

Fig. 1. Northern (RNA) hybridization analysis of normal human tissues. Autoradiograms of the hybridization blot of total RNA isolated from various tissues from a normal individual are shown. The two species hybridizing to the ND 1 probe are indicated at the right. One is approximately 2600 nucleotides (nt) in size and corresponds to RNA 19, while the other is approximately 950 nt and corresponds to ND 1 and to tRNA^{Leu(UUR)} plus ND 1. RNA 19 also was detected by the 16S rRNA probe and by the tRNA^{Leu(UUR)} probe (data not shown).

intermediate in neurologic aspects of MELAS such as stroke-like episodes. In our study, steady-state levels of RNA 19 in human tissues showed variation possibly resulting from differences in energy dependency, tissue-specific factors or mitochondrial RNA processing capacity of the cells; these variables may be controlled by the nuclear genome. Steady-state levels of processing intermediates differ between tissues, and a strong inverse correlation can be demonstrated between the level of RNA 19 per cell and the rate of oxygen consumption in cybrid cell lines *in vivo* [1]. Tissues such as brain, heart, muscle, and pancreatic β -cells may lose some tolerance to respiratory insufficiency when processing intermediates accumulate. Certain mutations in the human mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} gene have been reported to interfere directly with efficient processing of the tRNA precursor *in vitro* [9]. Our patients 1 and 6, who died in their first decade, showed higher accumulations of RNA 19 (greater than 27% of the total ND 1 signal and more than 46% of the total tRNA^{Leu(UUR)} signal) than our other patients who survived. Although the T3303C mutation showed no marked effect on processing *in vitro* [9], a severe processing abnormality was observed in patient tissues. The degree of RNA 19 accumulation does not always correlate with the percentage of mutation in a DNA-based analysis; this was especially true in patient 6. Accumulation may be influenced by the location of the mutation within the tRNA^{Leu(UUR)} gene, and also the processing capacity of individual tissues. The processing intermediates with normal segments encoding runes might be incorporated into ribosome and render them functionally deficient 'ribosome-stalling' [10]. Even low levels of processing intermediates could exert strong inhibitory effects on the mitochondrial translation system, especially with the longer translation products seen in the mutant cybrids [2]. While we

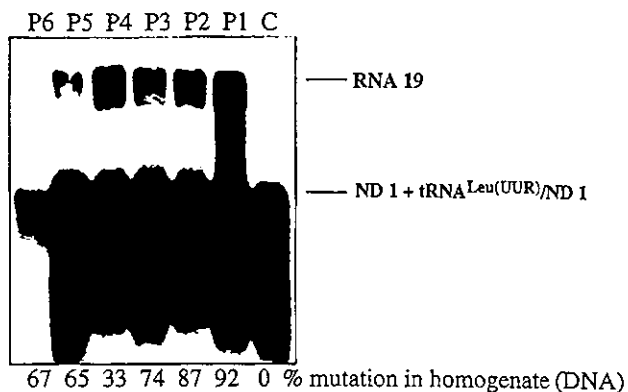


Fig. 2. Northern (RNA) hybridization analysis of patient tissues. Autoradiograms of hybridization blots of total RNA isolated from muscle biopsy specimens from six patients are shown. The two species hybridizing to the ND 1 probe are indicated at the right. One approximately 2600 nt in size, corresponds to RNA 19, while the other, at approximately 950 nt, corresponds to ND 1 and tRNA^{Leu(UUR)} plus ND 1. RNA 19 also was detected with the 16S rRNA probe (data not shown). Steady-state levels of each processing intermediate are shown in Table 1, and are expressed as a percentage of the total ND 1 or tRNA^{Leu(UUR)} signals.

know little concerning the biologic significance of the processing intermediates, we might speculate that intermediates such as RNA 19 could be involved in controlling respiratory chain enzyme activity, or could serve as a messenger by which mtDNA communicates with nuclear DNA in disease states.

Combined with our previous observations [6], the present findings indicate that percentages of mutations in the processing intermediates are always higher than percentages in mtDNA. This suggests that processing intermediates that contain mutations, including RNA 19, may be more difficult to process than wild-type segments. However, no qualitative differences in the processing of the 5'- or 3'-ends were noted between cybrids with mutant DNA and cybrids with wild-type DNA. In the present study, we analyzed two additional point mutations in the tRNA^{Leu(UUR)} gene, with results similar to those seen with A3243G. Our data indicate that dominant-negative effects in mitochondrial RNA processing can occur when a point mutation is present at the tRNA^{Leu(UUR)} gene boundary. However, we have no definitive evidence demonstrating more rapid accumulation of mutant RNA 19 in any specific tissue. RNA 19 elevations have not been observed in myoclonus epilepsy with ragged-red fibers or in the Kearns-Sayre syndrome cybrid system. On the other hand, accumulation of RNA 19 has been reported in patients with a novel point mutation in the mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} gene. We therefore suspect that accumulation of RNA 19 may be a specific consequence of mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} mutations.

Acknowledgements

This work was supported in part by grant #13670853

from the Ministry of Culture and Education, and by grant #H14-006 from the Ministry of Clinical Research for Evidenced Based Medicine in Japan.

References

- [1] King MP, Koga Y, Davidson M, Schon EA. Defects in mitochondrial protein synthesis and respiratory chain activity segregate with the tRNA^{Leu(UUR)} mutation associated with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes. *Mol Cell Biol* 1992;12(2):480–490.
- [2] Koga Y, Davidson M, Schon EA, King MP. Defects in mitochondrial functions associated with increased levels of RNA 19 seen in MELAS patients and in the cultured system having MELAS-3243 or -3271 mutations. *Muscle Nerve* 1995;S3:S119–S123.
- [3] Hao H, Moraes CT. Functional and molecular mitochondrial abnormalities associated with a C to T transition at position 3256 of the human mitochondrial genome. *J Biol Chem* 1996;271:2347–2352.
- [4] Bindoff LA, Howell N, Poulton J, et al. Abnormal RNA processing associated with a novel tRNA mutation in mitochondrial DNA. A potential disease mechanism. *J Biol Chem* 1993;268(26):19559–19564.
- [5] Kaufmann P, Koga Y, Shanske S, et al. Mitochondrial DNA and RNA processing in MELAS. *Ann Neurol* 1996;40(2):172–180.
- [6] Koga Y, Yoshino M, Kato H. MELAS exhibits dominant negative effects on mitochondrial RNA processing. *Ann Neurol* 1998;43(6):835.
- [7] Koga Y, Koga A, Iwanaga R, et al. Single-fiber analysis of mitochondrial A3243G mutation in four different phenotypes. *Acta Neuropathol (Berl)* 2000;99(2):186–190.
- [8] Iwanaga R, Koga Y, Aramaki S, Kato S, Kato H. Inter- and/or intra-organ distribution of mitochondrial C3303T or A3243G mutation in mitochondrial cytopathy. *Acta Neuropathol (Berl)* 2001;101(2):179–184.
- [9] Rossmannith W, Karwan RM. Impairment of tRNA processing by point mutations in mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} associated with mitochondrial diseases. *FEBS Lett* 1998;433:269–274.
- [10] Schon EA, Koga Y, Davidson M, King MP. The mitochondrial tRNA^{Leu(UUR)} mutation in MELAS: a model for pathogenesis. *Biochem Biophys Acta* 1992;1101:206–209.

複合体 I

Respiratory chain enzyme complex I

古賀靖敏 植木 勲

Key words: 電子伝達系酵素複合体 I, MELAS, ミトコンドリア DNA, 核 DNA, 代謝性アシドーシス

1. 概念・定義

複合体 I (NADH-ubiquinone oxidoreductase, EC: 1.6.5.3) は, ミトコンドリア呼吸鎖の電子伝達系複合体の最初の酵素であり, NADH から電子を受け取りコエンザイム Q に電子を渡す役割を担う。この反応過程で, マトリックスから膜間腔側へプロトンをくみ出す。

この酵素は, 少なくとも 43 個の異なるサブユニットからなる酵素複合体であり, 電子伝達系酵素の中で最も大きい。ミトコンドリア DNA にコードされた 7 個のサブユニットと, 核 DNA にコードされた少なくとも 36 個のサブユニット (flavin mononucleotide や 8 つの non-hem iron-sulfur cluster を含む幾つかの非蛋白成分も含む) からなる酵素複合体で構成され (ミトコンドリア DNA と核 DNA の両支配), 分子集合により活性を獲得する。

核 DNA 由来のサブユニットの多くは, N 末端に 20-80 個のアミノ酸からなるプレ配列 (ミトコンドリアターゲティングシグナル) をもつ前駆体蛋白として細胞質で合成される。このプレ配列を認識した細胞質シャペロン系 (Hsp70 シャペロン) により, 細胞内小器官であるミトコンドリア外膜のインポート受容体に輸送される。

