

施設番号		症例番号 (MELAS)	
------	--	-----------------	--

調査票

MELAS 急性発作患者用 症 例 報 告 書

患者名 (仁ハ)	(姓) (名)	カルテ番号	
性 別	<input type="checkbox"/> 1.男 <input type="checkbox"/> 2.女	生年月日	1.昭和 2.平成 年 月 日
身 長 体 重 (調査時)	_____ cm _____ kg	調査時年齢	歳 力月 <input type="checkbox"/> 1. 生存 <input type="checkbox"/> 2. 死亡
施設名・科名			
研究責任医師名	200_____年_____月_____日 _____ 印		
研究分担医師名	200_____年_____月_____日 _____ 印		
施設情報	施設名 _____ 住所：〒 _____ 電話番号： _____ FAX 番号： _____		

主任研究者：古賀靖敏

事務局：〒830-0011 福岡県久留米市旭町 67 久留米大学医学部小児科

電話番号： 0942-31-7565

FAX 番号： 0942-38-1792

施設番号		症例番号 (MELAS)	
------	--	-----------------	--

■初発時の状態

患者名 (仁名)	(姓) (名)	カルテ番号		
初発時	発症時期	平成・昭和	年 月頃 (歳頃)	
	症 状	頭痛 (片頭痛)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
		嘔吐、嘔気	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
家族歴	四肢の不全麻痺 (一過性)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
	閃輝暗点	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
初発時 一般検査	失明もしくは視野異常 (一過性)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
	痙攣	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
	ミオクローヌス	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
	意識障害 (一過性)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
	易疲労性 (筋力低下)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
	難聴 (感音性)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
	糖尿病	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
	腸閉塞	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
	低身長 (— SD)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
	心不全	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
	腎不全	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
	その他 ()			
	糖尿病	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	母系家族歴	有・無
	難聴	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	母系家族歴	有・無
	イレウス	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	母系家族歴	有・無
貧血 (Hb _____g/dl)	1. 鉄欠乏性 2. 鉄芽球性 3. 正球性 4. 大球性			
代謝性アシドーシス (pH 7.30 以下)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)			
高トランスアミナーゼ血症 (_____)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)			
高CK血症 (_____)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)			
腎機能異常 (_____)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)			
低Na血症 (130mEq/l 以下) (_____mEq/l)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)			
高アラニン血症 (_____)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)			
高乳酸値 血液 (正常の1.5 倍以上)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)			
髄液 (正常の1.5 倍以上)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)			
その他の異常 ()				
初発時 頭部画像検査	CT	大脳基底核の石灰化	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	MRI	①後頭葉の異常	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
		②側頭葉の異常	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
		③頭頂葉の異常	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
		④前頭葉の異常	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
		⑤基底核の異常	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
SPECT	の異常	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		

施設番号		症例番号 (MELAS)	
------	--	-----------------	--

■確定診断の根拠

患者名 (イニシャル)	(姓) (名)	カルテ番号	
認定基準 (東京都の難病 医療費等助成制 度の認定基準を 参考に)	1. 進行性筋力低下 (外眼筋麻痺を含む) を認める。 2. 知的退行、痙攣、一過性麻痺、半盲、皮質盲、ミオクローヌス、小脳失調などの中枢神経症状が存在する。 3. 血清又は髄液の乳酸値が正常の1.5倍を超える。 4. 筋生検でミトコンドリアの形態異常、又はミトコンドリア関連酵素の欠損をみる。 5. ミトコンドリアもしくは核DNAの変異がある。		<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし <input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし <input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし <input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし <input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし
遺伝子診断	ミトコンドリアDNAの異常 (<input type="checkbox"/> 1. あり _____、 <input type="checkbox"/> 2. なし) ヘテロプラスミーの割合 筋 _____% 末梢白血球 _____% その他の変異 _____ 核DNAの異常 (<input type="checkbox"/> 1. あり _____、 <input type="checkbox"/> 2. なし)		
酵素診断	電子伝達系酵素異常 complex I (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし) 正常の _____% complex II (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし) 正常の _____% complex III (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし) 正常の _____% complex IV (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし) 正常の _____% complex V (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし) 正常の _____% 複合欠損症 (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし) 正常の _____%		
頭部画像検査	CT 大脳基底核の石灰化 (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし、 <input type="checkbox"/> 3. 不明) MRI ①後頭葉の異常 (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし、 <input type="checkbox"/> 3. 不明) ②側頭葉の異常 (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし、 <input type="checkbox"/> 3. 不明) ③頭頂葉の異常 (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし、 <input type="checkbox"/> 3. 不明) ④前頭葉の異常 (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし、 <input type="checkbox"/> 3. 不明) ⑤基底核の異常 (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし、 <input type="checkbox"/> 3. 不明) SPECTの異常 (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし、 <input type="checkbox"/> 3. 不明) MRI異常の発来順序 (番号を記載) → → →		

