

臨床症状は発熱、筋固縮、頻脈、ミオグロビン尿、自律神経不安定症状に特徴づけられ、MHに類似する。まれに小児でも報告されており、その場合診断がつかなかったり、MHと混同されたりしている。病態が肝不全、腎不全へと進行する場合もある。

治療は、向精神病薬を中止するほかdopamine作動薬やダントロレンが投与される。NMSは再発することが多い。NMS回復後の現病の治療には、抗dopamine作用の少ないthioridazineが勧められている。

### III. 横紋筋融解症 (rhabdomyolysis)

#### 1. 概 念

骨格筋の筋鞘の崩壊により、筋細胞の内容成分が流出したことで引き起こされた病態をいう。臨床的には筋由来酵素が上昇するのみの無症候性のものから、ミオグロビン尿を呈し急性腎不全を惹起するものまで多彩である<sup>12)</sup>。原因はさまざまであるが、先天性筋疾患の初発として発見される可能性もあり、小児科医としても重要な疾患である。

#### 2. 発生機序

横紋筋融解症の原因は、外傷性と非外傷性に大別される(表5)<sup>13)</sup>。外傷性は、マラソンなどの過度の運動、倒壊した建物の下敷による圧迫(挫滅症候群)、激しい全身性けいれん、熱射病、閉塞性動脈硬化症などによる動脈閉塞などが原因となる。筋肉の虚血もしくは機械的障害によって骨格筋細胞内のATPの減少、引き続く筋細胞内のCaの貯留により細胞消化誘導が起こる。以後、融解した筋肉から、ミオグロビン、CK、LDH、GOT、GPT、アルドラーゼなどの筋逸脱酵素群が流出する。なかでもミオグロビンはその代謝産物(ヘマチンなど)とともに、尿細管細胞障害、血管収縮、尿細管閉塞(ミオグロビンなどが腎臓に詰まる)により腎尿細管

細胞を著しく障害し、急性腎不全症状を併発する。近年の報告によれば4.7~36%に急性腎不全を発症するといわれている。

そのほか、まれに呼吸筋が障害され呼吸困難をきたす場合もある。非外傷性の横紋筋融解症の原因には、先天性代謝性筋疾患、感染症、低カリウムや低リン血症、薬剤、麻薬などによる。小児では、横紋筋融解症の発症により、先天性の筋酵素欠損による種々の筋疾患が診断されることもある。

#### 3. 臨床症候

横紋筋融解症の自覚症状としては、急激な四肢近位筋の脱力、腫脹、しびれ、痛みなどから発症する。さらに筋肉から流出したミオグロビンによる赤褐色尿などが、筋症状出現後2~24時間以内に出現し、1~3日間持続する。筋症状は数週間持続し、症例によっては2~3カ月持続することがある。発症時に悪寒、発熱、嘔気を伴うことがある。横紋筋融解症が繰り返し、継続的に起こると、筋萎縮、筋力低下などの障害を起こすが、重篤な横紋筋融解症では1回の発症で急性腎不全を起こすことがある。

#### 4. 検 尿

肉眼的に特徴的な赤褐色の尿を呈する。尿潜血反応は陽性であるが、沈渣に赤血球はみられない。着色尿(ヘモグロビン尿、ポルフィリン尿、薬物尿など)との鑑別が必要である。ミオグロビンは血中で15~20 mg/dlまではミオグロビン蛋白と結合しており、20 mg/dl以上で尿中に出現する。25 mg/dl以上で肉眼的に暗褐色の着色尿が観察される。

尿中ミオグロビン上昇による急性腎不全が発症すると、急性腎不全による乏尿その他の症状が加わる。ミオグロビンによって急性腎不全が起きるのは、脱水、全身循環動態の変化などを伴った場合が多い。

#### 5. 血液生化学的検査

生化学では、筋系酵素である血清CK、アルドラーゼ、GOT、LDHの上昇がみられる。崩壊筋

表 5 横紋筋融解症の原因

|                                                     |                                                                                          |
|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 外傷性                                              | CPT II deficiency                                                                        |
| 1) 労作性：過激な運動，熱射病，けいれん重積，喘息発作重積，長時間の心肺蘇生             | Satoyoshi syndrome                                                                       |
| 2) 挫傷 (crush syndrome)，熱傷，感電                        | 8. そのほか                                                                                  |
| 3) 虚血：塞栓，コンパートメント症候群，鎌状赤血球症，DIC                     | 肢体型筋ジストロフィー                                                                              |
| 2. 非外傷性                                             | Marinesco-Sjögren syndrome                                                               |
| 1) 遺伝的原因                                            | 2) 感染症                                                                                   |
| 1. 解糖系酵素                                            | 1. ウイルス                                                                                  |
| Myophosphorylase deficiency (McArdle's disease)     | EBV, CMV, HSV, インフルエンザ A, パラインフルエンザ, コクサッキー A 9, B 5, エコー 6, 9, アデノ 21 など                |
| Phosphofructokinase deficiency                      | 2. 細菌                                                                                    |
| Phosphoglycerate kinase deficiency                  | 黄色ブドウ球菌 (toxic shock syndrome), サルモネラ菌, 肺炎球菌, レジオネラ菌, 大腸菌, 腸チフス, プルセラ症, 野兔病, ガス壊疽, 敗血症など |
| Phosphoglycerate mutase deficiency                  | 3. その他                                                                                   |
| Lactate dehydrogenase (LDH)-A deficiency            | アスペルギルス, カンジダ, マイコプラズマ, ワイル病など                                                           |
| Phosphorylase b kinase deficiency                   | 3) 代謝性                                                                                   |
| Debrancher enzyme deficiency                        | 1. 電解質異常                                                                                 |
| 2. 脂質代謝                                             | 低カリウム血症, 低リン血症, 低ナトリウム血症, 高ナトリウム血症                                                       |
| Carnitine palmitoyl transferase (CPT) II deficiency | 2. 糖尿病性昏睡                                                                                |
| Carnitine deficiency                                | 3. 腎尿細管性アシドーシス                                                                           |
| Acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiencies          | 4. 甲状腺機能低下症                                                                              |
| Electron transfer flavoprotein (ETF) deficiency     | 5. 水中毒                                                                                   |
| ETF dehydrogenase deficiency                        | 4) 炎症性または自己免疫性筋疾患                                                                        |
| Ketoacyl CoA thiolase deficiency                    | 多発性筋炎, 皮膚筋炎, カルチノーマ                                                                      |
| Long-chain fatty acid $\beta$ -oxidation defects    | 5) 薬物・毒素                                                                                 |
| 3. クレブス回路                                           | 1. 代謝異常 (抗コリン剤, 抗うつ剤, 抗ヒスタミン剤, 高脂血症治療薬, アルコール)                                           |
| Aconitase deficiency                                | 2. 低カリウム血症 (アンフォテリシン, カフェイン, テオフィリン, サイアザイド系利尿剤)                                         |
| Lipoamide dehydrogenase deficiency                  | 3. 虚血 (アミノカプロン酸, コカイン, バソプレッシン)                                                          |
| 4. ペントースリン酸系                                        | 4. 自己免疫 (シクロスポリン, レボドーパ)                                                                 |
| G 6 PDH deficiency                                  | 5. 膜への影響 (サクシニルコリン, コルヒチン, トルエン, 四塩化炭素, パンクロニウム)                                         |
| 5. プリンヌクレオチド系                                       | 6. 過興奮 (ケタミン, リチウム, LSD, ストリキニン)                                                         |
| Myoadenylate deaminase deficiency                   | 7. 悪性症候群 (レボドーパやドーパミン作動薬の中止, プチロフェノン, フェノチアジン)                                           |
| 6. ミトコンドリア呼吸鎖                                       | 8. セロトニン作動性症候群 (アンフェタミン, ペチジン, MAO 阻害剤, SSRI, 三環系抗うつ剤)                                   |
| Succinate dehydrogenase/complex II deficiency       | 6) 毒素                                                                                    |
| Complex III deficiency                              | 膜への影響 (ヘビ毒, クモ毒, スズメバチ毒), きのこ毒?                                                          |
| Cytochrome c oxidase deficiency                     |                                                                                          |
| Mitochondrial tRNA point mutations                  |                                                                                          |
| Multiple mitochondrial DNA deletions?               |                                                                                          |
| nuclear gene dysregulation                          |                                                                                          |
| Uncharacterised mitochondrial myopathies            |                                                                                          |
| 7. 悪性高熱症 (MH)                                       |                                                                                          |
| Familial MH (RYR 1, CACNA 1 S mutations)            |                                                                                          |
| Central core disease                                |                                                                                          |
| Duchenne and Becker muscular dystrophies            |                                                                                          |
| Myotonic dystrophy                                  |                                                                                          |
| Schwartz-Jampel syndrome                            |                                                                                          |
| King syndrome                                       |                                                                                          |