ミトコンドリア外膜には, Tom (translocator of outer membrane) 複合体, 内膜には Tim (translocator of inner membrane) 複合体と呼ばれる蛋白質輸送装置が存在し, 前駆体蛋白は外膜から内膜へ転送される。マトリックスに達した前駆体蛋白は, MPP (mitochondrial processing peptidase) もしくは MIP (mitochondrial intermediate peptidase) の働きにより切断除去され, 成熟酵素蛋白となりミトコンドリア内膜で他のサブユニットとともに分子集合 (assembly) を形成する。

複合体 I の活性が低下する病態が複合体 I 欠損症である。多くのミトコンドリア病, その他の症候群で本酵素の活性低下が報告されている¹⁾。

2. 分類

遺伝子異常を中心にした複合体 I 欠損症の分類を, 表 1 に示す。

電子伝達系酵素異常に共通する事柄として, 複合体 I を構成する酵素蛋白のいずれかの遺伝的異常が病態の本質 (一次的異常) であっても, 病期が進行すると他の電子伝達系酵素複合体の二次的異常を伴うことが多く, 酵素生化学的には明確に分別できない場合も多く存在する。また, 本質的にはミトコンドリア病と考えられな

Yasutoshi Koga, Isao Ueki: Department of Pediatrics and Child Health, Kurume University School of Medicine
久留米大学医学部小児科

表1 複合体I欠損症の分類

1. 遺伝子異常による複合体I単独欠損症	b. ミトコンドリアにコードされた酵素蛋白遺伝子の異常
a. 核DNAにコードされた複合体Iサブユニットの遺伝子異常	1) MTATP6(mitochondrial ATP synthase 6) NARP(neurogenic muscle weakness, ataxia, retinitis pigmentosa), 母系遺伝を示す Leigh 脳症
1) NDUFA1(NADH-ubiquinone oxidoreductase 1 α subcomplex 1)	2) LHON(Leber hereditary optic neuropathy)
2) NDUFA8(NADH-ubiquinone oxidoreductase 1 α subcomplex 8)	3) MTCO1(mitochondrial complex IV subunit 1)
3) NDUF6(NADH-ubiquinone oxidoreductase β subcomplex 6)	c. ミトコンドリアDNAの大欠失, duplication, deletionによる異常
4) NDUF51(NADH-ubiquinone oxidoreductase Fe-S protein 1)	1) Kearns-Sayre 症候群(KSS)
5) NDUF52(NADH-ubiquinone oxidoreductase Fe-S protein 2)	2) chronic progressive external ophthalmoplegia (CPEO)
6) NDUF53(NADH-ubiquinone oxidoreductase Fe-S protein 3)	3) mitochondrial DNA depletion
7) NDUF54(NADH-ubiquinone oxidoreductase Fe-S protein 4)	d. 核でコードされた酵素蛋白遺伝子の異常
8) NDUF55(NADH-ubiquinone oxidoreductase Fe-S protein 5)	1) UQCRC1(ubiquinol-cytochrome c reductase core protein 1)
9) NDUF57(NADH-ubiquinone oxidoreductase Fe-S protein 7)	2) SDHA(succinate dehydrogenase complex, subunit A, flavoprotein)
10) NDUF58(NADH-ubiquinone oxidoreductase Fe-S protein 8)	3) COX4(cytochrome c oxidase subunit 4)
11) NDUFV1(NADH-ubiquinone oxidoreductase flavoprotein 1)	4) COX10(cytochrome c oxidase assembly protein COX10)
12) NDUFV2(NADH-ubiquinone oxidoreductase flavoprotein 2)	5) COX17(cytochrome c oxidase assembly protein COX17)
b. ミトコンドリアDNAにコードされた複合体Iサブユニットの遺伝子異常	6) ビルビン酸脱水素酵素複合体E1 α 欠損症(PDHA1)
1) MTND1(mitochondrial complex I subunit 1)	7) メーブルシロップ尿症
2) MTND4(mitochondrial complex I subunit 4)	3. 他の症候群に伴う複合体I欠損症
3) MTND6(mitochondrial complex I subunit 6)	a. Parkinson病
2. 他の電子伝達系酵素複合体欠損を伴う複合体I欠損症	b. Alzheimer病
a. ミトコンドリアtRNA遺伝子の異常	c. Leigh脳症
1) MTTL1(mitochondrial tRNA ^{Leu} (UUR) gene mutation)	d. MENKES症候群
MELAS(mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes)を含む	e. Alpers progressive sclerosing poliodystrophy
2) MTTK(mitochondrial tRNA ^{Lys} gene mutation)	f. Barth症候群
MERRF(myoclonus epilepsy with ragged-red fibers)を含む	g. Friedreich ataxia
3) MTTG(mitochondrial tRNA ^{Gly} gene mutation)	h. 遺伝性痙性対麻痺
	i. MNGIE(mitochondrial myopathy, peripheral neuropathy, gastrointestinal and encephalopathy disease)
	j. Mohr-Tranebjaerg 症候群(DFN1)
	k. Pearson 症候群
	l. syndromic forms of sensorineural hearing loss
	m. Wolfram 症候群

い種々の病気, 病態で, 複合体I酵素欠損が報告されている²⁾.

多くの複合体I酵素欠損が報告される理由として, ①構成するサブユニット数が最も多い,

②核DNAとミトコンドリアDNAの二重支配であり, その酵素活性発現に蛋白の転送および分子集合などの複雑な機構が関与する, ③鉄硫黄画分が検体の保存状態によっては不安定で

表2 複合体I欠損症の症候

臓器/システム	症候/徴候
1. 中枢神経系	体幹の低緊張, 首座りの遅れ, 精神発達遅滞, 知的退行, 脳神経障害, 痙性四肢麻痺, 末梢神経障害, 小脳失調, 亜急性脳幹壊死, 白質ジストロフィー, ポリオジストロフィー, ミオクローヌス, てんかん, めまいを伴う片頭痛発作, 脳卒中発作, 呼吸不整(無呼吸発作)
2. 胎内発育	成長障害, 子宮内発育不全
3. 骨格筋	筋力低下, 筋痛, 筋強剛, 易疲労性, 反復性ミオグロビン尿症
4. 肝臓	肝腫大, 肝障害, 肝不全
5. 心臓	心筋症(肥大型, 拡張型), 心刺激伝導ブロック
6. 腎臓	近位尿細管性アシドーシス, 間質性腎炎, ネフローゼ症候群, 腎不全, 溶血性尿毒症症候群
7. 消化器	慢性下痢, 絨毛萎縮, 反復性嘔吐, 食思不振症, 慢性的な偽腸閉塞症, 膵外分泌不全, 十二指腸閉鎖, 慢性消化吸収障害
8. 造血組織	貧血, 好中球減少症, 血小板減少症, 骨髄異形成, 赤芽球低形成
9. 内分泌系	低身長, 骨年齢の遅延, GH不応性IgF1欠損症, 反復性低血糖症, 糖尿病(IDDM, NIDDM), 甲状腺機能低下症, 副甲状腺機能低下症, ACTH欠損症
10. 聴覚	感音性難聴, 聴力低下, 聴覚毒性
11. 視覚	眼瞼下垂, 複視, 進行性外眼筋麻痺, 眼球運動の制限, 白内障, 視神経萎縮, 網膜色素変性症
12. 外表奇形	小頭症, 丸顔, 前頭部突出, 鼻根部扁平, 耳介低位, 頸部短縮, 小さな手, 爪の低形成
13. 皮膚	皮膚の脂肪組織増加, 日光照射部の色素沈着, 縮れ毛
14. 検査異常	ケトアシドーシス性昏睡, 代謝性アシドーシス, 低血糖, 高乳酸血症, 高アラニン血症, 低シトルリン血症

容易に失活しやすい, ④電子伝達系酵素欠損症に共通する問題として, 酵素診断では一次的な異常と二次的な異常が混在する可能性があること(検体の長期保存, 病期が進行した状態での検索)などが関係していると思われる。

したがって, 個々の症例における複合体I欠損症の病因を評価する場合, 上記に述べた注意点を考慮する必要がある。

3. 病因論的事項

複合体Iがミトコンドリアと核の両支配であることより, 本症の遺伝形式としてメンデル遺伝(常染色体性劣性, X連鎖性劣性)および母系遺伝のすべてを考慮しなければならない。

複合体I欠損症が核DNA遺伝子の異常で発症する場合, 生後早期に呼吸不全, 重症の代謝性アシドーシス, 精神運動発達遅滞, フロッピーインファントで見つかり, 比較的早期に死亡する乳児重症型が多い³⁾。複合体I+III, II+IIIでの活性低下が同時にみられた場合, コエンザイムQの異常を考える⁴⁾。複合体I, II, IIIおよびアコニターゼの合併欠損であれば, iron-sul-

fur proteinの異常を疑う⁵⁾。複合体I, II, III, IVの合併欠損であれば, 核成分のミトコンドリアへの移送障害もしくは, ミトコンドリアDNAのdepletionを疑う²⁾。複合体IとIVの合併欠損がみられた場合, ミトコンドリアDNAの点変異, 欠失などを疑う²⁾。