施設番号		症例番号 (MELAS)	
------	--	-----------------	--

■現在の状況及び投薬内容

患者名 (にシテ)	(姓) (名)	カルテ番号	
最近(1年以 内)の発作の 頻度	高度: 回/年	内容:	
	中等度: 回/年	内容:	
	軽度: 回/年	内容:	
治療薬剤 (一日投与 量)	1. アルカリ化剤 抗酸化剤	ウラリット (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day 重曹 (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day メイロン (□1. あり、□2. なし) _____ mEq/kg/day	
	2. ビタミン剤	ビタミンC (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day ビタミンE (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day ビタミンB1 (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day 総合ビタミン剤 (□1. あり、□2. なし) _____ g/kg/day	
	3. 代謝賦活剤	ジクロロ酢酸 (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day カルニチン (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day コハク酸 (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day クレアチン (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day ノイキノン (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day イデベノン (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day ビルビン酸 (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day	
	4. アミノ酸	タウリン (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day アルギニン (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day	
	5. 抗痙攣剤	CBZ (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day VPA (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day PHT (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day PB (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day ESM (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day DZP (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day CZP (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day AZA (□1. あり、□2. なし) _____ mg/kg/day	
	6. ステロイド剤	_____ mg/kg/day _____ mg/kg/day	
	7. その他	_____ mg/kg/day _____ mg/kg/day _____ mg/kg/day _____ mg/kg/day	

施設番号		症例番号 (MELAS)	
------	--	-----------------	--

TCho、Na、K、Cl、血糖、血液ガス分析 (pH、pCO₂、pO₂、BE)

3) 特殊検査

血漿中アルギニン及びシトルリン、乳酸、ピルビン酸、NO_x、c-GMP、ADMA

4) 脳画像検査

投与直前 (可能な限り)、2日目の投与開始前、投与終了時 (又は中止時) に画像診断を CT、MRI、^{99m}Tc-ECD-SPECT のいずれかにより実施する。

■有効性の効果判定

臨床症状改善度及び安全性から下記の通り判定する。

1. 極めて有用
2. 有用
3. やや有用
4. 無用
5. やや好ましくない
6. 好ましくない
7. 非常に好ましくない
8. 判定不能

施設番号		症例番号 (MELAS)	
------	--	-----------------	--

調査票

MELAS 寛解期患者用 症例報告書

患者名 (仁名)	(姓) (名)	カルテ番号	
性別	<input type="checkbox"/> 1.男 <input type="checkbox"/> 2.女	生年月日	1.昭和 2.平成 年 月 日
身長 体重 (調査時)	_____ cm _____ kg	調査時年齢	存 歳 力月 亡 <input type="checkbox"/> 1. 生 <input type="checkbox"/> 2. 死
施設名・科名			
研究責任医師名	200 _____年 _____月 _____日 印		
研究分担医師名	200 _____年 _____月 _____日 印		
施設情報	施設名 _____ 住所：〒 _____ 電話番号： _____ FAX 番号： _____		