由来の P, K, プリン体の遊離により, 高 K 血症, 高 P 血症, 高尿酸血症を示し, さらに筋細胞内の Ca 貯蔵のため低 Ca 血症をきたすといわれる。さらに血中あるいは尿中のミオグロビンの上昇をみる。筋融解の程度と血清中の CK 濃度は必ずしも相関しない。これは脱水, 血圧低下などの因子が急性腎不全の発症に大きくかわりをもつからであろう。

そのほか, 原因疾患および脱水, 腎不全の検索のために, 電解質 (Na, K, Cl, P, Ca) また BUN, Cr や, 血糖, 乳酸, 血液ガス, 血漿浸透圧を測定する必要がある。

#### 6. 筋生検

生検部位は大腿直筋または上腕二頭筋の筋腹中央を採取する。画像診断で壊死や浮腫が疑われた箇所を局所麻酔にて採取する。各代謝性筋疾患を検出するために, 各種酵素活性の測定や免疫染色などを行う必要がある。ただし, 急性期では各代謝系酵素は活性が低下しているため, 回復期に行うこととなる。

#### 7. 画像診断

筋 CT や MRI, 超音波検査などの画像診断法のほか,  $^{99m}\text{Tc}$  phosphate analogue や Ga を用いたシンチグラムにより局在がはっきりする。

#### 8. 診断

横紋筋融解症が発症すれば, 細胞内物質の血中濃度が異常値を示すが, とくに筋逸脱酵素群が急激に上昇する。横紋筋融解症の確定診断には, 筋組織所見による壊死像の確認が必要であるが, 一般には血清中のミオグロビン, アルドラーゼ, CK の上昇を指標にする。一般に血清 CK, ミオグロビンの増加は, 骨格筋病変ないしは心筋障害が疑われる。高脂血症治療剤による横紋筋融解症の発現症例の多くは, 全身倦怠感, 筋肉痛とともに CK, 血中・尿中ミオグロビンの急激な上昇などが認められる。

#### 9. 治療

まず原因の除去につとめる。外傷的な誘因があればその対処とともに, 進行をただちに防ぐ必要がある。急性期には基本的に, 数日間は絶対安静である。尿のアルカリ化を行って利尿をはかり, 急性腎不全を予防することが予後にかかわる。急性尿細管壊死による急性腎不全では, 人工透析が必要となる。

#### 文 献

- 1) Denborough MA, Lovell RRH : Anesthetic death in a family. *Lancet* 2 : 45, 1960
- 2) Jurkat-Rott K, McCarthy T, Lehmann-Horn F : Genetics and pathogenesis of malignant hyperthermia. *Muscle Nerve* 23 : 4-17, 2000
- 3) 遠藤 実 : ダントロレンの薬理. *Anesthesia Today* 6 : 56-61, 1997
- 4) 盛生倫夫ほか : 悪性高熱症診断基準の見直し. *麻酔と蘇生* 24 : S 104-110, 1988
- 5) Larach MG et al : A clinical grading scale to predict malignant hyperthermia susceptibility. *Anesthesiology* 80 : 771-779, 1994
- 6) 弓削孟文 : 悪性高熱症. *日本臨床* 60 : 635-642, 2002
- 7) Kalow W et al : *Lancet* 2 : 895-898, 1970
- 8) Takagi A et al : *Proc Jpn Acad* 52 : 603-606, 1976
- 9) 遠藤 実 : 筋生検による MH スクリーニングテスト. *麻酔と蘇生* 23 : S 145-151, 1987
- 10) 高木昭夫 : 悪性高熱・悪性症候群. *新筋肉病学*, 南江堂, pp 789-794, 1995
- 11) 古賀靖敏 : 悪性症候群. *小児内科* 33(増刊号) : 762-763, 2001
- 12) Warren JD, Blumberg PC, Thompson PD : Rhabdomyolysis ; A review. *Muscle Nerve* 25 : 332-347, 2002
- 13) 三牧孝至 : 横紋筋融解症. *小児内科* 30 : 1329-1333, 1998

# 神経症状を有する ミトコンドリア遺伝子異常

古賀 靖敏\* 古賀 敦子\*

## 要 旨

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。その臨床症状は多岐にわたるが、なかでも神経系症状はミトコンドリア病のもっとも普遍的な症候の一つである。West 症候群、Lennox-Gastaut 症候群などの難治性けいれん性疾患、精神運動発達遅滞、Leigh 脳症、ミオクローヌス、慢性の片頭痛、行動異常、急性脳症、筋力低下、外眼筋麻痺、視野異常(失明)、神経難聴(感音性難聴)、脳卒中、知的退行、まだら痴呆などさまざまな症候を呈する。本稿では、われわれが経験した遺伝子異常が判明したミトコンドリア病の多岐にわたる神経症状を紹介し、その臨床的多様性に関し報告する。

## I. ミトコンドリア病と遺伝子変異

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。エネルギー産生障害を伴うことから、エネルギー依存度の高い中枢神経系、骨格筋、心筋などの臓器障害をきたすことが多い。

病因としての遺伝子変異は、核もしくはミトコンドリア DNA のいずれかの異常が考えられる。現在までに、150 種類以上の点変異、微小欠失、大欠失、増幅などがミトコンドリア DNA 異常症として(図 1)、また、50 種以上の核 DNA の異常がミトコンドリア病の責任遺伝子異常として報告されている(図 2)。

今回、神経学的異常をきたした種々の点変異

を有する症例の臨床像、頭部画像、生化学検査、筋および脳病理所見を紹介し、ミトコンドリア病における神経所見に関し考察する。表に代表的なミトコンドリア病各病型の特徴的症候を示す。

## II. MELAS タイプのミトコンドリア tRNA<sup>Leu</sup>(UUR) 遺伝子の A 3243 G 変異の臨床スペクトル

MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy lactic acidosis and stroke-like episodes) の 80% の患者でミトコンドリア DNA の tRNA<sup>Leu</sup> (UUR) 遺伝子の A 3243 G 変異が<sup>1)</sup>、10% の患者で同じ遺伝子の T 3271 C