特に, ミトコンドリアDNAの点変異(MELAS)では, 本酵素の低下が多く報告されている⁶⁾。これらの生化学的検査結果は, 病期との関係から二次的変化をも含むオーバーオールの結果であり, その判断には臨床症状および経過の把握が不可欠である。

4. 病態(症候論と検査成績)

電子伝達系酵素が細胞の生命活動の維持に必須であることから, その異常はあらゆる臨床症状の組み合わせを来し得る。本症でみられる症候を表2に示す⁷⁾。

電子伝達系酵素欠損症の特徴は, 症状が進行することである。同じ患者に2年以上の間隔で2回以上筋生検を行った場合, 筋病理学的にも, 酵素生化学的にも症状の重症度が進行すること

が証明された⁹⁾。症状が進行しエネルギー不全状態が進み、蛋白合成が全般的に阻害された時期に生化学的検索を行っても、一次的異常が何かを特定することは難しい⁹⁾。また、全身的にみられる症候も、時間的に小変動を繰り返しながら次第に悪化し、他の症候が加わっていくことが多く経験される。

5. 診断と鑑別診断

診断には、信頼できる検体を用いることが基本である。電子伝達系酵素の一員である複合体Iの活性は、ロテノン感受性を有する活性部分である。検索材料に関して、電子伝達系酵素活性に依存度が低い末梢血白血球を用いては、信頼できる結果が得られにくい。全NADH酸化反応におけるロテノン依存性活性は、末梢血単核球分画の細胞ホモジネートを使用した場合、3%以下にまで低下する(mg蛋白当たりの活性値)。

現在最も信頼できる複合体I活性の測定は、新鮮な生検骨格筋検体からミトコンドリア分画を分離精製し、NADHなどを基質としたロテノ

ン依存性酸素消費能の測定(oxograph), NADH dehydrogenase, NADHからcytochrome Cまで鉄硫黄蛋白画分を含めた酵素活性測定を同時に行うことである。この場合、細胞質の夾雑蛋白の混入の指標として、citrate synthaseなどに対する比活性で補正する方法もとられている。その評価には、様々な因子が関与するため、経験ある施設で行うことが望ましい。

6. 治療と予後

今までにコエンザイムQ₁₀, イデベノン, メナジオン, リボフラビン, コハク酸, コルチコステロイド, カルニチン, クレアチン, ビタミンKおよびC, ジクロロ酢酸, カルジオクロームなどが投与されてきた。最近、著者らは、急性期のミトコンドリア脳卒中(MELAS)にL-アルギニンを投与し、卒中様症状の消失, SPECTによる脳血流の改善を報告した¹⁰⁾。MELASにおける発作急性期の治療として期待される。現在、本症の基本病態改善に対する特異的な治療薬はなく、以上に述べた対症療法が重要である。

■文 献

- 1) Kirby DM, et al: Respiratory chain complex I deficiency: an underdiagnosed energy generation disorder. *Neurology* 52(6): 1255-1264, 1999.
- 2) Shoffner JM: Oxidative phosphorylation diseases. In: *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Diseases* (ed by Scriver CR, et al), 8th ed, p2367-2432, McGraw-Hill, New York, 2001.
- 3) Smeitink JA, et al: Nuclear genes of human complex I of the mitochondrial electron transport chain: state of the art. *Hum Mol Genet* 7(10): 1573-1579, 1998.
- 4) Sobreira C, et al: Mitochondrial encephalomyopathy with coenzyme Q10 deficiency. *Neurology* 48(5): 1238-1243, 1997.
- 5) Rotig A, et al: Aconitase and mitochondrial iron-sulphur protein deficiency in Friedreich ataxia. *Nat Genet* 17: 215-217, 1997.
- 6) Koga Y, et al: Findings in muscle in complex I deficiency. *Ann Neurol* 24: 749-756, 1988.
- 7) Munnich A, et al: Clinical presentation of respiratory chain deficiency. In: *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Diseases* (ed by Scriver CR, et al), 8th ed, p2261-2275, McGraw-Hill, New York, 2001.
- 8) Koga Y, et al: Variability in the activity of respiratory chain enzymes in mitochondrial myopathies. *Acta Neuropathol(Berl)* 76(2): 135-141, 1988.
- 9) Koga Y, et al: Progressive cytochrome c oxidase deficiency in a case of Leigh's encephalomyelopathy. *J Neurol Sci* 95(1): 63-76, 1990.
- 10) Koga Y, et al: Effects of L-arginine on the acute phase of strokes in three patients with MELAS. *Neurology* 58: 827-828, 2002.

複合体 II

Complex II

古賀靖敏 植木 勲

Key words: 複合体 II, コハク酸脱水素酵素, コエンザイム Q, 鉄-硫黄蛋白, SDH 染色

1. 概念・定義

複合体 II (succinate-ubiquinone oxidoreductase, EC: 1.3.5.1) は、ミトコンドリア呼吸鎖の酵素であり、電子伝達系酵素複合体の中で、唯一、核 DNA のみでコードされた 5 個のサブユニットからなる酵素複合体で構成される。その主な構成成分であるコハク酸脱水素酵素 (succinate dehydrogenase: SDH, EC: 1.3.99.1) は、4 つのサブユニットからなり、catalytic core である flavoprotein (Fp: SDHA), iron-sulfur protein subunit (Ip: SDHB) とそれらをミトコンドリア内膜につなぎ止める役割を果たす 2 つの integral membrane protein subunits (SDHC, SDHD) で構成される (図 1)¹⁾。

この SDH は TCA サイクルの key step enzyme でもあり、succinate を水酸化し fumarate を生成し、同時に電子を受け取りコエンザイム Q に渡す役割を担う。サブユニットは、N 末端にプレ配列 (ミトコンドリアターゲティングシグナル) をもつ前駆体蛋白として細胞質で合成される。その後、細胞質シャペロン系 (Hsp70 シャペロン) により、細胞内小器官であるミトコンドリア外膜のインポート受容体に輸送される。この複合体 II の活性低下を来す病態を複合体 II 欠損症と呼ぶ。多くのミトコンドリア病、その

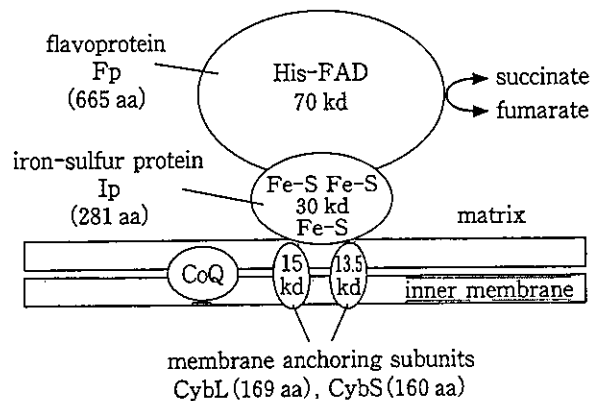


図 1 複合体 II の構造

他の症候群で本酵素の活性低下が報告されている。

2. 分類

今までに報告された複合体 II 欠損症を、表 1 に示す。複合体 II の構成遺伝子が単離されるまでは、酵素生化学的分類により 3 群に大別された²⁾。複合体 II が単独に欠損する場合、他の電子伝達系複合体欠損を合併する場合、その他の疾患に合併する場合が報告されている。複合体 II 単独欠損の症例は、更に SDH 欠損とそれ以後の電子の授受に異常がある場合とに分けられる。SDH 欠損例は、骨格筋生検で筋組織化学的に証明される場合があり、びまん性に染色性の低

表1 複合体II欠損症の分類

-
1. 遺伝子異常による分類
 - a. flavoprotein (Fp: SDHA): 遺伝性 Leigh 脳症
 - b. iron-sulfur protein (IP: SDHB): 遺伝性傍神経節腫, 遺伝性褐色細胞腫
 - c. integral membrane protein (SDHC): 遺伝性傍神経節腫
 - d. integral membrane protein (SDHD): 遺伝性傍神経節腫
 2. 生化学的分類
 - a. 複合体II単独欠損症
 - 1) SDH欠損のあるもの
 - 2) SDH欠損のないもの
 - 3) SDH欠損が不明のもの
 - 4) 酸素消費のみで異常が証明されたもの
 - b. 他の酵素複合体欠損を伴う複合体II欠損症
 - 1) 複合体I欠損を伴うもの
 - 2) 複合体I, III欠損を伴うもの
 - 3) 複合体I, III, IV欠損を伴うもの
 3. 臨床的分類
 - a. 乳児重症型(致死型)脳筋症
 - b. 幼児-若年発症型脳筋症 (Leigh 脳症)
 - c. 筋症(ミオグロビン尿, 易疲労性)
 - d. 遺伝性傍神経節腫
 - e. 他の疾患に続発するもの
 - 1) fumarase 欠損
 - 2) Zellweger 症候群
 - 3) Friedreich 失調症
 - 4) 家族性ジストニア
 - 5) Huntington 病
 - 6) Leber's hereditary optic neuropathy (LHON)
-