主任研究者：古賀靖敏

事務局：〒830-0011 福岡県久留米市旭町 67 久留米大学医学部小児科

電話番号： 0942-31-7565

FAX 番号： 0942-38-1792

施設番号		症例番号 (MELAS)	
------	--	-----------------	--

■初発時の状態

患者名 (イニシャル)	(姓) (名)	カルテ番号	
初発時	発症時期	平成・昭和	年 月頃 (歳頃)
	症状	頭痛 (片頭痛)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)
		嘔吐、嘔気	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)
家族歴	四肢の不全麻痺 (一過性)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	閃輝暗点	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	失明もしくは視野異常 (一過性)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	痙攣	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	ミオクローヌス	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	意識障害 (一過性)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	易疲労性 (筋力低下)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	難聴 (感音性)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	糖尿病	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	腸閉塞	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	低身長 (— SD)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	心不全	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	腎不全	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	その他 ()		
	糖尿病 (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	母系家族歴	有・無
	難聴 (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	母系家族歴	有・無
	イレウス (<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	母系家族歴	有・無
初発時 一般検査	貧血 (Hb _____ g/dl)	1. 鉄欠乏性	2. 鉄芽球性
		3. 正球性	4. 大球性
	代謝性アシドーシス (pH 7.30 以下)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	高トランスアミナーゼ血症 (_____)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	高CK血症 (_____)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	腎機能異常 (_____)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	低Na血症 (130mEq/l 以下) (_____ mEq/l)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	高アラニン血症 (_____)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	高乳酸値 血液 (正常の1.5倍以上)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
	髄液 (正常の1.5倍以上)	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	
その他の異常 ()			
初発時 頭部画像検査	CT	大脳基底核の石灰化	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)
	MRI	①後頭葉の異常	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)
		②側頭葉の異常	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)
		③頭頂葉の異常	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)
		④前頭葉の異常	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)
		⑤基底核の異常	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)
SPECT	の異常	(<input type="checkbox"/> 1. あり、 <input type="checkbox"/> 2. なし)	

施設番号		症例番号 (MELAS)	
------	--	-----------------	--

■確定診断の根拠

患者名 (イニシャル)	(姓) (名)	カルテ番号	
認定基準 (厚生労働科学 研究班古賀班の 基準による)	<p>確実例: 下記のA. 卒中様の臨床所見の2項目を満たし、かつB. ミトコンドリア異常の根拠の2項目を満たすもの(計4項目以上必要)</p> <p>疑い例: 下記のA. 卒中様の臨床所見の1項目を満たし、かつB. ミトコンドリア異常の根拠の2項目を満たすもの(計3項目以上必要)</p> <p>A. 卒中様の臨床所見</p> <p>1 頭痛/嘔吐</p> <p>2 痙攣</p> <p>3 片麻痺</p> <p>4 同名半盲または皮質盲</p> <p>5 脳画像上脳の急性局所異常所見^{注釈1}</p> <p>B. ミトコンドリア異常の根拠</p> <p>1 血清又は髄液の乳酸値が正常の1.5倍以上またはミトコンドリア関連酵素の欠損^{注釈2}</p> <p>2 筋生検でミトコンドリアの形態異常^{注釈3}</p> <p>3 (MELAS 関連の)既知の遺伝子変異^{注釈4}</p>		
遺伝子診断	<p>ミトコンドリア DNA の異常 (□1. あり _____、□2. なし)</p> <p>ヘテロプラスミーの割合 筋 _____% 末梢血白血球 _____%</p> <p>その他の変異 _____</p> <p>核 DNA の異常 (□1. あり _____、□2. なし)</p>		
酵素診断	<p>電子伝達系酵素異常の _____%</p> <p>complex I (□1. あり、□2. なし) 正常</p> <p>complex II (□1. あり、□2. なし) 正常</p> <p>complex III (□1. あり、□2. なし) 正常</p> <p>complex IV (□1. あり、□2. なし) 正常</p> <p>complex V (□1. あり、□2. なし) 正常</p> <p>複合欠損症 (□1. あり、□2. なし) 正常</p>		
頭部画像検査	<p>CT 大脳基底核の石灰化 (□1. あり、□2. なし、□3. 不明)</p> <p>MRI ①後頭葉の異常 (□1. あり、□2. なし、□3. 不明)</p> <p>②側頭葉の異常 (□1. あり、□2. なし、□3. 不明)</p> <p>③頭頂葉の異常 (□1. あり、□2. なし、□3. 不明)</p> <p>④前頭葉の異常 (□1. あり、□2. なし、□3. 不明)</p> <p>⑤基底核の異常 (□1. あり、□2. なし、□3. 不明)</p> <p>SPECTの異常 (□1. あり、□2. なし、□3. 不明)</p>		