\* 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

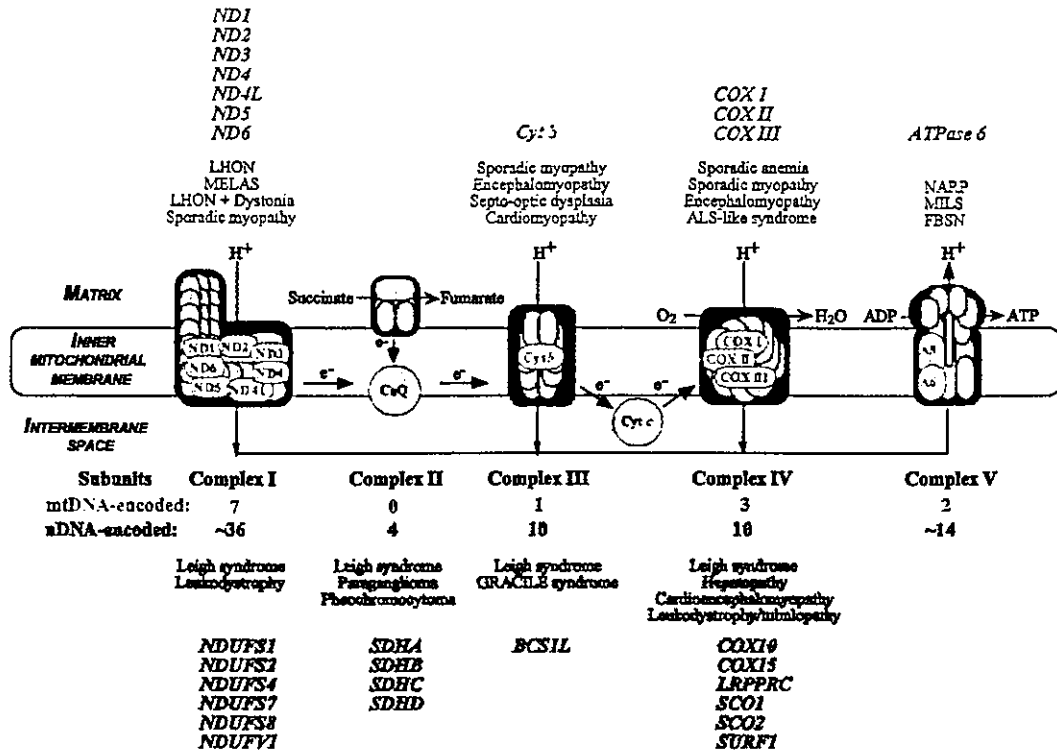


図1 ミトコンドリア病と遺伝子変異

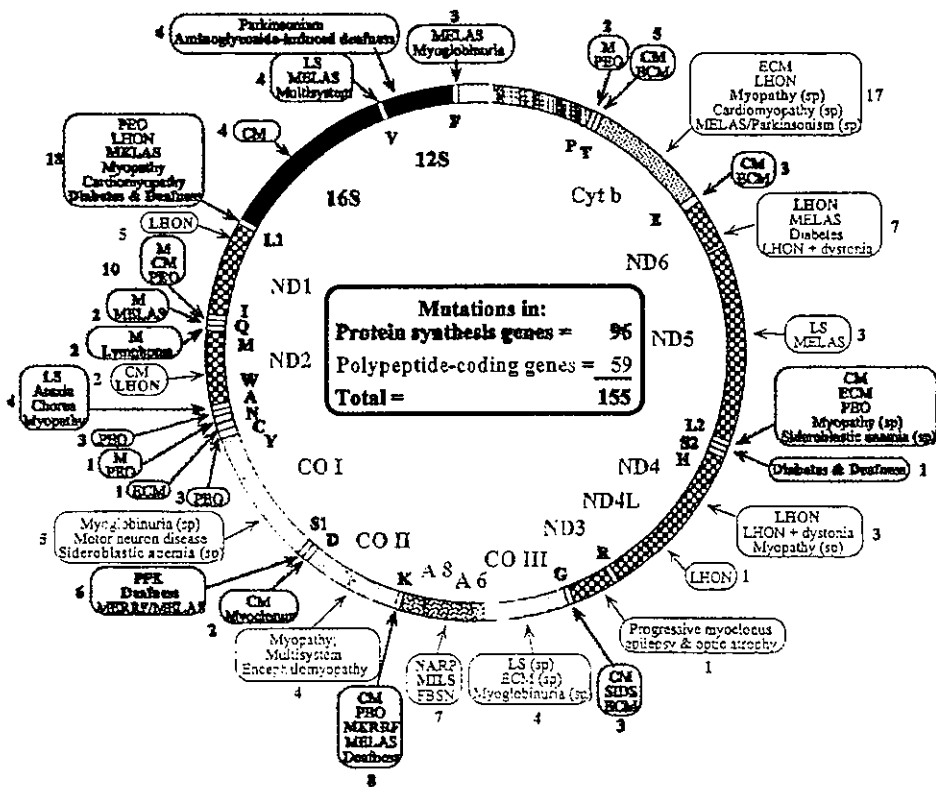


図2 ミトコンドリア病とミトコンドリア DNA 異常の関係

表 代表的なミトコンドリア病各病型の特徴的症候

| Tissue      | Symptom/Sign                  | D-mtDNA |         | tRNA  |       | ATPase6 |      |
|-------------|-------------------------------|---------|---------|-------|-------|---------|------|
|             |                               | KSS     | Pearson | MERRF | MELAS | NARP    | MILS |
| CNS         | Seizures                      | -       | -       | +     | +     | -       | +    |
|             | Ataxia                        | +       | -       | +     | +     | +       | +/-  |
|             | Myoclonus                     | -       | -       | +     | +/-   | -       | -    |
|             | Psychomotor Retardation       | -       | -       | -     | -     | -       | +    |
|             | Psychomotor Regression        | +       | -       | +/-   | +     | -       | -    |
|             | Hemiparesis/hemianopia        | -       | -       | -     | +     | -       | -    |
|             | Cortical blindness            | -       | -       | -     | +     | -       | -    |
|             | Migraine-like headaches       | -       | -       | -     | +     | -       | -    |
| Dystonia    | -                             | -       | -       | +     | -     | +       |      |
| PNS         | Peripheral Neuropathy         | +/-     | -       | +/-   | +/-   | +       | -    |
| Muscle      | Weakness                      | +       | -       | +     | +     | +       | +    |
|             | Ophthalmoplegia               | +       | +/-     | -     | -     | -       | -    |
|             | Ptosis                        | +       | -       | -     | -     | -       | -    |
| Eye         | Pigmentary retinopathy        | +       | -       | -     | -     | +       | +/-  |
|             | Optic Atrophy                 | -       | -       | -     | -     | +/-     | +/-  |
|             | Cataracts                     | -       | -       | -     | -     | -       | -    |
| Blood       | Sideroblastic Anemia          | +/-     | +       | -     | -     | -       | -    |
| Endocrine   | Diabetes Mellitus             | +/-     | -       | -     | +/-   | -       | -    |
|             | Short stature                 | +       | -       | +     | +     | -       | -    |
|             | Hypoparathyroidism            | +/-     | -       | -     | -     | -       | -    |
| Heart       | Conduction block              | +       | -       | -     | +/-   | -       | -    |
|             | Cardiomyopathy                | +/-     | -       | -     | +/-   | -       | +/-  |
| GI          | Exocrine pancreas Dysfunction | +/-     | +       | -     | -     | -       | -    |
|             | Intestinal pseudo-obstruction | -       | -       | -     | -     | -       | -    |
| ENT         | Sensorineural hearing loss    | -       | -       | +     | +     | +/-     | -    |
| Kidney      | Fanconi's Syndrome            | +/-     | +/-     | -     | +/-   | -       | -    |
| Lab         | Lactic Acidosis               | +       | +       | +     | +     | -       | +/-  |
|             | Muscle bx: RRF                | +       | +/-     | +     | +     | -       | -    |
| Inheritance | Maternal                      | -       | +       | +     | +/-   | +       | +    |
|             | Sporadic                      | +       | -       | -     | +/-   | -       | -    |

遺伝子の変異が報告された<sup>2)</sup>。その後、同じ遺伝子の A 3252 G, C 3256 T, T 3291 C などの変異が同じ病型で見出された。いずれの点変異もミトコンドリア tRNA<sup>Leu</sup> (UUR) 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。

われわれは、同じ A 3243 G 変異をもちながら、臨床的には Leigh 脳症, MELAS, PEO (慢性進行性外眼筋麻痺), そしてミトコンドリア糖尿病と臨床的に異なる病型を示す家系を経験した<sup>3)4)</sup>。各々の病型で、点変異の含量, 臓器分布と臨床的多様性の関係につき考察する。

### 1. Leigh 脳症

症例は、0 歳時より精神運動発達の遅れとフロッピーインファントで発見された。常時高乳酸, ピルビン酸血症が観察され、髄液での値は

血中より高値であった。その後けいれんがみられ、脳波異常より West 症候群と診断され、抗けいれん剤を投与された。極端な筋力低下から 3 歳でも loose shoulder sign が観察され、独歩不可能であった。難治性けいれんが続き、脳波所見より Lennox-Gastaut 症候群への移行が考えられた。

6 歳時、フロッピーインファントの鑑別目的で筋生検が施行された。筋生検では、modified Gomori-trichrome (mGT) 染色ですべての筋線維が赤ボロ線維 (ragged-red fiber : RRF) 化していた。チトクローム C 酸化酵素染色では、酵素活性の低下を示す筋線維が多くみられた。経過中、感染を契機とし、高乳酸血症を伴う代謝性アシドーシスを何度も繰り返し、10 歳で多臓器不全で死亡した。

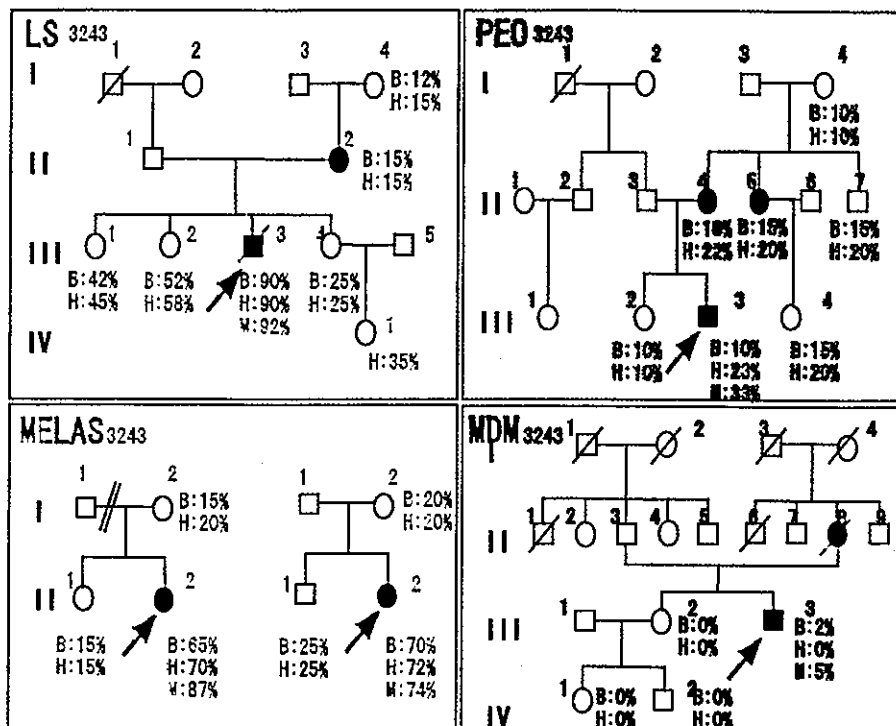


図3 家系図 (Koga Y et al, 2000<sup>3</sup>)