下がみられる場合と欠損線維がモザイクに染色される場合²⁾があり, その遺伝子異常との相関 (genotype-phenotype correlation) は不明である。

構成遺伝子が単離されて以来, 種々の病態で遺伝子異常が同定され報告された。1995年, Bourgeronらは, Leigh脳症を示す姉弟で, 初めて flavoprotein (Fp: SDHA) 遺伝子の Arg554 Trp の変異を報告した³⁾。患者の両親はいとこ婚であり, 患者ではホモプラスミーを呈していた。その後 Astutiらも, 遺伝性の褐色細胞腫と傍神経節腫を来している患者で iron-sulfur protein subunit (IP: SDHB) の変異を初めて報告した⁴⁾。Niemannらは, 常染色体優性遺伝を示す傍神経節腫3型の患者で, integral membrane protein subunits (SDHC) の変異を初めて報告し

た⁵⁾。Baysalらは, 同じく遺伝性傍神経節腫を来す患者で, integral membrane protein subunits (SDHD) の遺伝子変異を初めて報告した⁶⁾。

しかしながら, 複合体IIの欠損と遺伝性傍神経節腫の因果関係はいまだ解明されていない。

3: 病因論的事項

複合体IIが核の支配であることより, 本症の遺伝形式としてメンデル遺伝(常染色体性劣性遺伝)を考えねばならない。しかし, 病期が進行すると, 他の電子伝達系酵素欠損同様に複合的な酵素活性低下が起こってくる。

4. 病態(症候論と検査成績)

臨床病型として, 乳児期早期に発症し1歳前に致死性の経過をとる乳児重症型(致死型)脳筋

症、幼児期から学童期に発症し、緩徐進行性の脳筋症の型をとる病型(Leigh脳症)、ミオグロビン尿や易疲労性を特徴とする筋型、遺伝性傍神経節腫を来す病型、および他の疾患に続発するものが考えられる。

Riggsらは、1984年、知的退行、ミオクロームスアテカン、低身長を伴う進行性脳筋症を示す姉弟例で、複合体IIの生化学的酵素欠損症を初めて報告した⁷⁾。筋生検では、ミトコンドリアの増生と脂肪滴の沈着を認めた。筋組織でのSDH、および電子伝達系複合体I、複合体IV酵素活性がすべて正常であったことから、SDHとコエンザイムQの間に異常があると推測された。

Behbehaniらは、同年、重度の筋力低下と脱水時の反復性嘔吐、代謝性アシドーシスを来し5カ月で死亡した患児で、筋内の複合体II活性欠損症を報告した⁸⁾。電顕的に異常ミトコンドリアの筋鞘膜下の集積を示すragged-red fibersを多数認め、脂肪滴も蓄積していた。

1988年、Martinらは、精神発達遅滞の3歳になる男児で、コエンザイムQの欠損を報告した⁹⁾。患児は、近位筋優位の筋力低下と不全麻痺を伴う動揺性歩行および大脳基底核の両側性壊死を示していた。血中および髄液中の乳酸は持続的に高値であった。筋生検では脂肪滴の軽度増加以外は正常所見であった。

1992年、Robinsonらは、子宮内発育遅延があり生後6日で呼吸不全により死亡した女児および生後3カ月で死亡した兄の兄妹で、培養皮膚線維芽細胞、および分離筋ミトコンドリアのピルビン酸脱水素酵素、複合体II、IVの活性低下を報告した¹⁰⁾。各複合体のポリペプチドは、培養皮膚線維芽細胞や筋肉では分子集合できないが、肝では分子集合可能であることを見いだした。これは、酵素複合体の複数の欠損がサブユニットレベルで証明された初めての報告である。

1993年、Rotigらは、糖尿病、視神経萎縮、難聴を伴うWolfram症候群で7.6kbのミトコンドリアDNAの欠失により、複合体IIを含む電子伝達系酵素複合体の欠損を報告した¹¹⁾。

1994年、SmithらはLeber's hereditary optic neuropathy(LHON)で、11778変異、3460変異をもつ患者間で重症度と喫煙状態との関係を比較検討し、電子伝達系酵素複合体IIの欠損を報告した¹²⁾。

1994年、Arpaらは、血族結婚のある両親から生まれた22歳の女性で、全身の筋力低下と易疲労性、高CK血症がある複合体II欠損症を報告した¹³⁾。筋生検では、筋線維径の大小不同、タイプI線維優位、筋鞘膜下のDNPH陽性顆粒および中性脂肪滴の増加がみられ、電顕では結晶様封入体を有する異常ミトコンドリアがみられた。

その後、ミトコンドリアtRNAの点変異、家族性ジストニア、Zellweger症候群、Huntington病、Friedreich失調症¹⁴⁾などでも本酵素欠損が報告されている。

5. 診断と鑑別診断

最も信頼できる複合体II活性の測定は、新鮮な生検骨格筋検体からミトコンドリア分画を分離精製し、コハク酸などを基質とした酸素消費能の測定(oxograph)、SDH、コハク酸からcytochrome Cまで鉄硫黄蛋白画分を含めた酵素活性測定を同時に行うことである。この場合、細胞質の夾雑蛋白の混入の指標として、citrate synthaseなどに対する比活性で補正する方法もとられている。その評価には、様々な因子が関与するため、経験ある施設で行うことが望ましい。また、筋組織化学的にSDH染色を行い染色性を検討する必要がある。

6. 治療と予後

今までにコエンザイムQ10、イデベノン、メナジオン、リボフラビン、コルチコステロイド、カルニチン、クレアチン、ビタミンKおよびC、ジクロロ酢酸、カルジオクロームなどが投与されてきた。本症に対する特異的な治療薬はなく、以上に述べた対症療法が重要である。

[補 記]

最近、複合体II酵素に臓器特異性を示すsub-

unitが存在することが報告された(東京大学大学院生物医化学北潔博士による私信)。今後の研究の展開が注目される。

■ 文 献

- 1) 後藤雄一：電子伝達系複合体II欠損症。別冊日本臨牀 先天代謝異常症候群(下), p491-493, 日本臨牀社, 1995.
- 2) Rivner MH, et al: Kearns-Sayre syndrome and complex II deficiency. *Neurology* 39(5): 693-696, 1989.
- 3) Bourgeron T, et al: Mutation of a nuclear succinate dehydrogenase gene results in mitochondrial respiratory chain deficiency. *Nat Genet* 11(2): 144-149, 1995.
- 4) Astuti D, et al: Gene mutations in the succinate dehydrogenase subunit SDHB cause susceptibility to familial pheochromocytoma and to familial paraganglioma. *Am J Hum Genet* 69(1): 49-54, 2001.
- 5) Niemann S, Muller U: Mutations in SDHC cause autosomal dominant paraganglioma, type 3. *Nat Genet* 26(3): 268-270, 2000.
- 6) Baysal BE, et al: Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science* 287(5454): 848-851, 2000.
- 7) Riggs JE, et al: Mitochondrial encephalomyopathy with decreased succinate cytochrome c reductase activity. *Neurology* 34: 48-53, 1984.
- 8) Behbehani AW, et al: Mitochondrial myopathy with lactic acidosis and deficient activity of muscle succinate cytochrome-c-oxidoreductase. *Eur J Pediatr* 143(1): 67-71, 1984.
- 9) Martin JJ, et al: Defect in succinate oxidation by isolated muscle mitochondria in a patient with symmetrical lesions in the basal ganglia. *J Neurol Sci* 84: 189-200, 1988.
- 10) Robinson BH, et al: Fatal combined defects in mitochondrial multienzyme complexes in two siblings. *Eur J Pediatr* 151(5): 347-352, 1992.
- 11) Rotig A, et al: Deletion of mitochondrial DNA in a case of early-onset diabetes mellitus, optic atrophy, and deafness (Wolfram syndrome, MIM 222300). *J Clin Invest* 91(3): 1095-1098, 1993.
- 12) Smith PR, et al: Platelet mitochondrial function in Leber's hereditary optic neuropathy. *J Neurol Sci* 122(1): 80-83, 1994.
- 13) Arpa J, et al: Benign mitochondrial myopathy with decreased succinate cytochrome C reductase activity. *Acta Neurol Scand* 90: 281-284, 1994.
- 14) Schapira AH: Mitochondrial involvement in Parkinson's disease, Huntington's disease, hereditary spastic paraplegia and Friedreich's ataxia. *Biochim Biophys Acta* 1410(2): 99-102, 1999.