施設番号		症例番号 (MELAS)	
------	--	-----------------	--

	MR I 異常の発来順序 (番号を記載)	→	→	→
--	----------------------	---	---	---

施設番号		症例番号 (MELAS)	
------	--	-----------------	--

■現在の状況及び投薬内容

患者名 (イニシャル)	(姓) (名)	カルテ番号	
最近(1年以内)の発作の頻度	高度: 回/年	内容:	
	中等度: 回/年	内容:	
	軽度: 回/年	内容:	
治療薬剤 (一日投与量)	1. アルカリ化剤 抗酸化剤	ウラリット (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day 重曹 (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day メイロン (□1. あり, □2. なし) _____ mEq/kg/day	
	2. ビタミン剤	ビタミンC (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day ビタミンE (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day ビタミンB1 (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day 総合ビタミン剤 (□1. あり, □2. なし) _____ g/kg/day	
	3. 代謝賦活剤	ジクロロ酢酸 (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day カルニチン (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day コハク酸 (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day クレアチン (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day ノイキノン (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day イデベノン (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day ピルビン酸 (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day	
	4. アミノ酸	タウリン (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day アルギニン (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day	
	5. 抗痙攣剤	CBZ (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day VPA (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day PHT (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day PB (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day ESM (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day DZP (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day CZP (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day AZA (□1. あり, □2. なし) _____ mg/kg/day	
	6. ステロイド剤	_____ mg/kg/day _____ /day _____ mg/kg/day	
	7. その他	_____ mg/kg/day _____ /day _____ mg/kg/d _____ ay _____ mg/kg/day _____ day _____ mg/kg/d _____ ay _____ mg/kg/day _____ day	

施設番号		症例番号 (MELAS)	
------	--	-----------------	--

■判定方法

1) 脳卒中スケール(stroke scale) : 経過中、脳卒中発作症状がある場合、頭痛、吐き気・嘔吐、四肢の不全麻痺、閃輝暗点、失明または視野異常、痙攣、意識障害の各症状に関し、症状が存在すればそれぞれ1点とし、3つの症状があれば3点とする。その点数をその月の発作回数毎に積算し、その月の脳卒中スケール(stroke scale) とする。

2) MELAS scale : MELAS の病勢に関しては、MELAS の grating scale を参考に毎月評価する。

3) 血液一般検査

RBC、WBC、Hb、Ht、PLT、AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、T-Bil、LDH、 γ -GTP、BUN、Cre、TG、T-Cho、Na、K、Cl、血糖、血液ガス分析 (pH、pCO₂、pO₂、BE)

4) 特殊検査

血漿中アルギニン及びシトルリン、乳酸、ピルビン酸、NO_x、c-GMP、ADMA

5) 脳画像検査

投与直前(可能な限り)、投与終了時(又は中止時)に画像診断をCT、MRI、^{99m}Tc-ECD-SPECTのいずれかにより実施する。

■有効性の効果判定

臨床症状改善度及び安全性から下記の通り判定する。

1. 極めて有用
2. 有用
3. やや有用
4. 無用
5. やや好ましくない
6. 好ましくない
7. 非常に好ましくない
8. 判定不能

研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
古賀靖敏	Effects of L-arginine on the acute phase of strokes in three patients with MELAS.	Neurology	58	827-828	2002
	Increased mitochondrial processing intermediates associated with three tRNA ^{Leu} (UUR) gene mutations.	Neuromuscular Dis	13	259-262	2003
	MELAS and L-arginine therapy.	Brain Dev.	26(7)	480	2004
	Noonan syndrome, moyamoya-like vascular changes, and antiphospholipid syndrome.	Pediatr Neurol.	31(5)	364-366	2004
	L-arginine improves the symptoms of stroke-like episodes in MELAS.	Neurology	64(4)	710-712	2005
	A new sequence variant in mitochondrial DNA associated with high penetrance of Russian Leber hereditary optic neuropathy.	Mitochondrion	In Press		2005
	A novel MYC-Target gene, <i>MIMITIN</i> , that is involved in cell proliferation of esophageal squamous cell carcinoma.	JBC	In Press		2005
	【ミトコンドリアとミトコンドリア病】 ミトコンドリア病(狭義)の欠損複合体別分類と臨床、複合体Ⅰ	日本臨床	60 suppl.4	478-481	2002
	【ミトコンドリアとミトコンドリア病】 ミトコンドリア病(狭義)の欠損複合体別分類と臨床、複合体Ⅱ	日本臨床	60 suppl.4	482-485	2002
	【ミトコンドリアとミトコンドリア病】 ミトコンドリア病(狭義)の欠損複合体別分類と臨床、複合体Ⅲ	日本臨床	60 suppl.4	486-489	2002
	小児期発症ミトコンドリア脳筋症に対する新しい治療法	小児科	44(9)	1361-1375	2003
	片頭痛とミトコンドリア病	日本醫事新報	4153	19-25	2003
	神経症状を有するミトコンドリア遺伝子異常	小児科	45(1)	51-61	2004
	MELASの新しい治療法-L-アルギニン	臨床検査	49(1)	83-88	2005