頭部CTでは、大脳基底核の石灰化と著明な脳実質の萎縮をきたし、剖検で大脳基底核の両側対称性壊死とグリアの増生が確認され、臨床的、神経病理学的にLeigh脳症と確定できた。剖検後の検索で、ミトコンドリアDNAのtRNA<sup>Leu</sup>(UUR)遺伝子のA 3243 G変異がいずれの体細胞でも90%以上と高度に蓄積していた。家系検索を図3 LS<sup>3243</sup>(LS<sup>3243</sup>III-3)<sup>3</sup>、筋病理所見を図4 LS<sup>3243</sup>に示す<sup>4</sup>。

## 2. MELAS

13歳で頭痛と発作性嘔吐、右同名半盲、半身けいれんで発症した女兒。検査にて高乳酸ピルビン酸血症が判明し、ミトコンドリア脳筋症が疑われた。CTにて大脳基底核の両側対称性石灰化を認め、MRIのT1強調で左後頭葉領域に低信号、T2およびFlair強調で同部位に高信号シグナルを認めた(図5)。筋生検では、mGT染色で典型的なRRFを多数認めた。ミトコンドリアDNAのtRNA<sup>Leu</sup>(UUR)遺伝子のA 3243 G変異が筋肉で65%に認められた。家

系検索を図3 MELAS<sup>3243</sup>(MELAS<sup>3243</sup>II-2)に、筋病理所見を図4 MELAS<sup>3243</sup>に示す。

## 3. 進行性外眼筋麻痺 (progressive external ophthalmoplegia : PEO)

26歳の男性。20歳ごろより複視に気づき、眼瞼下垂も起こってきたため、大学病院受診。心伝導ブロックはなく、髄液の高蛋白所見もなく、進行性外眼筋麻痺と診断された。末梢血リンパ球検査よりミトコンドリアDNAのtRNA<sup>Leu</sup>(UUR)遺伝子のA 3243 G変異が確認された。家系検索を図3 PEO<sup>3243</sup>に示す。

## 4. 頑固な片頭痛、視野異常、低身長

12歳の男児。周産期、および乳幼児期の発育、発達に異常なし。患者の家系図を図6に示す。小学校入学以降、身長の伸びが次第に低下し、現在は極端な低身長となっている(-4.2SD)。2次成長に伴う伸長は13歳時で4.2cm/年であり、平均値の42%であった。また、小学校のころから頻回に頭痛、腹痛、嘔吐の症状があり、学校をよく休んだ。筋力が弱く、トイレにしゃ

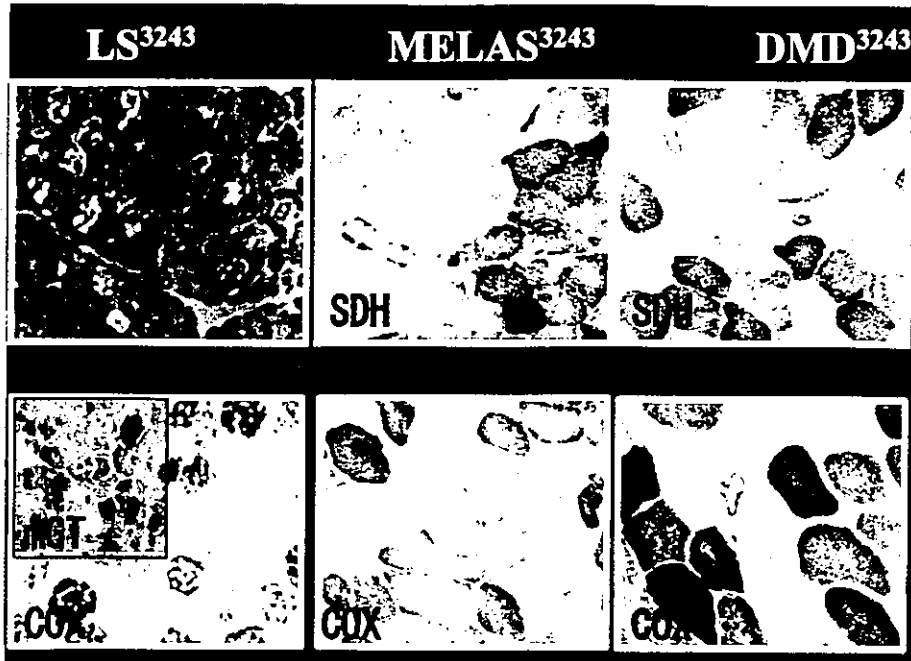


図4 筋病理所見

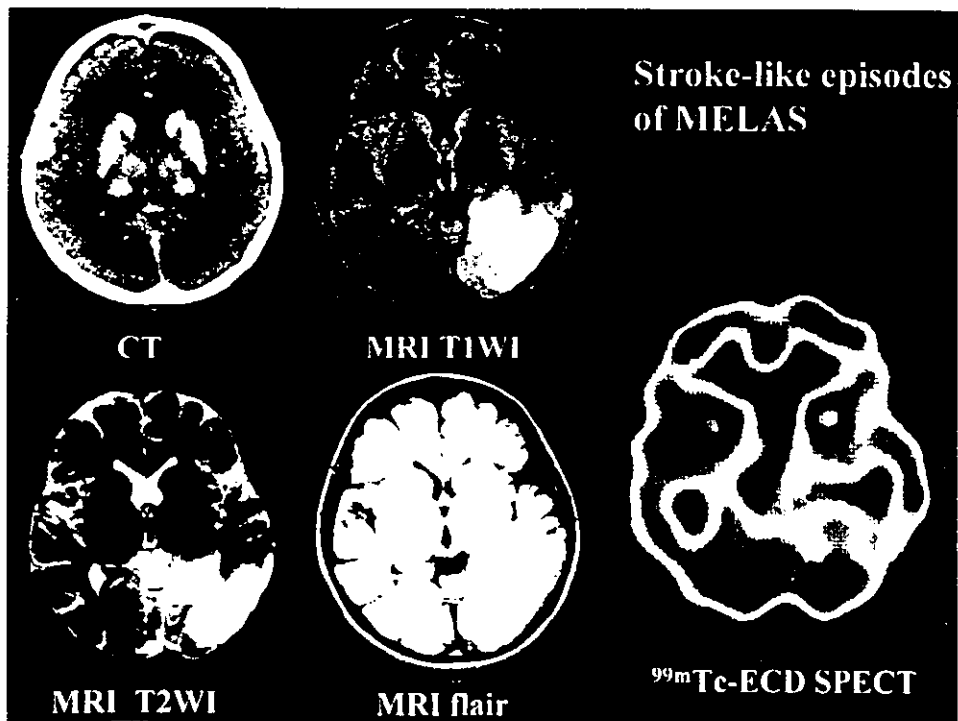


図5 画像所見

がみ込む姿勢がとれなかった。長距離走などで、しばらく走ると、いつも吐き気が出現するため、学校の体育は休みがちであった。

12歳ころから、片頭痛とともにときおり目の

前が真っ白になり何も見えなくなるといった症状が出現していた。14歳5カ月時、中学校で頭部打撲したあと気分不良を訴え、救急外来受診。頭部CTにて大脳基底核の異所性石灰化像を指



