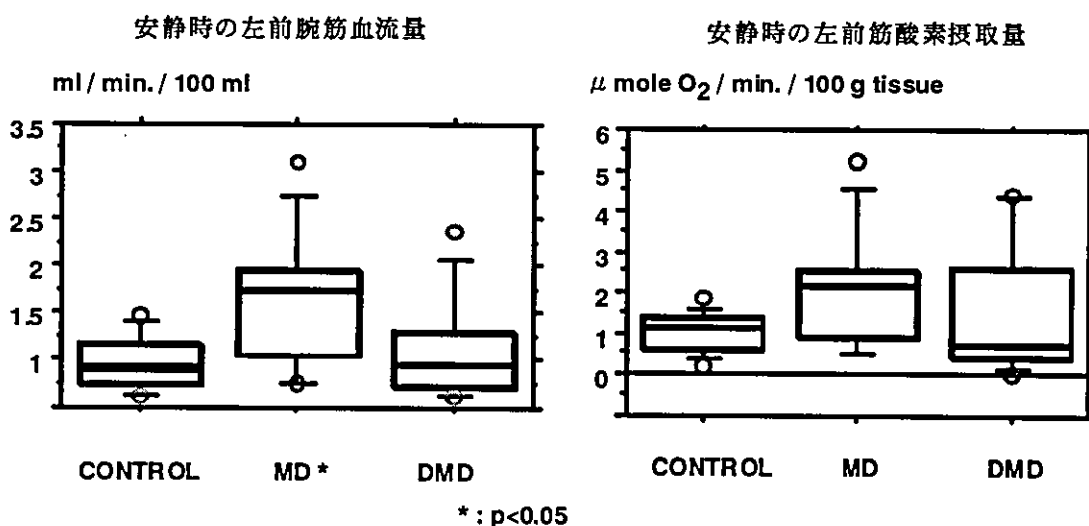


Figure 2

運動負荷時の左前腕筋血流量・酸素摂取量の比較

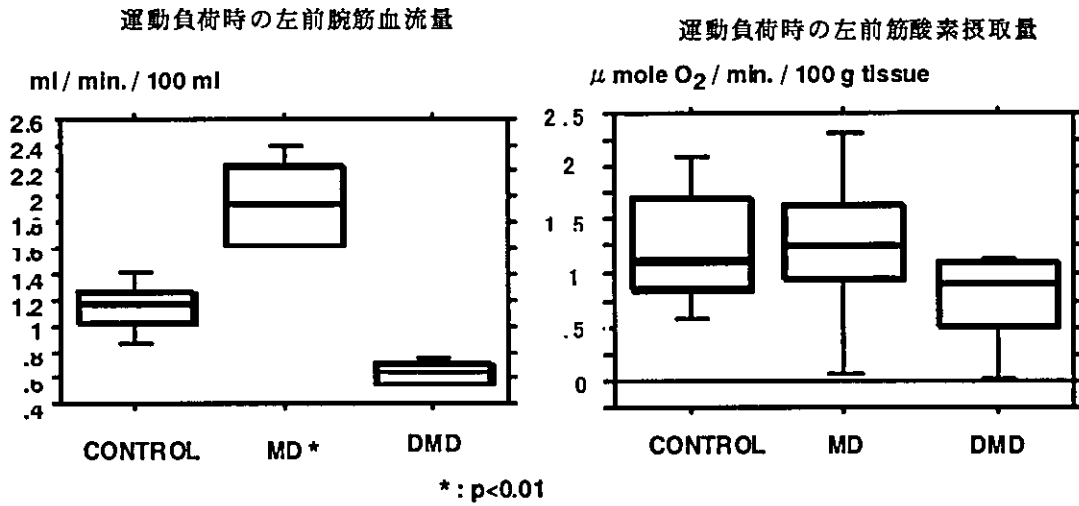
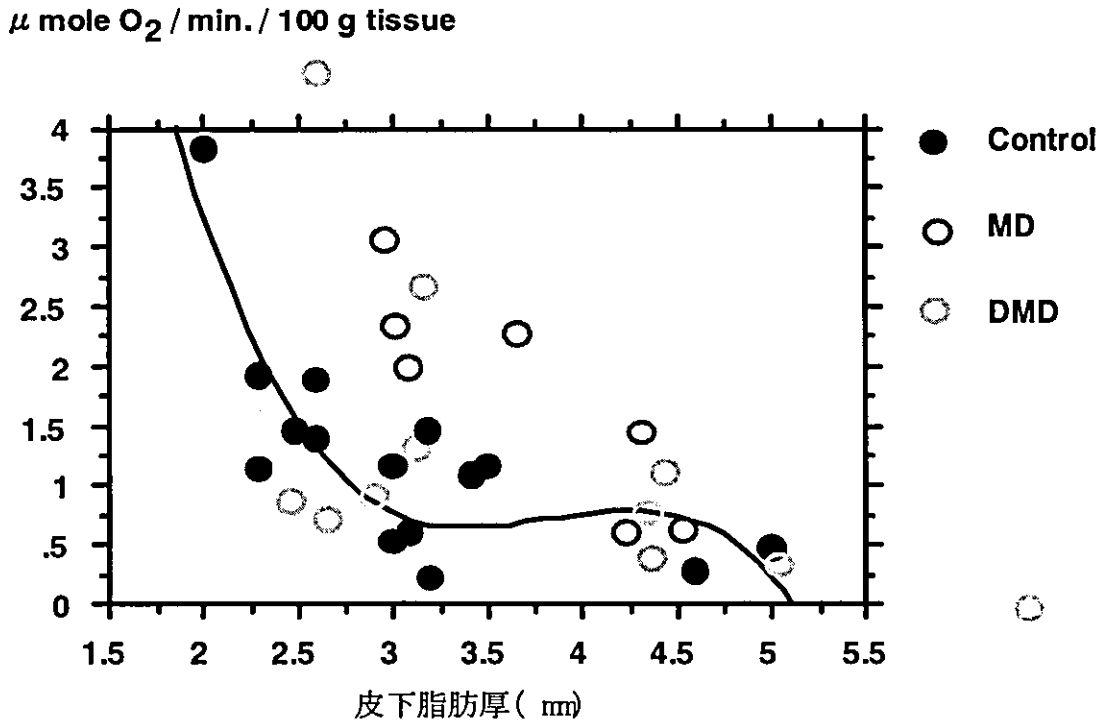


Figure 3

皮下脂肪厚と安静時左前腕筋酸素摂取量との相関



$$Y = 29.923 - 24.172 * X + 6.611 * X^2 - .593 * X^3; R^2 = .721$$

D.考察

これまでの報告では、ミトコンドリア病では、ミトコンドリアの呼吸鎖機能異常により筋の酸素摂取率の低下が認められ、それが近赤外分光法により非侵襲的に検出できるというものであった。このため非侵襲的なミトコンドリア病のスクリーニング、治療効果の客観的な判定に使える可能性があることから今回の検討を実施した。これまでの結果からは、ミトコンドリア病患者の筋において、正常対照、DMDと比較して、有意な筋酸素摂取率の低下は認められなかった。また、筋血流量は既報と同様有意な増加が認められた。今回の検討では、症例数の少ない点、知的障害のため、軽度の運動負荷を実施できない患者が多かった点などが課題として残っている。

E. References

- 1) Van Beekvelt, M. C. Colier, W. N. Wevers, R. A. Van Engelen, B. G. Quantitative measurement of oxygen consumption and forearm blood flow in patients with mitochondrial myopathies. *Advances in Experimental Medicine & Biology* 1999; 471: 313-9.
- 2) van Beekvelt, M. C. Borghuis, M. S. van Engelen, B. G. Wevers, R. A. Colier, W. N. Adipose tissue thickness affects in vivo quantitative near-IR spectroscopy in human skeletal muscle. *Clinical Science* 2001; 101: 21-8.
- 3) De Blasi, R. A. Ferrari, M. Natali, A. Conti, G. Mega, A. Gasparetto, A. Noninvasive measurement of forearm blood flow and oxygen consumption by near-infrared spectroscopy. *Journal of Applied Physiology* 1994; 76: 1388-93.