研究成果の刊行物・別刷

Effects of L-arginine on the acute phase of strokes in three patients with MELAS

Y. Koga, MD, PhD; M. Ishibashi, MD, PhD; I. Ueki, MD; S. Yatsuga, MD; R. Fukuyama, MD; Y. Akita, MD, PhD; and T. Matsuishi, MD, PhD

The primary cause for stroke-like episodes in young patients with MELAS (myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes)—whether mitochondrial cytopathy, angiopathy, or both—remains controversial. Based on a hypothesis that stroke-like episodes in MELAS are caused by segmental impairment of vasodilation in intracerebral arteries, we administered L-arginine to three patients with MELAS in the acute phase of stroke (within 1 hour of onset) and evaluated effects on clinical course, biochemical measurements, and functional cerebral hemodynamics according to ^{99m}Tc -ECD SPECT.

Patients and methods. **Patients.** Patient 1 was a 17-year-old woman referred to the hospital for periodic vomiting, hemiconvulsion, and short stature (below 2.7 SD). Patient 2 was an 18-year-old woman who was admitted to the hospital for generalized muscle weakness, periodic vomiting, hemiparesis, and short stature (below 1.5 SD). Patient 3 was a 15-year-old boy referred to our hospital for hemiblineness, hemiconvulsions, vomiting, and short stature (below 2.8 SD).

All patients showed extensive calcification in the basal ganglia, lactic acidosis (3.8 to 5.6 mmol/L; normal range 0.3 to 1.3) and a high lactate/pyruvate (L/P) ratio (exceeding 20). A muscle biopsy specimen showed ragged-red fibers and the percentage mutation in the A3243G of mitochondrial tRNA^{Lys}(UUR) gene is 87% in Patient 1, 74% in Patient 2, and 58% in Patient 3. Growth hormone levels were low in basal secretions and were not induced by 0.5 mg/kg/dose of L-arginine loading test in all patients studied.

Methods. Patients gave informed consent, and the L-arginine study protocol was approved by the University Ethics Committee (Kurume University Institutional Review Board no. 9715). Patients had been admitted to the hospital 16 times for stroke-like episodes. On these occasions, patients took part in this L-arginine vs placebo study beginning within 1 hour of onset of stroke-like symptoms. Patients were administered L-arginine (0.5 g/kg/dose) as a 10% solution in nine separate stroke-like episodes; a placebo (5% dextrose, 0.5 g/kg/dose) in four other episodes; and D-arginine (in a 10% solution) in the last episode. Each treatment was given IV over 15 minutes during the acute phase of stroke. The following symptoms were evaluated before and at 15 minutes, 30 minutes, and 24 hours after administration: headache (scored on a scale from 0 [no pain] to 3 [severe pain]), clinical disability (scored from 0 [no disability] to 3 [severe disability]), nausea (present or absent), vomiting (present or absent), and teichopsia (present or absent), as described elsewhere.¹ Biochemical measurements were determined including the concentrations of L-arginine, L-citrulline, pyruvate, and lactate, as well as the L/P ratio in serum or CSF. Nitric oxide metabolites (NOx) in urine were also measured. Intracranial hemodynamics were measured using ECD-SPECT (approximate total radioactivity, 740 MBq) before and after L-arginine administration.

Statistical analyses were performed Fisher's exact test for the clinical improvements, and Student's *t*-test for the biochemical measurements. The level of significance was set at $p < 0.05$.

Discussion. After administration of L-arginine, all symptoms suggesting stroke except teichopsia dramatically improved (see the table on the next page). Effects on headache, nausea, and vomiting were marked. However teichopsia remained for several

days after L-arginine treatment. The reason that teichopsia remained after several days after L-arginine treatment is unclear. No adverse effects were shown. Mean arterial pressure after L-arginine treatment reached a minimum at 30 minutes after administration, coinciding with the L-citrulline peak. Lactate and pyruvate levels in serum were significantly improved at 24 hours after treatment, and were comparable to those measured during periods of well being (see the table).