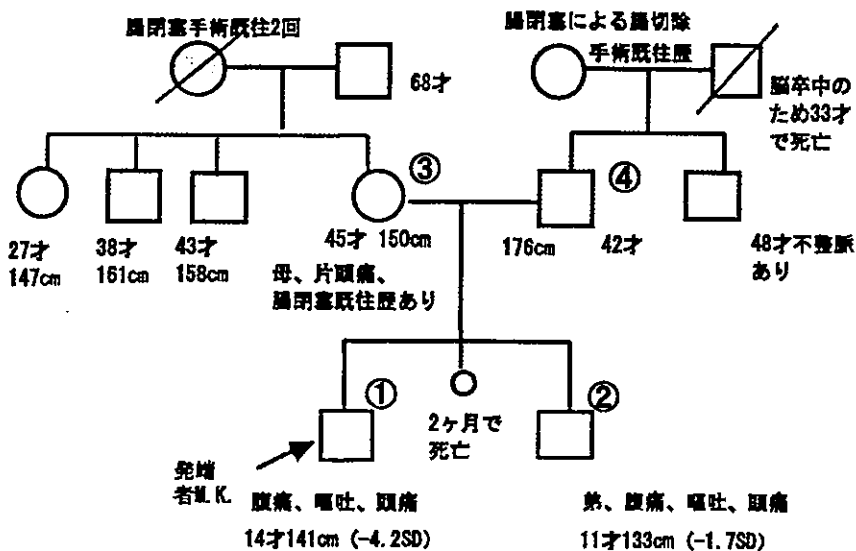


図6 家系図

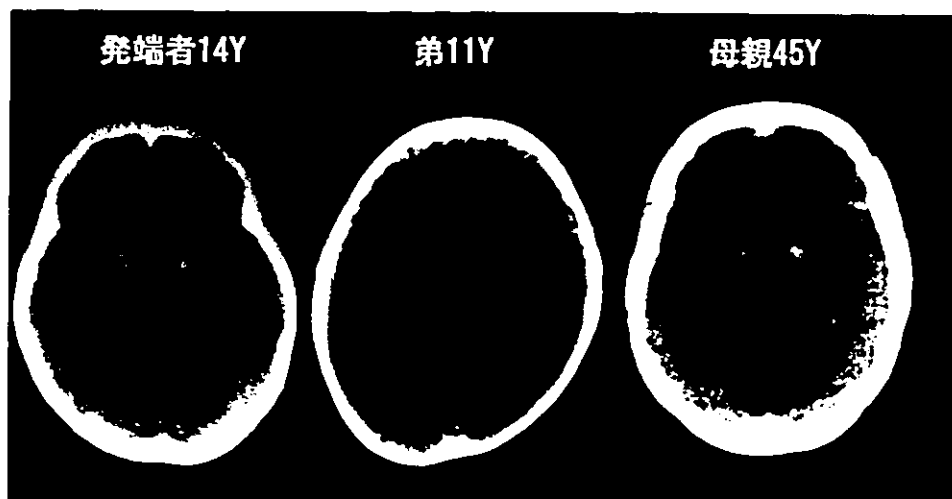


図7 大脳基底核の異所性石灰化

摘された。同年、自宅で急に目が見えなくなると訴えたあと全身性强直性間代性けいれんを起こし、救急搬送された。

4歳若い弟にも頑固な頭痛、低身長などの同じ症状があるために、母親と一緒に頭部CT検査を行ったところ、全員に大脳基底核の異所性石灰化像を認めた(図7)。

### 5. 糖尿病

28歳の男性。II型糖尿病で発症した患者で、末梢血リンパ球検査よりミトコンドリアDNA

の tRNA<sup>Leu</sup> (UUR) 遺伝子の A 3243 G 変異が確認された。筋力低下はなく、他の神経症状は認めない。家系検索を図3 MDM<sup>3243</sup>に示す。

### 6. まだら痴呆症 (MELAS のターミナルステージ)

23歳の女性。12歳で半身けいれん、一過性失明、半盲などの典型的な脳卒中症状で MELAS と診断された。就学前は、やせ形で吐きやすく、運動音痴に気づかれていた。小学校高学年より、後大脳動脈領域の虚血性病変に起因する閃輝暗

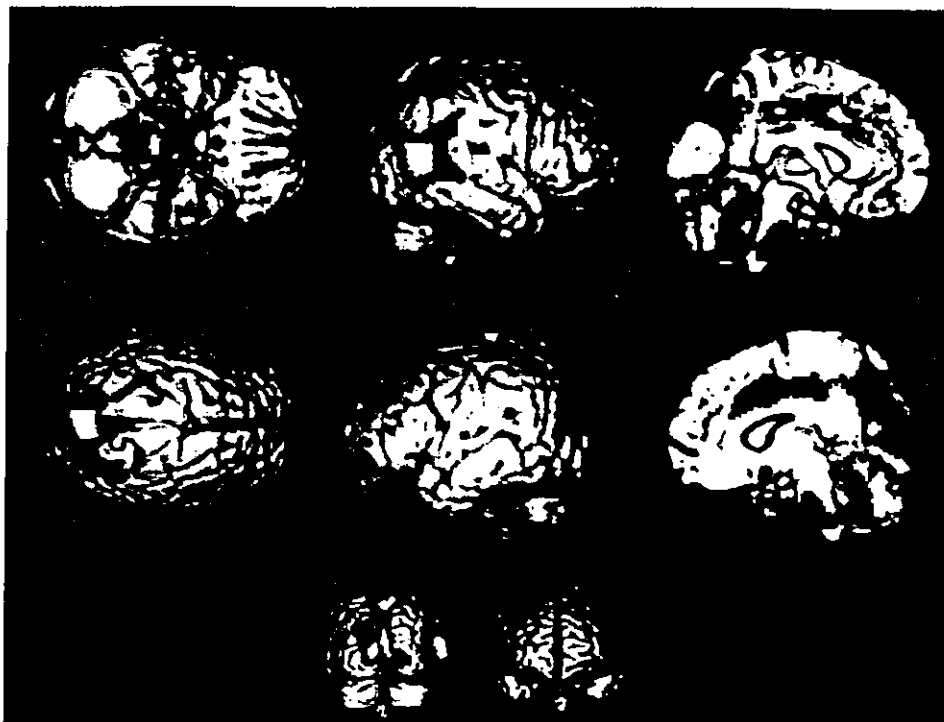


図8 頭部 SPM-SPECT 像

点、もしくは他の部位の脳卒中症状によるけいれんが頻発していた。その後、度重なる脳卒中の後遺障害による不全麻痺、視野異常が進行した。

20歳以後は知的退行が顕著になり、一時は、奇声を発し病棟内徘徊もみられ、精神病院にも紹介入院した。しかし、脳卒中発作時の管理が困難であり、大学病院に転院となった。21歳で完全失明、完全難聴となり、23歳の現在では、チューブ栄養管理で、一日中ベッド上の生活となっている。この症例の頭部 SPM-SPECT 像を示す(図8)。

以上の症例は、いずれもミトコンドリア DNA の tRNA<sup>Leu</sup> (UUR) 遺伝子の A 3243 G 変異をもちながら、異なる臨床症状を呈している。この genotype-phenotype correlation を明確にするために、筋病理上、点変異含量と各病型での筋線維所見との関連を検討した。すなわち、筋線維を SDH(コハク酸脱水素酵素活性染

色：ミトコンドリアの増生を示す染色)と COX (チトクローム C 酸化酵素の活性染色) の染色性により、3群に分けた。RRF で COX 陰性線維、RRF で COX 陽性線維、RRF でなくかつ COX 陽性線維の3群に分け、各々の病型で含有する点変異を検討した。

その結果、Leigh 脳症を呈する症例では、いずれの群でも点変異含量が高度に蓄積しており、他の体細胞でも同様のパターンが確認された。一方、MELAS 症例では、RRF で COX 陰性の筋線維では、点変異の高度の蓄積がみられたものの、他の筋線維ではそのような蓄積はみられず、Leigh 脳症の経過をとる症例と明らかに異なるパターンを示した(図9)⁴)。つまり、すべての体細胞に点変異の高度の蓄積がみられた場合は、Leigh 脳症の病型を取り、変異の蓄積が限定されている場合、MELAS、PEO、もしくはミトコンドリア糖尿病の病型をとることが判明した。

A 3243 G 変異における臨床スペクトルを図

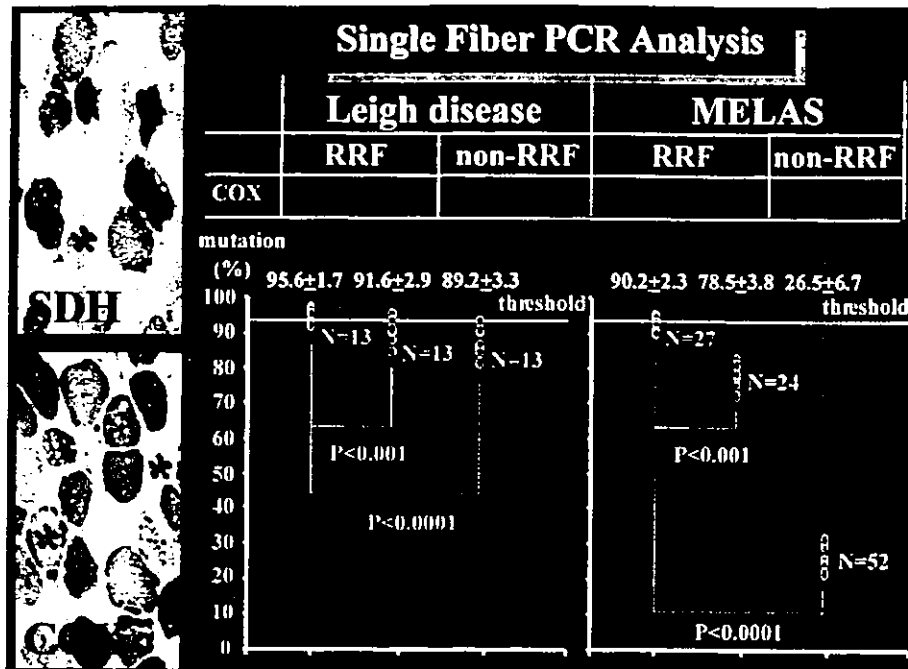


図9 単一筋線維における点変異



図10 ミトコンドリア A 3243 G 変異の臨床スペクトル

10に示す。図で明らかなように、A 3243 G 変異を有する患者の臨床的多様性と変異含量との関係には、一定の相関があると考えられる。ρ<sup>0</sup>細胞での研究成果から、A 3243 G 変異が細胞内で96%を超えると細胞の呼吸活性が急速に低下することが証明されており、1個の細胞内での点変異含量96%がミトコンドリア機能不全をきたす絶対的閾値(threshold)と考えられている。一方、各臓器においては、それぞれのエネルギー需要度(依存度)が大きく異なることから、依