複合体 III

Complex III

古賀靖敏 柊山 了

Key words: 複合体 III, チトクローム b, コエンザイム Q, ミオグロビン尿症, ragged-red fiber

1. 概念・定義

複合体 III (ubiquinol-cytochrome c oxidoreductase, EC: 1.10.2.2) は, ミトコンドリア呼吸鎖の電子伝達系複合体の 2 番目の酵素である。複合体 I もしくは II から ubiquinol によって伝えられた電子をチトクローム c に渡し, プロトンをミトコンドリア内膜側から外膜へ転換する役割を担う。この電子の授受により, 複合体 III は ubiquinol を酸化し, チトクローム c を還元する。

複合体 III は, 少なくとも 11 個のサブユニットからなる酵素複合体である。そのうち 1 個は, ミトコンドリア DNA にコードされたチトクローム b (subunit III) で, 残りすべて核 DNA にコードされる。核のサブユニットは, core protein I, core protein II, チトクローム c1 (subunit IV), Rieske iron-sulfur protein (subunit V) および少なくとも 6 つのポリペプチドからなり, 分子集合により活性を獲得する。核 DNA 由来のサブユニットの多くは, 他の酵素複合体と同様 N 末端にプレ配列 (ミトコンドリアターゲティングシグナル) をもつ前駆体蛋白として細胞質で合成される。その後, 細胞質シャペロン系 (Hsp70 シャペロン) により, 細胞内小器官であるミトコンドリア外膜のインポート受容体に輸

送される。

この複合体 III の活性が低下するものを複合体 III 欠損症という。多くのミトコンドリア病, その他の症候群で本酵素の活性低下が報告されている。

2. 分類

現在考えられる複合体 III 欠損症の分類を, 表 1 に示す。本症の臨床型としては, Leber hereditary optic neuropathy (LHON), 運動不耐性ミオパチー, ミオグロビン尿と高乳酸血症を示すもの, 乳児致死性多臓器不全症, 心筋症, Parkinson 病, Huntington 病, Fanconi 症候群など多様性に富む病像を示す。

遺伝子異常が判明したものでは, ミトコンドリアにコードされたチトクローム b 遺伝子の異常として, LHON 症¹⁾, 運動不耐性ミオパチー²⁾, ミトコンドリア脳筋症³⁾, 大腸直腸癌⁴⁾ で多くの報告がある。一方, 核の遺伝子異常による複合体 III 欠損症は, 2001 年, de Lonlay らにより初めて報告された。新生児期に近位尿細管障害, 肝障害, 脳症で発症した児で, 複合体 III の分子集合に必須の核 DNA にコードされた BCS1L 遺伝子の変異を初めて見いだした⁵⁾。この変異は, 複合体 III 欠損症患者の 1/3 にみられる変異のホットスポットであることが判明した。複

Yasutoshi Koga, Ryo Fukiyama: Department of Pediatrics and Child Health, Kurume University School of Medicine 久留米大学医学部小児科

表1 複合体III欠損症の分類

1. 遺伝子異常による分類
a. 複合体IIIサブユニットの核遺伝子異常
1) core protein I
2) core protein II
3) cytochrome c1(subunit IV)
4) Rieske iron-sulfur protein(subunit V)
5) BCS1L
b. 複合体IIIサブユニットのミトコンドリア遺伝子異常
1) cytochrome b(subunit III)
c. その他のミトコンドリア遺伝子異常
1) A5874G mutation at mitochondrial tRNA (Tyr) gene
d. 他の核遺伝子異常に伴う複合体III欠損症
1) 複合体IのNDUFS4変異
2. 成因不明の生化学的異常による複合体III欠損症
a. coenzyme Q deficiency
3. 臨床的分類
a. 乳児致死型多臓器疾患
b. 運動不耐性ミオパチー
c. 類組織球性心筋症(ミトコンドリア心筋症)
d. Leber hereditary optic neuropathy(LHON)
e. Parkinson病
f. Huntington病
g. De Toni-Debre-Fanconi症候群
h. colorectal cancer
i. 顔面肩甲上腕型ジストロフィー
j. 小脳失調, ミオクローヌス, 性腺発育不全
k. West症候群

合体IIIの核遺伝子の解明により、核遺伝子の変異も今後多く見いだされると考えられる。

3. 病因論的事項

複合体IIIが核とミトコンドリアDNAの両支配であることより、本症の遺伝形式としてメンデル遺伝(常染色体性劣性遺伝)、母性遺伝の両者を考えねばならない。しかし、病期が進行すると、他の電子伝達系酵素欠損同様に複合的な酵素活性低下が起こってくるため、生化学的手法のみでは一次的異常がわかりにくい。また、ミトコンドリア遺伝子のtRNA遺伝子異常もしくは大欠失症例で、複合体IIIの異常の報告が散見されるが、特定の複合体異常に起因するものではないため、この稿では割愛する。

4. 病態(症候論と検査成績)

複合体III欠損症にみられる症候としては、乳児致死性多臓器障害、運動不耐性ミオパチー、ミトコンドリア心筋症、その他種々の症候群に随伴する酵素欠損症の4病型に大別できる⁹⁾。

a. 乳児致死性多臓器障害

高乳酸血症、低血糖、尿細管障害、けいれんで3生日で死亡した男児で、骨格筋および肝の複合体III酵素活性特異的に低下していた⁷⁾。骨格筋および心筋のチトクロームb含量は正常の75%まで低下しており、ウエスタンブロットでの筋、肝、心筋のnon-heme iron-sulfur proteinのみ著明に低下していた。新生児期早期に著明なアシドーシス、腎尿細管障害、けいれんを来す病像は、核の遺伝子異常が判明したBCS1L遺伝子変異症⁹⁾の病像と類似するものである。

b. 運動不耐性ミオパチー

多くの軽症型はこの臨床病型をとる⁸⁾。運動負荷により、高乳酸血症を来す。筋病理では、多くの例にragged-red fiberと脂肪滴の沈着がみられる。酵素生化学的に、複合体IIIの活性の低下は認められるものの、酵素蛋白レベルの解析結果は特異的なポリペプチドの低下とはならず、遺伝的に均一とは考えられない。

Andreuらは、進行性の運動不耐症と近位筋の筋力低下を示す患者でチトクロームb遺伝子の種々の変異を報告した。Keightleyらは、労作時の易疲労性と高乳酸血症を示す患者で複合体III欠損症として1983年に報告されていたものを再検索し、チトクロームb遺伝子のG15242Aのズトップコドン変異を同定した。患者では、この変異が筋肉で87%、末梢白血球で0.7%であったが、正常コントロールでは見つからなかった。免疫組織化学的検索では、Rieske iron-sulfur proteinの染色性と変異の含量は逆相関し、33%以上の変異筋線維ではすべて免疫性が消失した。一方、ragged-red fiberでの変異含量は平均89%であり、両者に正の相関がみられた。

現在までに報告されたチトクロームb変異は、

ミスセンス変異, ナンセンス変異, 小欠失があるが²⁾, 臨床的重症度と遺伝型の相関解明 (genotype-phenotype correlation) は今後の課題である。

c. ミトコンドリア心筋症

Papadimitriou らは, 生後4週で心不全で死亡した女児で, 巨大ミトコンドリアの集積を伴う心筋肥大を認め, 分離骨格筋ミトコンドリアの検索でチトクローム b の低下を伴う複合体 III 欠損症を報告した⁹⁾。Marin-Garcia は, 虚血性心筋症を呈した患者でチトクローム b の C15452A 変異を見いだした。複合体 III の酵素活性はコントロールの 50% 以下に低下し, 病因と考えられた¹⁰⁾。

d. 他の症候群に随伴する複合体 III 酵素欠損

Musumeci らは, 2001 年, 反復性ミオグロビン尿, けいれん, 小脳失調, 精神遅滞を来し, 筋生検で ragged-red fiber と脂肪滴の沈着がみられた患児で, 筋コエンザイム Q の欠損を報告した¹¹⁾。すべての患者は, コエンザイム Q の補充療法に反応し, 筋力の増強, 小脳失調の改善, けいれんの軽症化がみられたという。

Rana らは, Parkinson 病の患者でチトクローム b 遺伝子の 4 塩基欠失が複合体 III の分子集合を阻害することを報告した¹²⁾。この変異を高頻度に有する患者由来の細胞では, core protein I は保たれていたが Rieske iron-sulfur protein は

著明に減少し, 過酸化水素の産生が亢進していた。このことから, Parkinson 病でみられる酸化リン酸化の様々な程度の違いがミトコンドリア DNA の変異と関連づけられた。