At 30 minutes after L-arginine injection, uptake in the decreased regional cerebral blood flow (rCBF) in the ischemic region was improved on SPECT; however, the percent increase was less than 13% of the increase on the contralateral side. Because L-arginine did not show the responsive cerebral vasodilation during the ischemic process,² we cannot analyze the percent increase in rCBF accurately because the areas contained the old infarction. Luxury perfusion in the ischemic area has been reported even 4 months after a stroke-like episode.³ In this study, we wanted to prevent ischemic brain damage in the acute phase of a stroke-like episode in MELAS by using L-arginine to induce vasodilation. L-Arginine is a potent donor of nitric oxide, which may reduce ischemic damage in the acute phase of focal brain ischemia by increasing CBF,⁴ inhibiting posts ischemic leukocyte-endothelial adhesion,⁵ decreasing the amount of hydroxy radical,⁶ and inhibiting the potentially neuroexcitotoxic NMDA receptor.⁷ However, exact mechanisms involving L-arginine and NO are not yet fully known.

Our data indicate that L-arginine therapy improved microcirculation and reduced tissue injury from ischemia; therefore, it represents a potential new therapy for use in the acute phase of stroke-like episodes in MELAS.

From the Department of Pediatrics and Child Health (Drs. Koga, Ueki, Yatsuga, Fukuyama, Akita, and Matsuishi), and Department of Molecular Nuclear Medicine and Department of Radiology (Dr. Ishibashi), Kurume University School of Medicine, Asahi-machi, Kurume, Fukuoka, Japan.

Supported in part by grant no. 13670853 from the Ministry of Culture and Education in Japan.

Received July 18, 2001. Accepted in final form November 16, 2001.

Address correspondence and reprint requests to Dr. Yasutoshi Koga, Department of Pediatrics and Child Health, Kurume University School of Medicine, 67 Asahi-Machi, Kurume City, Fukuoka 830-0011, Japan; e-mail: yasukoga@med.kurume-u.ac.jp

Copyright © 2002 by AAN Enterprises, Inc.

References

- Lassen LH, Ashina M, Christiansen I, et al. Nitric oxide synthase inhibition in migraine. *Lancet* 1997;349:401-402.
- Sporer B, Martens KH, Koedel U, et al. L-arginine-induced regional cerebral blood flow increase is abolished after transient focal cerebral ischemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997;17:1074-1080.
- Gropen TI, Frohoviak I, Tatemichi TK, et al. Cerebral hyperemia in MELAS. *Stroke* 1994;25:1873-1876.
- Zhang F, White JG, Iadecola C. Nitric oxide donors increase blood flow and reduce brain damage in focal ischemia: evidence that nitric oxide is beneficial in the early stages of cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994;14:217-226.
- Gidday JM, Park TS, Shah AR, et al. Modulation of basal and post-ischemic leukocyte-endothelial adherence by nitric oxide. *Stroke* 1998;29:1423-1430.
- Wink DA, Hanbauer I, Krishna MC, et al. Nitric oxide protects against cellular damage and cytotoxicity from reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:9813-9817.
- Lipton SA, Choi Y, Pan Z, et al. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitrosocompounds. *Nature* 1993;364:626-632.

Table Effects of L-arginine

Symptoms/measurements	Before administration	After administration		
		15 min	30 min	24 h
Clinical symptoms in three patients with MELAS*				
Headache (improvement from score 3/2 to 1/0)				
L-Arginine	0/9	0/9	4/9†	5/9†
Placebo‡	0/7	0/7	1/7	1/7
Clinical disability (improvement from score 3/2 to 1/0)				
L-Arginine	0/9	0/9	4/9†	5/9†
Placebo‡	0/7	0/7	0/7	0/7
Nausea				
L-Arginine	0/9	0/9	4/9†	4/9†
Placebo‡	0/7	0/7	0/7	1/7
Vomiting				
L-Arginine	3/9	3/9	5/9†	6/9†
Placebo‡	0/7	0/7	0/7	1/7
Teichopsia				
L-Arginine	0/9	0/9	0/9	1/9
Placebo‡	0/7	0/7	0/7	0/7
Biochemical measurements, mmol/L, in Patient 1 (normal values)‡				
L-Arginine, blood (0.10 ± 0.04)	0.06 ± 0.01	10.6 ± 0.05§	4.7 ± 0.01§	0.08 ± 0.01
L-Citrulline, blood (0.02 ± 0.01)	0.08 ± 0.01	0.12 ± 0.01§	0.18 ± 0.01§	0.09 ± 0.01
Pyruvate, blood (0.10 ± 0.02)	0.22 ± 0.02	0.21 ± 0.01	0.20 ± 0.04	0.15 ± 0.02§
Lactate, blood (1.02 ± 0.08)	4.46 ± 1.02	6.48 ± 0.79§	7.28 ± 0.55§	2.85 ± 0.47§
L/P ratio, blood	17.8 ± 0.58	25.4 ± 7.97	28.0 ± 8.15	16.2 ± 1.03
Pyruvate, CSF	0.32	ND	ND	0.22
Lactate, CSF	4.86	ND	ND	3.22

* Numbers indicate the number of occasions when improvement was seen relative to the total number of episodes.