存度の高い臓器(神経細胞、心筋細胞、骨格筋細胞、内分泌腺細胞)においては、それ以下の変異含量であっても、機能不全としての臓器症状が発現すると考えられる。

### III. 急性脳症で発症したミトコンドリア脳筋症

13歳の男児。12歳でてんかんという診断でフォローアップされていた。周産期、生育歴に異常なく、幼少時から小学校高学年までは学業成績も良かった。13歳で初めての閃輝暗点に気づき、頭痛、けいれんで入院となる。入院時の検査で、右下1/4半盲を認め、頭部MRIにて左後頭葉の脳卒中が疑われた(図11)。髄液の高乳酸ピルビン酸血症が存在し、軽度の筋力低下もあり、画像上MELASが疑われた。

呼吸器感染を契機として、患児の意識レベルは徐々に低下し、3桁台の意識レベルの低下を認めたため、当初はヘルペス脳炎も疑われ脳炎

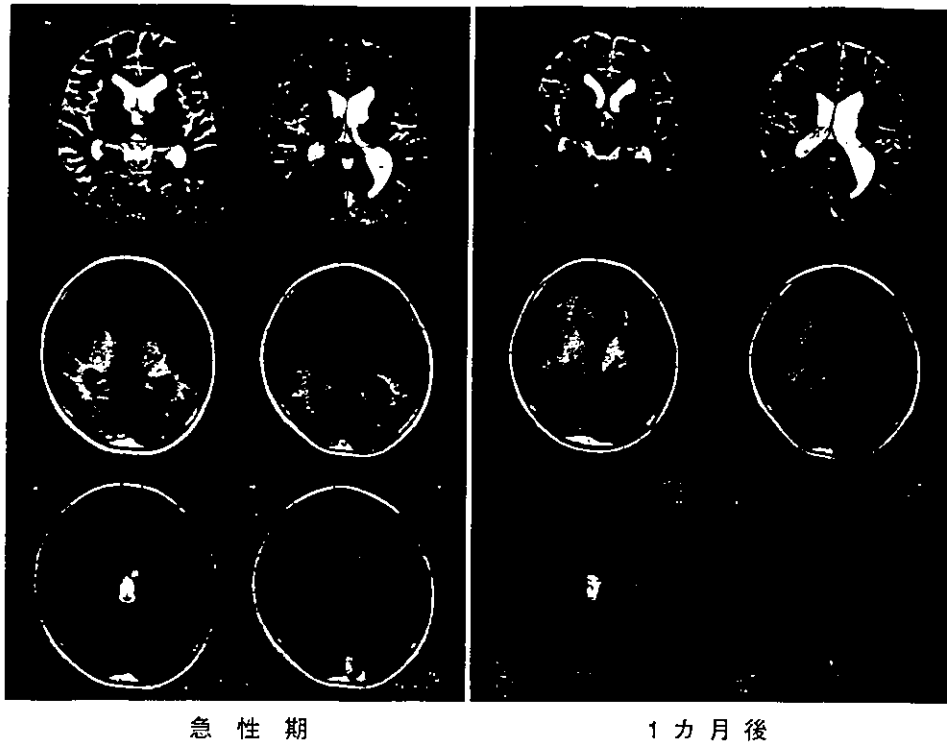


図11 頭部MRI

脳症に準じた治療を行った。しかし、降圧剤、アシクロビル療法にても反応に乏しく、髄液でのヘルペス PCR は陰性で、血清学的にもヘルペス感染症は否定された。アルカリ療法を続けていたが、意識レベルの回復がみられなかったため、ミトコンドリア脳筋症に伴う脳症も否定できず、遷延性の意識障害に対して、TRH 療法を行った。

脳波では、意識障害に特徴的である 1~2 Hz の高振幅徐波が全誘導で確認された。SPM-SPECT 画像では、MRI でははっきりとしなかった大脳基底核領域の血流低下が確認された。この大脳基底核領域の血流低下所見は、意識レベルが回復した 1 カ月後の解析でも残っており、遷延している。本児のミトコンドリア DNA 検索では、MELAS にみられる A 3243 G, T 3271 C 変異は認めず、現在ミトコンドリア DNA の全周塩基配列決定を行っている。

#### IV. Leigh 脳症を呈した Surf-1 遺伝子点変異によるチトクローム C 酸化酵素欠損症

3歳の女児。病歴：在胎 39 週、3,250 g にて出生。周産期特記すべきことなし。発達歴は、首座り 3 カ月、寝返り 8 カ月、お座り 9 カ月、独歩 18 カ月。2 歳時より、右半身のけいれんが 3 回あり、また、けいれん後に一過性の半身不随麻痺、および視力障害を認めた。

家族歴：両親いとこ婚(母親が姉妹)、第 1 子(長男)が生後 3 日目に死亡。3 歳時、肺炎に罹患し嘔吐下痢を契機として精神運動発達の退行がみられ精査目的で入院となる。

現症：外来受診時、身長 80 cm (-2.7 SD)、体重 10 kg (-3.0 SD) と小柄である。脈拍 80、体温 36.5°C、血圧 109/55、心肺に異常所見なし。体格はやせ型であり、全身の筋萎縮を認める。神経学的には病的反射なく、深部腱反射正常。

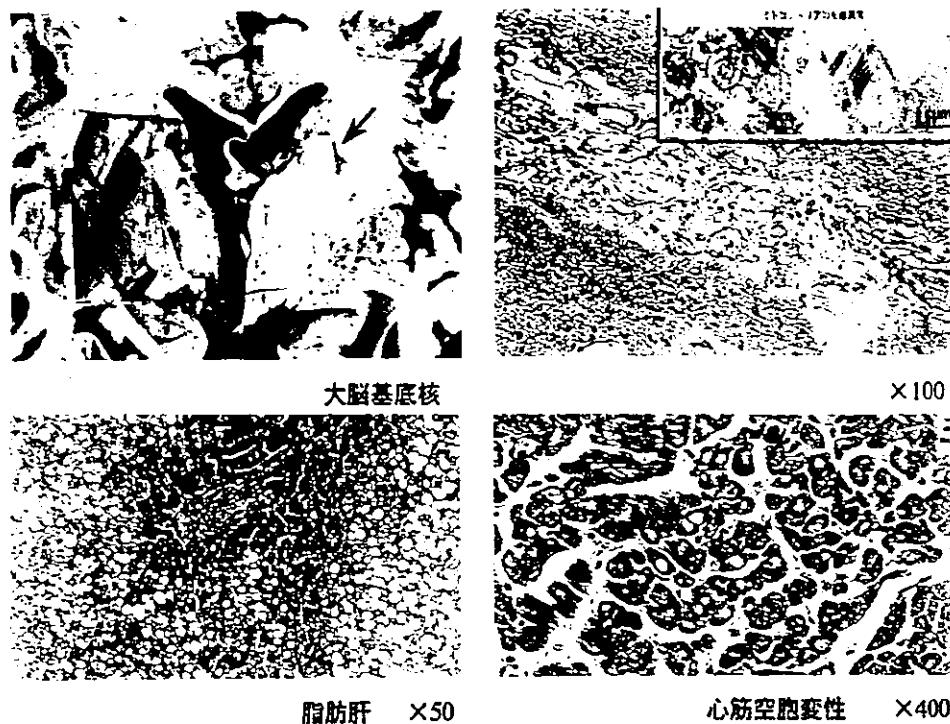


図12 剖検所見

四肢筋力の中等度低下と感音性難聴を認める。発達 は津守・稲毛式でIQ 68。

検査：検血，CRP 正常，GOT 55 単位（正常 40 以下），GPT 45 単位（正常 35 以下），乳酸 80 mg/ml（正常 12 以下），ピルビン酸 2.0 mg/dl（正常 0.7 以下），L/P 比 43。血液ガス pH 7.290，pCO<sub>2</sub>33，pO<sub>2</sub>78.4，HCO<sub>3</sub>15.8，BE -12.3。電解質 Na 136 mEq/l，K 4.1 mEq/l，Cl 105 mEq/l。血清アミノ酸：アラニン 6.7 mg/dl（正常 1.3～4.9）。L/P 比の 20 以上の増加，アニオンギャップ増加を伴う著明な高乳酸ピルビン酸血症と代謝性アシドーシスから，ミトコンドリアの電子伝達系酵素活性の 1 次的異常が疑われた。筋生検では，チトクローム C 酸化酵素活性が低下しており，活性染色でも染色性が著明に低下していた。