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1. 論文発表

- 1) Munakata M, Haginoya K, Ishitobi M, Sakamoto O, Yokoyama H, Iinuma I. Dynamic cortical activity during spasms in three patients with West syndrome: a multichannel near-infrared spectroscopic topography study. *Epilepsia* 2004; 45:1248-57.
- 2) Iinuma K, Haginoya K. Clinical efficacy of zonisamide in childhood epilepsy after long-term treatment: a postmarketing, multi-institutional survey. *Seizure* 2004;13(s1): 34-39.
- 3) Ishitobi M, Haginoya K, Kitamura T, Munakata M, Yokoyama H, Iinuma K. Acute dysautonomia: complete recovery after two courses of IVIg. *Brain Dev* 2004; 26:542-4.
- 4) Haginoya K, Ishitobi M, Togashi N, Munakata M, Yokoyama H, Iinuma K. High dose melatonin therapy for patients with extremely intractable epilepsy. *Neurology Asia* 2004; 9(s1): 114.
- 5) 廣瀬三恵子、横山浩之、宗形光敏、萩野谷和裕、青木正史、飯沼一字. piracetamにより動作性ミオクローヌスが改善した DRPLA の女兒. *脳と発達* 2004;36:75-79.

2. 学会発表

- 1) 萩野谷和裕、孫 桂蓮、山本克哉、高柳勝、加藤里恵、宗形光敏、横山浩之、石飛真美子、北村太郎、菊地正広、藤江弘美、酒見喜久雄、飯沼一字. インフルエンザ脳症における血炎症性サイトカイン・血管透過性因子の検討：エラスターゼが血中にて有意に上昇. 2004 第 46 回日本小児神経学会
- 2) 萩野谷和裕、孫 桂蓮、大沼晃、飯沼一字. 筋組織内レニン・アンジオテンシン系が筋ジストロフィー筋において活性化している. 2004 第 46 回日本小児神経学会
- 3) 宗形光敏、萩野谷和裕、石飛真美子、北村太郎、富樫紀子、横山浩之、飯沼一字. 光トポグラフィー/脳波同時記録による West 症候群

の発作時モニタリング. 2004 第 46 回日本小児神経学会

- 4) 福興なおみ、萩野谷和裕、小川英伸、田中総一郎、飯沼一字. てんかんを合併し、常に手もみを呈する 3 番染色体短腕部分欠失(3P-)の女児例. 2004 第 46 回日本小児神経学会
- 5) 福興なおみ、萩野谷和裕、飯沼一字. 宮城県における West 症候群の発生率の検討. 2004 第 46 回日本小児神経学会
- 6) 冨樫紀子、萩野谷和裕、飯沼一字、渡辺みかこ. Parry-Romberg 症候群の 1 男児例. 2004 第 46 回日本小児神経学会
- 7) 佐藤育子、萩野谷和裕、石飛真美子、冨樫紀子、宗形光敏、横山浩之、大浦敏博、田中佳子、小林康子、大沼晃、飯沼一字. 先天性サイトメガロウイルス感染症に関する検討：新生児マスキングの提唱. 2004 第 46 回日本小児神経学会
- 8) 石飛真美子、萩野谷和裕、阿部弘、坂本修、宗形光敏、横山浩之、大浦敏博、飯沼一字、沢石由記夫、矢野珠巨、後藤雄一. ミトコンドリア rRNA 遺伝子異常を伴う急速進行性全身性ジストニアの 1 例. 2004 第 46 回日本小児神経学会
- 9) 社本博、中里信和、石飛真美子、萩野谷和裕. 小児てんかん外科治療適応と治療時期. 2004 第 46 回日本小児神経学会
- 10) 近藤郁子、山下裕史朗、永光信太郎、松石豊治郎、宇杉明子、齊藤加代子、大守伊織、大塚ようこ、宮地幸、萩野谷和裕、笛木昇、橋