† $p < 0.05$ by Fisher's exact test.

‡ Numbers indicate mean ± SD in four separate occasions of strokelike episodes.

§ $p < 0.05$ by one-tailed student's *t*-test.

¶ 5% dextrose (0.5 g/kg/dose) in four other episodes and D-arginine in three episodes.

ND = not determined.



Increased mitochondrial processing intermediates associated with three tRNA^{Leu(UUR)} gene mutations

Atsuko Koga, Yasutoshi Koga*, Yukihiko Akita, Ryo Fukiyama, Isao Ueki, Shuichi Yatsuga, Toyojiro Matsuishi

Department of Pediatrics and Child Health, Kurume University School of Medicine, 67 Asahi-Machi, Kurume, Fukuoka 830-0011, Japan

Received 17 July 2002; received in revised form 7 October 2002; accepted 28 October 2002

Abstract

Accumulation of RNA 19 has been associated with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes. We analyzed total RNA in muscle specimens from six patients who had one of three pathogenetic point mutations in the mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} gene, including A3243G, T3271C, and T3303C. Mitochondrial processing intermediates were identified and quantitated by Northern blotting. The percentage of DNA with the mutation also was determined in each patient. The intermediate (RNA 19) was significantly increased in all patients. The proportion of mutation-carrying RNA in processing intermediates was always higher than in the DNA fraction, suggesting that these mutations may have dominant-negative effects on mitochondrial RNA processing events at the tRNA^{Leu(UUR)} gene boundary.

© 2002 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Mitochondrial DNA mutation; RNA; Dominant-negative effect

1. Introduction

Patients with a mutation at the tRNA^{Leu(UUR)} gene boundary show varied clinical manifestations such as mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS), encephalomyopathy, Leigh disease, maternally inherited diabetes mellitus, chronic external ophthalmoplegia, and cardiomyopathy. Understanding genotype-phenotype correlations in the MELAS patients will require much investigation of complex and incompletely delineated pathogenetic mechanisms. Mitochondrial processing intermediates (RNA 19), which consist of RNA species of the 16S rRNA/tRNA^{Leu(UUR)}/ND 1 genes, were originally discovered in the transmitochondrial cell lines containing the A3243G mutation associated with MELAS [1]. RNA 19 has also been detected in cybrid cells containing a mutation at position T3271C [2] or C3256T [3] in the tRNA^{Leu(UUR)} gene, and abnormal accumulation of RNA 19 has also been detected in muscle cells and fibroblasts from a patient with a T3302C mutation [4], and in muscle cells with an A3243G mutation in the tRNA^{Leu(UUR)} gene [5]. Such findings imply that abnormal mitochondrial RNA processing contributes to the pathogenesis of disease caused by tRNA^{Leu(UUR)} gene mutations. In 1998

we found that abnormal accumulation of RNA 19 caused dominant-negative effects in association with an A3243G point mutation in the mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} gene [6].

On investigating the molecular pathogenetic mechanisms underlying MELAS, interpretation of observations in cultured cells such as those above presented a major problem because the experiments were carried out in immortalized cell lines, usually derived from tumors. Characteristics of such aneuploidy are not constant, even for a given cell line. To avoid problems of interpretation in connection with aneuploidy, we used tissue specimens from patients to determine genotype-phenotype relationships associated with point mutations in the tRNA^{Leu(UUR)} gene. We analyzed steady-state levels and percentages of processing intermediates in patients having four different clinical phenotypes including Leigh encephalomyelopathy, MELAS, progressive external ophthalmoplegia (PEO), and mitochondrial cardiomyopathy. Each patient had one of three MELAS related point mutations in this region (A3243G, T3271C, or T3303C). Our aim was to determine the biologic significance of gene processing at the mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} boundary, and to examine whether tissue-specific mitochondrial RNA processing might be responsible for the clinical heterogeneity associated with point mutations in the mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} gene.

* Corresponding author. Tel.: +81-942-31-7565; fax: +81-942-38-1792.
E-mail address: yasukoga@med.kurume-u.ac.jp (Y. Koga).