5. 診断と鑑別診断

最も信頼できる複合体 III 活性の測定は, 新鮮な生検骨格筋検体からミトコンドリア分画を分離精製し, α ケトグルタル酸, コハク酸などを基質とした酸素消費能の測定 (oxograph), α ケトグルタル酸, コハク酸からチトクローム c まで鉄硫黄蛋白画分を含めた酵素活性測定を同時に行い, かつ分光学的にチトクローム含量を測定することである。この場合, 細胞質の夾雑蛋白の混入の指標として, citrate synthase などに対する比活性で補正する方法もとられている。その評価には, 様々な因子が関与するため, 経験ある施設で行うことが望ましい。

6. 治療と予後

今までにコエンザイム Q₁₀, イデベノン, メナジオン, リボフラビン, コルチコステロイド, カルニチン, クレアチン, ビタミン K および C, ジクロロ酢酸, カルジオクロームなどが投与されてきた。本症に対する特異的な治療薬としてユビキノン誘導体は使用すべきであり, 以上に述べた対症療法が重要である。

■ 文 献

- 1) Brown MD, et al: Mitochondrial DNA complex I and III mutations associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Genetics* 130(1): 163-173, 1992.
- 2) Andreu AL, et al: Exercise intolerance due to mutations in the cytochrome b gene of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 341(14): 1037-1044, 1999.
- 3) Keightley JA, et al: Mitochondrial encephalomyopathy and complex III deficiency associated with a stop-codon mutation in the cytochrome b gene. *Am J Hum Genet* 67(6): 1400-1410, 2000.
- 4) Polyak K, et al: Somatic mutations of the mitochondrial genome in human colorectal tumors. *Nat Genet* 20(3): 291-293, 1998.
- 5) de Lonlay P, et al: A mutant mitochondrial respiratory chain assembly protein causes complex III deficiency in patients with tubulopathy, encephalopathy and liver failure. *Nat Genet* 29(1): 57-60, 2001.
- 6) Mourmans J, et al: Clinical heterogeneity in respiratory chain complex III deficiency in childhood. *J Neurol Sci* 149(1): 111-117, 1997.
- 7) Birch-Machin MA, et al: Fatal lactic acidosis in infancy with a defect of complex III of the respiratory chain. *Pediatr Res* 25(5): 553-559, 1989.
- 8) Morgan-Hughes JA, et al: A mitochondrial myopathy characterized by a deficiency in reducible cy-

- tochrome b. *Brain* 100(4): 617-640, 1977.
- 9) Papadimitriou A, et al: Histiocytoid cardiomyopathy of infancy: deficiency of reducible cytochrome b in heart mitochondria. *Pediatr Res* 18(10): 1023-1028, 1984.
 - 10) Marin-Garcia J, et al: A point mutation in the cytb gene of cardiac mtDNA associated with complex III deficiency in ischemic cardiomyopathy. *Biochem Mol Biol Int* 40(3): 487-495, 1996.
 - 11) Musumeci O, et al: Familial cerebellar ataxia with muscle coenzyme Q10 deficiency. *Neurology* 56(7): 849-855, 2001.
 - 12) Rana M, et al: An out-of-frame cytochrome b gene deletion from a patient with parkinsonism is associated with impaired complex III assembly and an increase in free radical production. *Ann Neurol* 48(5): 774-781, 2000.

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

古賀 靖敏* 古賀 敦子*

要 旨

MELAS における脳卒中様発作の成因は、血管説および細胞機能不全説などいまだ不明な点が多い。われわれは、脳卒中様発作の成因に血管説が大きく関与しているという仮説のもと、L-アルギニンを投与し、脳卒中に起因する種々の症状が劇的に改善することを発見報告した。その後の研究で、検索した MELAS 患者では、例外なく血管内皮機能が有意に低下しており、本来もっているはずの動脈の拡張機能が障害されていることが判明した。また、MELAS 患者急性発作時には、血漿中の L-アルギニンや生体内での動脈拡張機能に中心的役割を果たす NO の代謝産物 (NOx) が有意に低下しており、かつ ADMA (asymmetrical dimethylarginine) が相対的に増加していることがわかった。L-アルギニン療法は、MELAS 患者急性発作時の脳卒中後遺症を軽減できる有効な治療法であり、現在 Orphan drug として申請予定である。

I. ミトコンドリア病 (MELAS)

1. 概 念

ミトコンドリア病は、ミトコンドリアのエネルギー産生系酵素の遺伝的異常により引き起こされる難治性進行性疾患である。ミトコンドリア病の種々の病型のなかで、小児期に発作性の頭痛、嘔吐、半身けいれんで発症する病型がミトコンドリア脳卒中 (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes : MELAS) である。本症は、1984 年、コロンビア大学の神経内科医 Pavlaskis により初めて臨床的に提唱された病型である。

2. 病 因

本症の 80% の患者でミトコンドリア DNA の tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子の A 3243 G 変異が報告された^{1)~3)}。その後の報告で、10% の患者で同じ遺伝子の T 3271 C 遺伝子の変異が報告され⁴⁾、その他に同じ遺伝子の A 3252 G, C 3256 T, T 3291 C⁵⁾ などの変異が見出された。いずれの点変異もロイシン転移 RNA 遺伝子に存在することから、生物学的な特別の意味が考えられるが現在のところ不明である。細胞モデルでの解析では、この点変異が 95% 以上に蓄積した場合、細胞の酸素消費を劇的に低下させ、ミトコンドリア内で合成される蛋白の合成障害をきたすことが判明している。また、この点変異が存

* Yasutoshi KOGA, Atsuko KOGA 久留米大学医学部小児科

[連絡先] ☎ 830-0011 福岡県久留米市旭町 67 久留米大学医学部小児科

在する場合、正常では行われる tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子の塩基修飾が著しく障害されることが報告され、蛋白合成障害の直接的原因であると推測される。

3. 症状および診断

20歳前の一過性脳卒中様症状(頭痛、嘔吐、半身けいれん、視野異常、閃輝暗点、視力障害、麻痺など)を特徴とし、同時に筋力低下、感音性難聴、心刺激伝導障害、心筋症を合併するものもある。血液検査では、乳酸、ピルビン酸の高値、代謝性アシドーシス、高アラニン血症がみられ、筋生検でミトコンドリアの異常集積像(ragged-red fibers: RRF)と中小動脈壁の異常染色性(strongly SDH hyperreactive blood vessels: SSV)が観察される。このSSVは、筋内の中小動脈のみでなく、中枢神経の動脈でも観察され、本症が血管障害を有することを示している。

頭部CTにて大脳基底核の両側対称性石灰化、脳実質の低吸収域などがみられる。急性期の頭部MRIでは、T2強調画像で大脳皮質の高信号域、腫脹などがみられる。発作は連続で起こることもあれば、数カ月寛解期をみることもある。発作時にみられる症状は一過性の場合もあるが、適切な治療がなされなければ症状は遷延し、血流が障害された末梢脳組織の後遺障害として、半身麻痺、視野障害(同名半盲)、失明をきたす重篤な難治性進行性疾患である。

4. 治療

急性期の特効薬的治療はない。代謝性アシドーシスに対するアルカリ療法、各種ビタミン療法、ジクロロ酢酸ナトリウム、ステロイドパルス療法、ノイキノン、抗血栓療法などが試みられているが、いずれもその効果は不明である。

5. 予後因子

本症の治療上重要な課題は、いかに後遺障害を残すことなく脳卒中急性期を乗り切るかである。いったん後遺障害を残せば、成人の脳卒中同様、長期入院後リハビリ治療が必要であり、

患者への心的経済的負担をかけることになる。また、医療経済上も多大な出費となる。現在まで、発作急性期の有効な治療法が開発されていなかった。

II. ミトコンドリア病 (MELAS) の日本における頻度

日本では、2002年初め現在まで本症における全国的疫学調査はなされていなかった。1999年の国立精神神経センターの統計で、1979年から1997年の間にミトコンドリア病疑いで筋生検された620例中158例(25.5%)がMELASであった。以後、毎年100例以上のミトコンドリア病疑いの症例が検査されており、その約25%がMELASと考えられている。フィンランドでは、A 3243 G変異を有する個体は人口10万に対して16.3人と報告されている。

そこで、MELASの日本における頻度を確定するために、全国規模でのMELAS疫学調査(患者数の把握、病型、診断方法、現在の治療法に関しアンケート調査:図1, 2)を行った。入院ベッド数200床以上の全国2,236カ所の病院にアンケート調査を実施し、46.7%の回収率を得た(小児科51.2%, 神経内科38.2%)。その結果、日本では、719症例のミトコンドリア脳筋症患者が存在し、そのうち408例は小児科で、残りは神経内科でフォローされていることが判明した。今後2次調査を実施し、小児期発症のミトコンドリア脳筋症のうち、MELASおよびLeigh脳症の2病型に関し、診断基準策定および重症度分類を作成する予定である。