あらゆる治療に対して反応なく，患児は，7 歳で多臓器不全にて死亡した。剖検所見を図 12 に示す。大脳基底核は，マクロ所見で肉眼的に壊死像を認め，同部位は光顕で神経細胞の脱落とグリアの増生，毛細血管網の増加を認め，神経

病理学的に Leigh 脳症と診断できた。肝臓には，脂肪変性，心筋細胞には空胞変性を伴う心筋症の所見が得られた。

---

#### V. 精神症状(行動異常)を呈する点変異を伴うミトコンドリア脳筋症

---

13 歳の男児。学校への不適応，対人関係の未熟性，感情の爆発性，頭痛，性格の未熟性，肥満度 25%（高度肥満），異性に対する異常なまでの興味，学校への放火，愉快犯的な問題行動など，さまざまな異常を呈している男児で，軽度の筋力低下を認めたため筋生検を含めた精密検査を行った。その結果，頭部 MRI にて経過とともに異常領域が変化する所見が確認された（図 13）。ミトコンドリア遺伝子異常の検索を行ったところ，ミトコンドリア tRNA<sup>His</sup> の新しい点変異を確認した。生検筋を用いた電子伝達系酵素活性は複合体 I の活性低下を認めた。その結

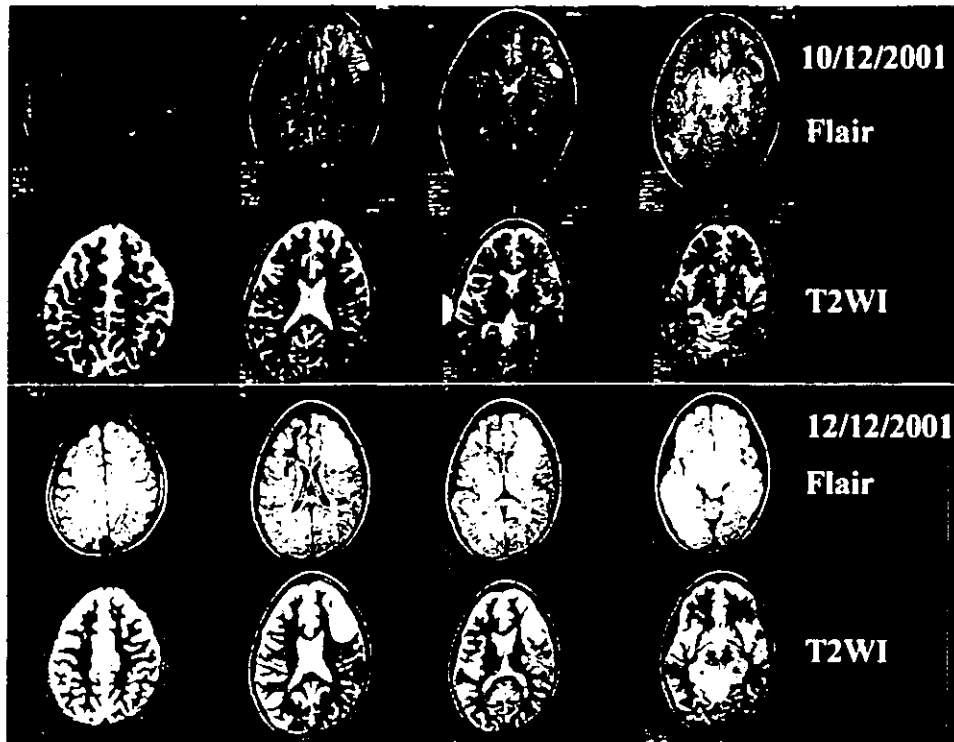


図 13 頭部 MRI

果, ミトコンドリア tRNA 変異による器質的脳障害として外来で経過観察している。

## VI. ま と め

中枢神経系症状は遺伝子異常が判明したミトコンドリア病の主要な症候である。本稿では、その多岐にわたる神経症状を紹介し、その臨床的多様性に関し報告した。日常診療のなかで、ミトコンドリア病を見出す参考になれば幸いである。

## 文 献

- 1) Goto Y, Nonaka I, Horai S : A mutation in the tRNA<sup>LEU(UUR)</sup> gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. *Nature* 348 : 651-653, 1990
- 2) Goto Y, Nonaka I, Horai S : A new mtRNA mutation associated with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS). *Biochem Biophys Acta* 1097 : 238-240, 1991
- 3) Koga Y et al : Heterogeneous presentation in A 3243 G mutation in the mitochondrial tRNA<sup>Leu</sup> (UUR) gene. *Arch Dis Child* 82 : 407-411, 2000
- 4) Koga Y et al : Single-fiber analysis of mitochondrial A 3243 G mutation in four different phenotypes. *Acta Neuropathol (Berl)* 99 : 186-190, 2000

Discussion

## MELAS and L-arginine therapy

Yasutoshi Koga\*

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

Received 30 January 2004; received in revised form 22 February 2004; accepted 23 February 2004

Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS) is a maternally inherited multisystem mitochondrial disorder characterized by stroke-like episodes before 20 years of age [1]. Mitochondrial angiopathy, with degenerative changes in small arteries and arterioles, has been reported in many MELAS patients [2]; these blood vessels have been designated as strongly succinate dehydrogenase-reactive vessels (SSVs) [3]. However, the primary cause for stroke-like episodes in young MELAS patients—whether mitochondrial cytopathy, angiopathy, or both—remains controversial. Many therapeutic trials have been undertaken to cure mitochondrial disorders, but not for the acute stroke phase of MELAS. Based on a hypothesis that stroke-like episodes in MELAS are caused by segmental impairment of vasodilation in intracerebral arteries, L-arginine has been used for therapeutic trials in MELAS patients during the acute phase of stroke. We found that L-arginine therapy quickly decreased severity of stroke-like symptoms in MELAS, enhanced dynamics of microcirculation, and also reduced tissue injury from ischemia [4]. L-arginine is a potent vasodilator via endothelial function through nitric oxide (NO) production [5]. Cardioprotective effects of L-arginine and NO are associated with endothelial cell preservation [6], decreased neutrophil activation [7], improved coronary blood flow, and reduced free radical-mediated injury [8]. Although the molecular mechanism of L-arginine therapy in MELAS is not known, it is a potential new therapy for use at the acute phase of stroke-like episodes in MELAS.

In this paper, Dr Kubota and colleagues have performed a therapeutic trial to a 16-year-old girl with an acute phase of MELAS, using L-arginine infusion in order to improve the symptoms from stroke-like episodes. Among one out of five severe stroke-like episodes, L-arginine was added on the conventional steroid and glycerol therapy at the fifth

episode. The authors described that L-arginine improved the symptoms much earlier than those without L-arginine infusion and shortened the duration of hospitalization. They measured the lactate level by MRS, which is a good indicator of the therapeutic effect. This is a case report describing a successful therapeutic result in MELAS. The finding will provide information about a new therapeutic approach to this currently incurable disease.

### References

- [1] Pavlakis SG, Phillips PC, DiMauro S, Rowland LP. Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes: a distinctive clinical syndrome. *Ann Neurol* 1984;16:481–8.
- [2] Ohama E, Ohara S, Ikuta F, Tanaka K, Nishizawa M, Miyatake T. Mitochondrial angiopathy in cerebral blood vessels of mitochondrial encephalomyopathy. *Acta Neuropathol* 1987;74:226–33.
- [3] Hasegawa H, Matsuoka T, Goto Y, Nonaka I. Strongly succinate dehydrogenase-reactive blood vessels in muscles from patients with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes. *Ann Neurol* 1991;13:1439–45.
- [4] Koga Y, Ishibashi M, Ueki I, Yatsuga S, Fukuyama R, Akita Y, Matsuishi T. Effects of L-arginine on the acute phase of strokes in three patients with MELAS. *Neurology* 2002;58:827–8.
- [5] Wang XL, Sim AS, Badenhop RF, McCredie RM, Wilcken DE. A smoking-dependent risk of coronary artery disease associated with a polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene. *Nat Med* 1996;2:41–5.
- [6] Shiono N, Rao V, Weisel RD, Kawasaki M, Li RK, Mickle DA, et al. L-Arginine protects human heart cells from low-volume anoxia and reoxygenation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282:805–15.
- [7] Kubus P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:4651–5.
- [8] Radomski MW, Moncada S. The biological and pharmacological role of nitric oxide in platelet function. *Adv Exp Med Biol* 1993;344:251–64.