Table 1
Clinical and genetic findings in patients^a

Patient	1	2	3	4	5	6
Phenotype	Leigh	MELAS	MELAS	PEO	MELAS	MMP
Onset/biopsy (y)	1/4	3/13	23/26	32/42	18/18	0.4/0.5
Outcome (y)	death(9)	alive	alive	alive	alive	death (0.6)
RRF (%)	68	5	6	0.5	3	59
SSVs	+	+	+	–	+	+
Point mutation	A3243G	A3243G	A3243G	A3243G	T3271C	T3303C
% RNA 19 in the total ND 1 signal (control 3.5 ± 0.8)	21.6	14.1	15.5	17.2	12.6	27.9
% Mutation in muscle homogenate in DNA	92	87	74	33	65	67
% Mutation in RNA 19 fraction (control, 0%)	96	92	86	89	87	96

^a Key: Leigh, Leigh encephalomyelopathy; MELAS, mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and strokelike episodes; PEO, progressive external ophthalmoplegia; MDM, mitochondrial diabetes mellitus; MMP, mitochondrial myopathy; RRF, ragged-red fibers; and SSVs, strongly succinate dehydrogenase-hyperreactive vessels. The control value for % RNA 19 is expressed as the mean ± SD of the percent of the total hybridization signal ($N = 8$).

2. Patients and methods

2.1. Patients

Clinical and genetic findings in the patients in this study are summarized in Table 1. Patients 1–4 had an A3243G mutation in the mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} gene, and were described as patients 1–4 in a previous report [7]. A detailed clinical summary of patient 6 also has been reported [8]. All patients gave informed consent for participation in this study, which was approved by the local ethics committee (Kurume University IRB#9715).

2.2. DNA and RNA analysis

Total DNA was extracted according to an established protocol [1]. Previously described methods were used to screen for A3243G [1], T3271C [2], and T3303C [8] mutations. Total RNA was isolated and analyzed by a method described previously [1]. RNA hybridization signals were quantitated using a BAS 2000 II Bioimage Analyzer (Fujix, Tokyo, Japan).

2.3. Mutation analysis of mitochondrial RNA processing intermediates

Mitochondrial RNA processing intermediates including RNA 19 were excised individually from gels after electrophoresis to eliminate any contaminating DNAs and RNAs. RNA was extracted using a gene matrix method (Gene Clean, Bio 101, CA) and then digested with RNase-free DNase I (Takara Biomedical, Tokyo, Japan). Using the same set of primers used for DNA analysis, the RNA processing intermediates were amplified from the tRNA^{Leu(UUR)} fraction using a 'hot start' program and the thermostable rTth reverse transcriptase RNA polymerase chain reaction (PCR) system

(Perkin Elmer Cetus, Norwalk, CT). RNA (100 ng) was amplified by rTth DNA polymerase-PCR, for 1 cycle of 2 min at 94°C, followed by 35 cycles of 1 min at 95°C, and 1 min at 60°C, and then a final cycle at 60°C for 7 min. To this PCR product were added 10 mCi of [α -³²P] dATP (3000 Ci/mmol), and 2.5 U of *Taq* polymerase; this mixture was incubated for 2 min at 94°C, 1 min at 55°C, and 10 min at 72°C. The resulting products were digested as in the DNA analyzes. DNA restriction fragments were measured quantitatively using the same procedure described above.

3. Results and discussion

We analyzed steady-state levels and processing of RNAs derived from the region of the tRNA^{Leu(UUR)} gene boundary in autopsy and biopsy tissues samples from six patients harboring mutations of A3243G, T3271C, or T3303C in the tRNA^{Leu(UUR)} gene. Steady-state levels of processing intermediates in muscle from patients who had a point mutation in the tRNA^{Leu(UUR)} gene were significantly higher than those seen in normal tissues (Fig. 1 and Table 1). This patient showed 96% of the RNA 19 fraction contained the mutation in patient 6 with T3303C, the greatest accumulation of RNA 19 (eight times the control total ND 1 signal, and 1.7 times the control total tRNA^{Leu(UUR)} signal). Sixty-seven percent of DNA from muscle homogenate contained the T3303C mutation (Fig. 2). Patient 1, who showed the second highest accumulation of RNA 19 (21.6% of the total ND 1 signal), also had the highest percentage of mutation in DNA from muscle homogenate (92%) among patients with an A3243G. Both patients died during the first decade of life.

In controls, the highest percentage of RNA 19 was present in the brain (Fig. 1), which suggests an important role for this