III. MELASにおける脳卒中の 成因に関して

MELASにおける脳卒中様発作の成因は、血

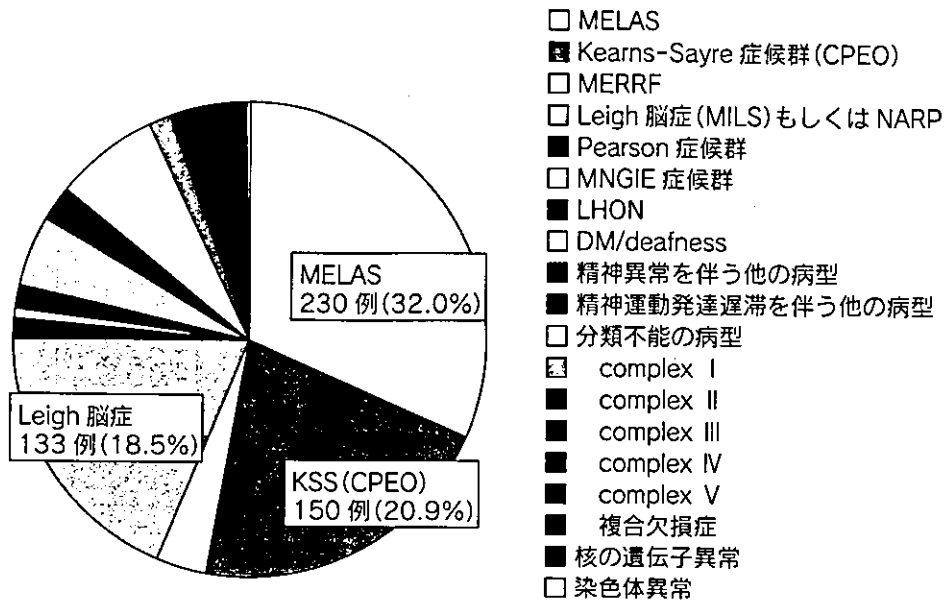


図1 日本におけるミトコンドリア病 (719 症例)

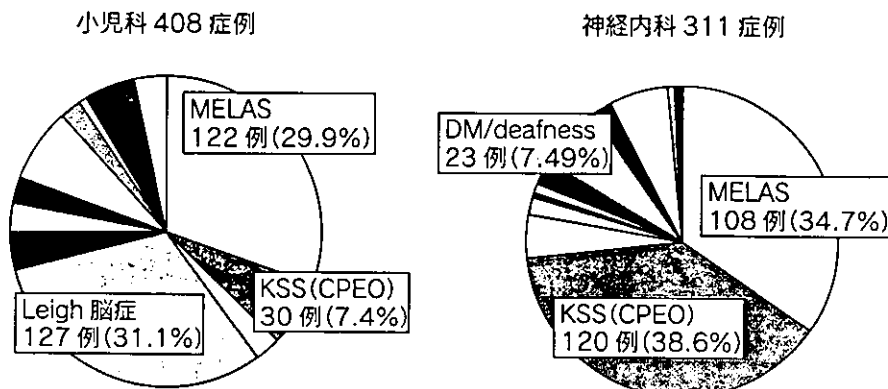


図2 日本における診療科別ミトコンドリア病患者数

管説および細胞機能不全説などいまだ不明な点が多い。しかし、われわれは、脳卒中様発作の成因に血管説が大きく関与しているという仮説を立てるのに、以下にあげるようなエビデンスを重要視している。

MELAS 患者では、

① ミトコンドリアの機能異常の指標として筋肉での RRF があり、その部分の電子顕微鏡的検索ではミトコンドリアの形態異常がみられる。

② 筋内中小動脈に SSV が観察され、電子顕

微鏡的観察で異常ミトコンドリアが中膜平滑筋層および血管内皮細胞に存在し、これが SSV として観察される (図 3)。

③ 血管の閉塞性病変が存在する⁷⁾。

④ 血管内皮の機能異常が存在する (報告中)。肘動脈を超音波探触子にて描出した血管径を測定し、その後、上腕を 4 分間駆血し解放後の血管径を測定する。その増加分 (%FMD) が血管内皮依存性の血管拡張である。この手法は、血管内皮機能の評価方法として世界的に認められた手法である。この方法で、MELAS 患者の内

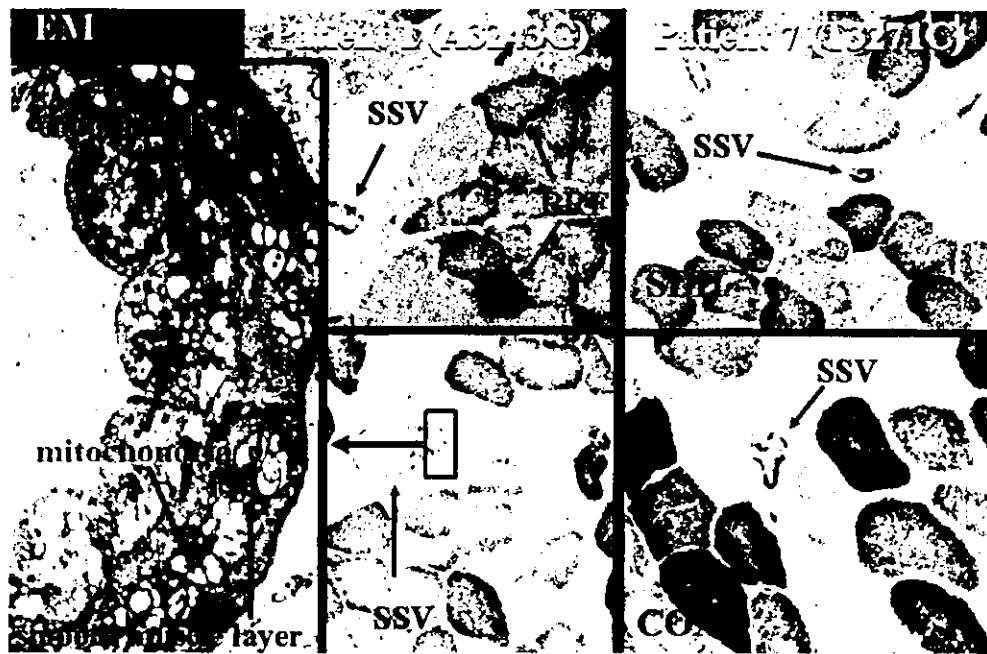


図3 MELAS 患者における SSV とミトコンドリア異常

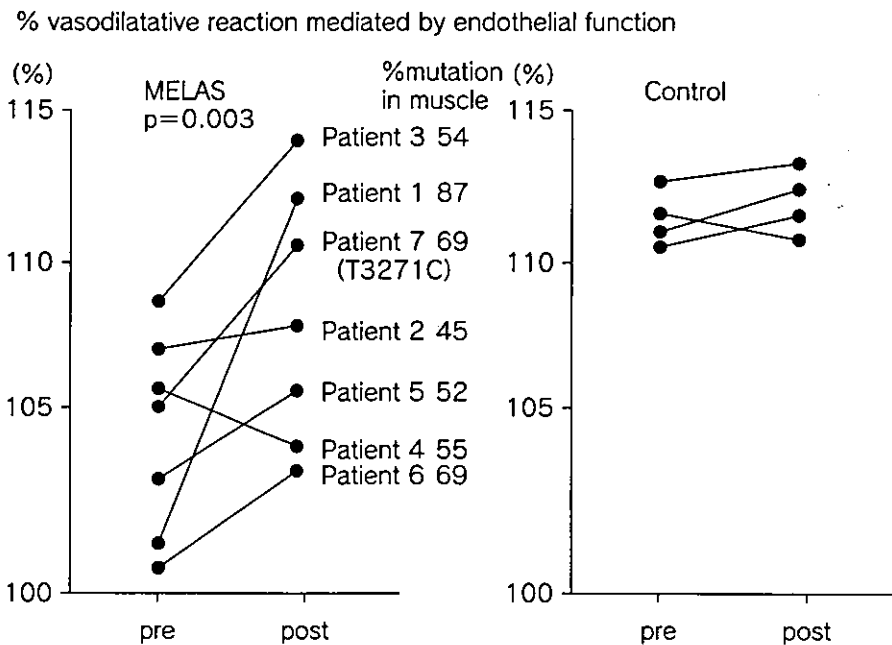


図4 MELAS 患者の内皮機能

皮機能を測定したので、図4に示す。MELAS患者では、同性同年齢のコントロールに比較し、中小動脈の血管内皮依存性血管拡張機能が有意に低下している。脳動脈で同様の機能障害があれば、MELAS患者にみられる脳卒中様発作の