本俊顕. MECP2 変異解析：Rett 症候群の早期診断基準の作成の試み. 2004 第 46 回日本小児神経学会

- 11) 萩野谷和裕、宗形光敏、石飛真美子、横山浩之、冨樫紀子、飯沼一字. メラトニン大量療法による小児難治てんかんの治療的試み. 2004 第 38 回日本てんかん学会
- 12) Haginoya K, Munakata M, Ishitobi M, Togashi N, Yokoyama H, Iinuma K. High dose melatonin therapy for patients with extremely intractable epilepsy. 2004, 5th Asian&Oseanian Epilepsy Congress (Bangkok)
- 13) Haginoya K, Sun G, Onuma A, Iinuma K. Intramuscular renin-angiotensin system is activated in the muscles of muscular dystrophy. 2004, 8th Asian&Oseanian Child Neurology Association.(New Delhi)

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

Mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes

（MELAS）の死亡原因に関する研究

分担研究者 田辺雄三 千葉県こども病院第一内科部長

研究協力者 小林和彦 千葉県こども病院神経科

研究要旨

小児期の代表的なミトコンドリア病の一型であるMELASは生命予後不良と言われているにもかかわらず、多数例での死亡年齢、死因の検討が充分行われてこなかった。卒中様発作、進行性の痴呆あるいはその他の合併症に対する治療法開発が重要である一方、生命予後改善の検討を行っていくことも重要と考えられる。そのため我々が経験したMELASの死因を検討した。MELASではSLE、心筋症による心不全、痴呆進行による寝たきり状態が死亡に大きく関与していた。SLEに対しては急性期治療・発作予防としてL-アルギニン療法が注目されているが、今後さらなる生命予後改善を図る上では、心不全に対する治療、さらに重症心身障害児・者に対する医療的ケア向上の検討が重要である。

A.研究目的

小児期の代表的なミトコンドリア病の一型である MELAS は生命予後不良とされているがこれまで本邦並びに世界的にも多数例での死亡年齢、死因の検討は充分行われてこなかった。原因に対する根治治療が確立していない現在、予後に影響を与える対症療法が可能な症状を早期に発見し治療開始することは重要と思われる。そのため今回我々は、MELAS の死因を検討することにした。

B.研究方法

千葉県こども病院及び久留米大学医学部小児科を受診し、MELAS と診断後に死亡した5例を後方視的に検討した。最終入院の原因となり死亡に最も影響を与えた因子を死因とした。最終入院前の日常生活動作レベル、心不全の程度、最終入院中の脳卒中様発作（以下 SLE）やけいれん重積、腎不全の合併の有無について検討した。

C.研究結果 表1参照

（症例1）29歳9ヶ月時に肺炎で死亡した女性。施設入所中であり、肺炎罹患前から寝たきり状態で日常生活は全介助レベルであった。死亡直前に SLE、けいれん重積は認めなかった。（症例2）25歳11ヶ月時に心不全で死亡した男性。最終入院前、日常生活は全介助レベルであったが、寝たきり状態ではなかった。21歳で Ejection fraction（以下 EF）が40%以下になる。入院中に SLE、けいれん重積は認めなかった。（症例3）23歳3ヶ月時に SLE を契機に寝たきりとなり心不全、敗血症で死亡した女性。最終入院直前まで日常生活は自立していた。19歳で EF40%以下になる。（症例4）16歳1ヶ月時に自宅で窒息が原因と推定される突然死を来した男性。死亡前、日常生活は全介助レベルであったがコミュニケーションツールで意思表示可能であった。死亡直前に SLE、けいれん重積は認めなかった。（症例5）16歳10ヶ月時に心不全で死亡した男。最終入院前、寝たきり状態で日常生活は全介助レベルであった。7歳で EF40%以下になる。入院中に SLE、

けいれん重積は認めなかった。(症例6) 16歳10ヶ月時に喀痰排出困難による窒息で死亡した男性。寝たきり状態で日常生活は全介助レベルであった。死亡直前にSLE, けいれん重積は認めなかった。(症例7) 11歳時の初回SLEを契機に入院。腎不全を合併し死亡した男。最終入院前, 軽度知的障害あるも日常生活自立。剖検で肥大型心筋症を認めた。

平均死亡年齢 19歳11ヶ月 (11歳-29歳9ヶ月)

月)。SLE後に急激に全身状態が悪化し, 心不全, 腎不全を合併し死亡2例。心筋症による心不全による死亡2例。寝たきり状態にあり死亡原因が窒息と推定される2例。寝たきり状態で呼吸器感染症による死亡1例であった。SLEが死亡の契機となった2例を除き, 他の5例は最終入院前のADLは寝たきり状態であり, SLE, けいれん重積は認めなかった

表1

症例	性別	死亡年齢	死亡主原因	初回卒中様発作	mtDNA変異	EF<40%出現年齢	死亡直前の卒中様発作の有無	痙攣重積の有無	剖検の有無
1	女	29歳9ヶ月	肺炎	10歳3ヶ月	3243	不明	なし	なし	なし
2	男	25歳11ヶ月	心不全	16歳0ヶ月	3243	21歳6ヶ月, 27.2%	なし	なし	なし
3	女	23歳3ヶ月	脳卒中様発作・心不全	14歳6ヶ月	3243	10歳0ヶ月	あり	なし	なし
4	男	16歳1ヶ月	窒息?(自宅で)	16歳3ヶ月	3243		不明	不明	なし
5	男	16歳10ヶ月	心不全	8歳0ヶ月	3243	7歳11ヶ月	なし	なし	なし
6	男	16歳10ヶ月	窒息	7歳0ヶ月	3291	不明	なし	なし	なし
7	男	11歳	脳卒中様発作	11歳	3243	剖検では肥大型心筋症	あり	あり	あり

D. 考察

MELASではSLE, 心筋症による心不全, 痴呆進行による寝たきり状態が死亡に大きく関与していた。SLEを契機に死亡した症例は, ADLが保たれている状態から比較的急激な経過で死亡しており, SLEの急性期治療・発作予防は重要である。L-アルギニン療法はSLEの急性期治療・発作予防に有効と報告されている治療であり, 今後生命予後改善に期待される治療である。一方で今後さらなる生命予後改善を図る上では, 心不全に対する治療, さらに重症心身障害児・者に対する医療的ケア向上の検討が重要である。MELASによる痴呆進行による重症心身障害児・者の呼吸障害に対し気管切開を導入する時期, 適応の検討の必要と思われた。

E. 結論

MELASと診断され, 死亡した7例の死因を後方視的に検討した。SLE, 心不全, 痴呆進行による寝たきり状態に呼吸不全の死因への関与が推定された。生命予後改善にはこれの死因に対する

対応が重要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 田辺雄三 日常よく見る小児神経疾患に対する薬の使い方 筋疾患クリニカ 31:182-185, 2003
- 2) Arai J, Kanbayashi T, Tanabe Y, Sawaisi Y, Kimura S, Watanabe A, Mishima K, Hishikawa Y, Shimizu T, Nishino S. CSF hypocretin-1 (orexin-A) levels in childhood narcolepsy and neurologic disorders. Neurology 63:2440-2, 2004
- 3) Kubota H, Tanabe Y, Takanashi J, Kohno Y Episodic hyponatremia in mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS). J Child Neurol, in press