病態が容易に説明できると考えられる。

⑤ MELAS患者では、血漿中のL-アルギニンや生体内での動脈拡張機能に中心的役割を果たすNOの代謝産物(NOx)が有意に低下しており、かつADMA(asymmetrical dimethylar-

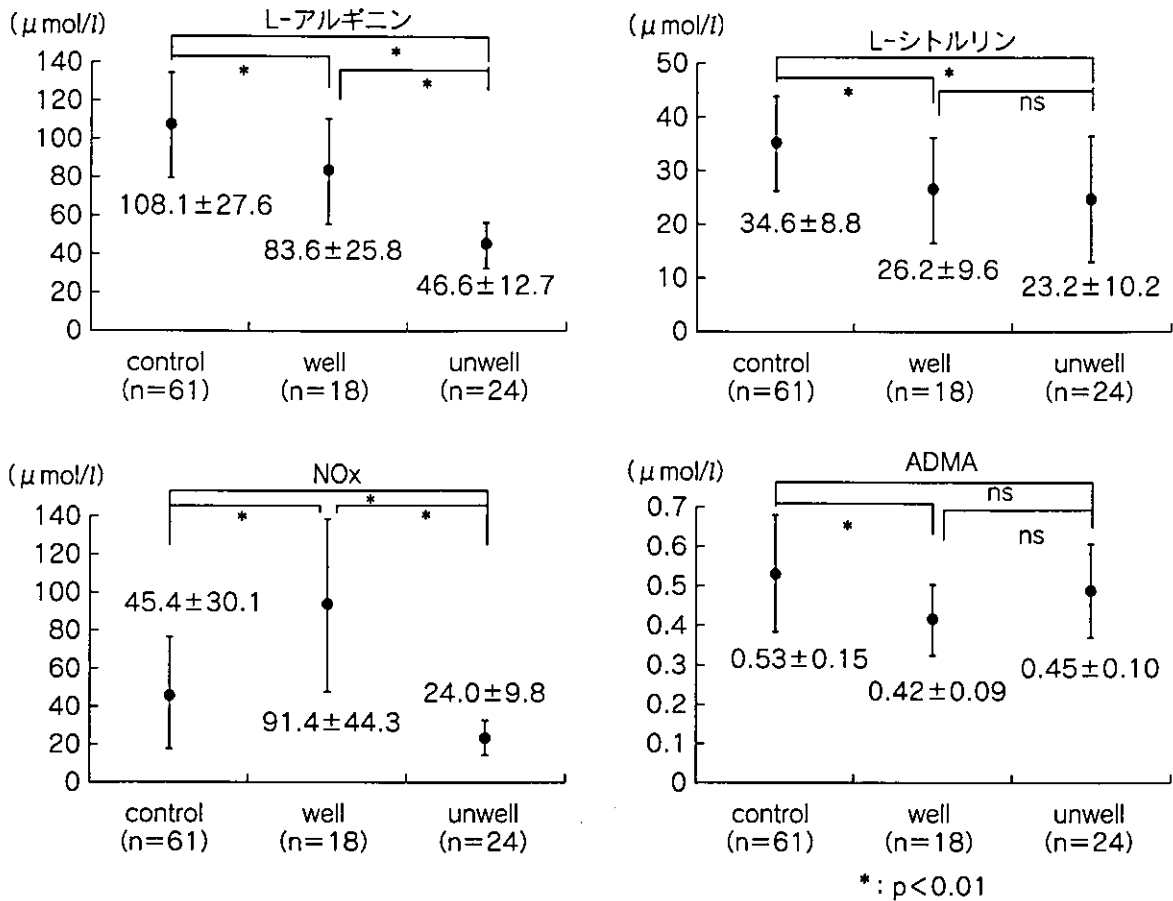


図5 MELAS 患者の生化学的マーカー

ginine) が相対的に増加している (報告中, 図 5).

⑥ L-アルギニン は, 動脈の拡張機能の中核的役割を担う (図 6). L-アルギニンは, 中小動脈における血管の拡張機能において必須となる一酸化窒素産生のもととなるアミノ酸である. このアミノ酸は, MELAS 患者の脳卒中急性期では, 有意に低下しており, NO 産生の総量を表す NOx も有意に低下していた. ADMA は, 虚血性心疾患のリスクファクターとして注目されている物質であり, 悪玉 L-アルギニンとして, NO 合成酵素に抑制的効果を示す. この事実から, MELAS 患者では, 動脈が拡張しにくい状態にあるといえる.

以上の生化学的基盤をもとに, MELAS の脳卒中の成因に, 血管障害 (とくに内皮機能不全)

が大きく関与しており, 血中の L-アルギニン低値, ADMA の相対的高値がさらなる脳卒中様発作のリスクファクターになっていると考えられる.

IV. MELAS の急性期における L-アルギニン療法 の投与効果

われわれは, 脳卒中様発作をきたす MELAS の急性期に L-アルギニンを投与し, 速やかに脳卒中様症状が改善したことを報告した⁹⁾. 主な内容として, 投与量: L-アルギニン 10% 溶液で 5 ml/kg/hr, 投与方法: 右上腕より点滴静注, 有効性: 脳卒中様症状に即効性がある. 安全性: 副作用としての頭痛が 1 例あったが, 肝障

表2 L-アルギニン投与による急性期臨床症状の改善

臨床症状	投与前の 発現例数	改善率* (改善例/発現例) の推移				
		15分	30分	24時間	3日	5日
頭痛	22	0/22 (0%)	14/22 (64%)	22/22 (100%)	22/22 (100%)	22/22 (100%)
臨床的障害	22	3/22 (14%)	3/22 (14%)	22/22 (100%)	22/22 (100%)	22/22 (100%)
嘔気	8	0/8 (0%)	6/8 (75%)	8/8 (100%)	8/8 (100%)	8/8 (100%)
嘔吐	10	0/10 (0%)	7/10 (70%)	10/10 (100%)	10/10 (100%)	10/10 (100%)
一過性失明	7	3/7 (43%)	2/7 (29%)	7/7 (100%)	7/7 (100%)	7/7 (100%)
半身けいれん	5	2/5 (46%)	3/5 (60%)	5/5 (100%)	5/5 (100%)	5/5 (100%)
意識障害	1	0/1 (0%)	1/1 (100%)	1/1 (100%)	1/1 (100%)	1/1 (100%)
閃輝暗点	9	0/9 (0%)	6/9 (67%)	8/9 (89%)	9/9 (100%)	9/9 (100%)

*頭痛, 臨床的障害: 投与前スコア3または2が1または0になった場合に改善とした。

嘔気, 嘔吐, 一過性失明, 半身けいれん, 意識障害, 閃輝暗点: 投与前1が0になった場合に改善とした。

Institute Inc.). なお, 検定における有意水準は, 0.05 (両側) とした。

7. 結 果

a) L-アルギニン投与による脳卒中様臨床症状の改善

脳卒中様発作症状を発現している MELAS 患者 22 例に L-アルギニンを静脈内投与し, 投与終了後 15 分, 30 分, 24 時間, 3 日目, 5 日目の各急性期症状の改善率を表 2 に示した。頭痛は, L-アルギニン投与前に 22 例全例で高度であったが, 投与 30 分後には 14 例 (64%) が改善し, 投与後 24 時間には全例改善した。臨床的障害 (clinical disability) は, 投与前には中等度 15 例, 高度 7 例であったが, 投与終了 15 分後には 3 例 (14%) が改善し, 投与 24 時間後には全例改善した。嘔気は, 投与前 8 例にみられていたが, 投与終了 30 分後には 6 例 (75%) が消失し, 24 時間後には全例消失した。嘔吐は, 投与前 10 例にみられていたが, 投与終了 30 分

後には 7 例 (70%) が消失し, 24 時間後には全例消失した。一過性失明は, 投与前 7 例にみられたが, 投与終了 15 分後にはそのうち 3 例 (43%) が消失し, 投与終了 30 分後に 1 例再発して改善は 2 例 (29%) となったが, 24 時間後には全例消失した。半身けいれんは, 投与前 5 例みられたが, 投与終了 15 分後には 2 例 (40%), 投与終了 30 分後には 3 例 (60%) が消失し, 24 時間後には全例消失した。意識障害は, 投与前 1 例にみられたが, 投与 30 分後には消失した。閃輝暗点は, 投与前 9 例にみられたが, 投与終了 30 分後には 6 例 (67%) が, 24 時間後には 8 例 (89%) が消失し, 残りの 1 例は 3 日目には消失した。

b) L-アルギニン製剤投与後の血中 L-アルギニン, L-シトルリン, 乳酸, ピルビン酸, NOx, c-GMP 濃度の推移

MELAS 患者における L-アルギニン投与前, 投与終了後 15 分, 30 分, 24 時間の各血中