4) Arai H, Tanabe Y, Hachiya Y, Otsuka E, Kumada S, Furushima W, Kohyama J, Yamashita S, Takanashi J, Kohno Y. Finger Cold-induced Vasodilatation, Sympathetic Skin Response and R-R Interval Variation in Patients with Progressive Spinal Muscular Atrophy. J Child Neurol, in press

2. 学会発表

- 1) 黒田紀子, 磯辺真理子, 豊田玲子, 田辺雄三, 小林一彦. 溶血性尿毒症症候群治療後に発症した重症筋無力症の女児例. 日本神経眼科学会総会 2004.10.15 名古屋
- 2) 小林一彦, 田辺雄三. 亜急性硬化性全脳炎の1例. 第168回日本小児科学会千葉地方会. 2004.6.5 千葉
- 3) 内川英紀, 藤井克則, 小林一彦, 久保田博昭, 田辺雄三, 大曾根義輝, 安齋聡, 高梨潤一, 河野陽一. 小児神経疾患における髄液中 14-3-3 protein の検討. 第46回日本小児神経学会総会 2004.7.15 東京
- 4) 藤井克則, 内川英紀, 田辺雄三, 小林一彦, 久保田博昭, 安齋聡, 高梨潤一, 河野陽一. 14-3-3 protein とインフルエンザ関連脳症. 第46回日本小児神経学会総会 2004.7.15 東京

5) 田辺雄三, 小林一彦. 自験例ならびに報告例における MELAS 卒中様発作の臨床研究. 第46回日本小児神経学会総会 2004.7.15 東京

6) 小林一彦, 田辺雄三, 高梨潤一, 河野陽一. ENMC mitochondrial disease rating scale による MELAS の重症度評価. 第46回日本小児神経学会総会 2004.7.15 東京

7) 小林一彦, 田辺雄三, 横地房子, 谷口真, 野村芳子, 瀬川昌也, 高梨潤一, 河野陽一. 脳深部刺激療法を行った遺伝性ジストニアの一例. 第46回日本小児神経学会総会 2004.7.15 東京

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

1. ミトコンドリア脳筋症におけるアポトーシスの検討

ミトコンドリア脳筋症は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。ミトコンドリアは細胞内小器官で、細胞に必要とされるエネルギーを産生しているが、近年ミトコンドリアが、細胞のアポトーシスにも重要な役割を果たしていることが注目されている。しかしながら、ミトコンドリア脳筋症におけるアポトーシスの関与は十分に検討されていない。本年度の研究においてミトコンドリア脳筋症のLeigh症候群におけるアポトーシスの検討を組織免疫法で行い、Tunnel法でアポトーシスによる細胞死を確認した。さらに、Caspase 3とBaxが陰性であったことはこれらのカスパーゼ依存性の経路を介さないカスパーゼ非依存性の経路が推測された。これらの結果はアポトーシスがその病態に深く関与していることを示唆するものである。治療薬の開発、選択にその病態が重要な位置を占める可能性があり、さらに検討を深めることが必要と考える。

2. ミトコンドリア細胞の増殖の検討

これまで我々はHeLa細胞由来のmitochondria-less ($\rho 0$)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)。

ミトコンドリアの働きを理解する基礎的研究として、核より小さな均一な孔の開いたフィルターを通過させてミトコンドリア細胞増殖を解析した。ミトコンドリア細胞がフィルターを通しても増殖することから原核細胞の性質を持つことを再確認した。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。

A.研究目的

1. ミトコンドリア脳筋症におけるアポトーシスの検討

ミトコンドリア脳筋症は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。ミトコンドリアは細胞内小器官で、細胞に必要とされる

エネルギーを産生しているが、近年ミトコンドリアが、細胞のアポトーシスにも重要な役割を果たしていることが注目されている。しかしながら、ミトコンドリア脳筋症におけるアポトーシスの関与は十分に検討されていない。我々は Leigh 症候群及びAlpers症候群の剖検検体からアポトーシスを示唆する Ladder formation を報告してきた。(第43回小児神経学会, 2001)また、Ikezoeらはミ