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



# Noonan Syndrome, Moyamoya-like Vascular Changes, and Antiphospholipid Syndrome

Yushiro Yamashita, MD,  
Akira Kusaga, MD,  
Yasutoshi Koga, MD,  
Shin-ichiro Nagamitsu, MD, and  
Toyojiro Matsuishi, MD

This report describes a 12-year-old Japanese female with Noonan syndrome who had antiphospholipid syndrome and moyamoya-like vascular changes. She presented choreic movements in her face and extremities. She manifested phenotypic features of Noonan syndrome with short stature, mental retardation, and a webbed neck. Magnetic resonance angiography revealed occlusion of bilateral internal carotid arteries and moyamoya-like vascular changes around the basal ganglion region. Pimozide completely resolved the patient's choreic movements. Tests for anticardiolipin antibody and lupus anticoagulant were positive. The patient has manifested no symptoms for 2 years with pimozide, aspirin, and growth hormone treatment, without further aggravation of moyamoya-like vascular changes. This article is the first report of Noonan syndrome with antiphospholipid syndrome and moyamoya-like vascular lesions. © 2004 by Elsevier Inc. All rights reserved.

Yamashita Y, Kusaga A, Koga Y, Nagamitsu S, Matsuishi T. Noonan syndrome, moyamoya-like vascular changes, and antiphospholipid syndrome. *Pediatr Neurol* 2004;31:364-366.

## Introduction

Noonan syndrome is characterized by a normal karyotype and clinical features that resemble Turner syndrome. An association between Noonan syndrome and moyamoya has been reported in only two cases [1,2]. In adults, the association between strokes and antiphospholipid antibodies has been established, but such an association with moyamoya disease has not been identified.

This report describes for the first time a first patient with a rare combination of Noonan syndrome, moyamoya-like vascular changes, and antiphospholipid syndrome.

## Case Report

In June 2001, a 12-year-old female experienced difficulty in walking because of involuntary movement in the left upper and lower limbs. She was observed at Saga University Hospital. Cranial magnetic resonance imaging was normal. By the end of June, her symptoms improved. She was diagnosed as having antiphospholipid syndrome because of thrombocytopenia and positive anticardiolipin antibody. None of her family members had similar problems. The family did not return to the hospital because the patient was completely well. In February 2002, however, she had chorea again starting from the right hand and extending to the right foot. In April, her chorea extended to the left side and she began to speak less. The family saw a neurosurgeon, and cranial magnetic resonance angiography revealed moyamoya-like vascular changes. The patient was then referred to Kurume University Hospital for further evaluation and treatment.

On admission, her height was 120.8 cm ( $-5$  SD) and her weight was 27 kg ( $-2$  SD). She had multiple purpura lesions in her extremities. She manifested phenotypic features of Noonan syndrome, including a webbed and short neck, low posterior hair lines, low-set and abnormal auricles, and hypertrichosis. She manifested no signs of lupus or secondary sexual development. The patient had no history of seizures, and no cardiac lesions were evident. There was no family history of thrombosis.

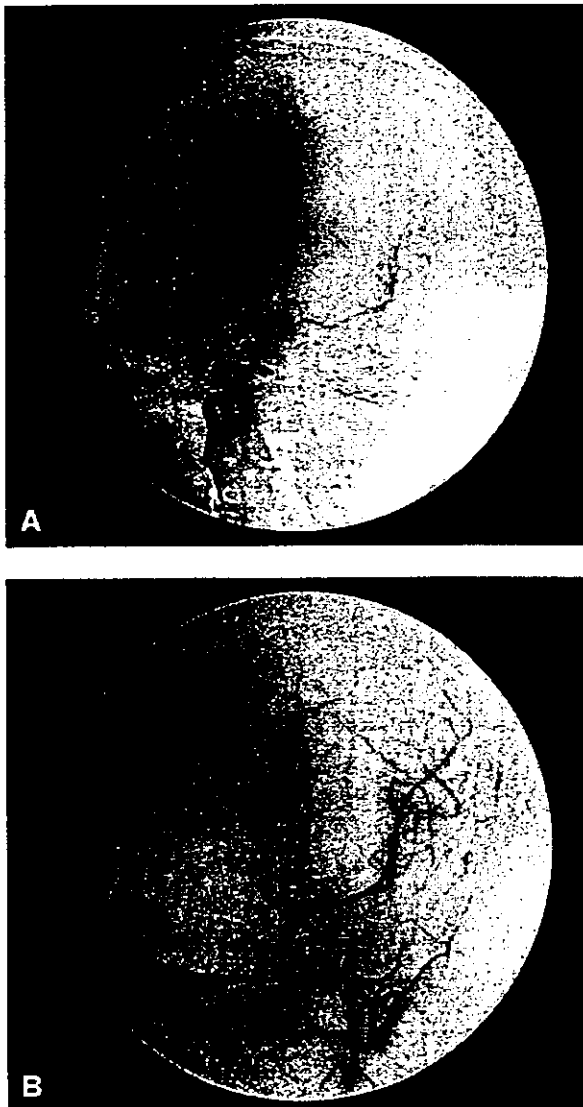
Neurologically, she was alert, but had dysarthria caused by facial chorea. Her chorea was more prominent in the right side upper and lower limbs with hypotonia. Her deep tendon reflexes were elevated, and the Babinski reflex was positive on the right side. Her full intelligence quotient (Wechsler Intelligence Scale for Children—third version [WISC-III]) was 53; verbal intelligence quotient 60, performance intelligence quotient 55. Her social performance was relatively good, and she was in a mainstream classroom.

Complete blood count revealed low platelets (90,000). Prothrombin time and activated partial thromboplastin time were mildly prolonged, and lupus anticoagulant 1.76 (normal  $<1.3$ ), anticardiolipin antibody 100 (normal  $<10$ ), anti-b2 glycoprotein, and antinuclear antibody were positive. Anti-Sm, anti-RNA, anti-SS-A/Ro, and anti-SS-B/La antibodies were negative. Protein C and S were normal. Her bone age was delayed, and growth hormone secretion was abnormal by both an L-arginine and glucagon loading test. Auditory brainstem response and electroencephalogram were normal. The cranial computed tomography revealed mild

From the Department of Pediatrics and Child Health, Kurume University School of Medicine, Kurume, Japan.

Communications should be addressed to:  
Dr. Yamashita; Department of Pediatrics and Child Health;  
Kurume University School of Medicine; 67 Asahi-machi;  
Kurume 830-0011, Japan.  
Received February 2, 2004; accepted May 3, 2004.





**Figure 1.** Cerebral angiogram: Right carotid angiogram indicated severe stenosis of internal carotid artery terminal lesion (A), and left carotid angiogram (B) demonstrated severe stenosis in the supraclinoid segment and collateral moyamoya-like vascular changes distal to the stenosis. The left internal carotid artery was narrower than the left side.

atrophy of the parietal lobe in the right hemisphere. The cranial magnetic resonance imaging revealed low-intensity areas in the basal ganglia on the right side. The cranial magnetic resonance angiography documented bilateral stenosis of the internal carotid arteries, which was more prominent on the right side, and moyamoya-like vascular changes in the bilateral basal ganglia and thalami region (Fig 1). Her chromosome count was normal (46 XX).

The patient was treated with a D2 antagonist, pimozide (1.5 mg/day), and her chorea completely resolved by the end of May. She has manifested no symptoms for 2 years with pimozide, aspirin (100 mg/day), and growth hormone treatment, with no further aggravation of moyamoya-like vascular changes.

## Discussion

This patient was diagnosed with antiphospholipid syndrome because she had thrombocytopenia, positive anti-

cardiolipin antibody, and lupus anticoagulant. These findings were repeatedly demonstrated at 10-month intervals. Furthermore, the patient manifested characteristic features of Noonan syndrome, including short stature, facial and neck abnormalities, mild mental retardation, and a normal karyotype. On magnetic resonance angiography, she also manifested moyamoya-like vascular changes in bilateral carotid arteries and basal ganglia. She was diagnosed with moyamoya disease because she had underlying Noonan syndrome and antiphospholipid syndrome.

Booth et al. have reported a 7-year-old female with an ischemic event in association with repeated elevation of anticardiolipin antibody [3]. They demonstrated bilateral moyamoya-like vascular changes. The patient was treated with warfarin for 5 months, followed by aspirin. Eleven months after the treatment, a marked improvement in blood flow with decreased stenosis of the left internal carotid was observed. They speculated that the development of moyamoya-like vascular changes might be secondary to initial thrombosis and stenosis of the basal cerebral vasculature with subsequent formation of collateral vessels. Takahashi et al. reported eight children with acute hemiplegia, with three being diagnosed as having infarctions due to moyamoya [4]. Anticardiolipin immunoglobulin G antibody was positive in three of the five with idiopathic infarction, but none with moyamoya disease, suggesting that the etiology of the infarct might be distinct from that in the patients with idiopathic infarction. In contrast, Bonduel et al. reported detecting prothrombotic disorders in 4 of 10 patients with moyamoya disease, suggesting its role in the pathogenesis of moyamoya [5]. Shoning et al. reported eight children who suffered from cerebrovascular ischemia or stroke in which antiphospholipid antibodies were detected. In two patients, stenoses of the basal cerebral arteries were present; a 5-year-old female with moyamoya-like vascular changes manifested improved circulation after treatment with aspirin and intravenous immunoglobulin, whereas a male patient required surgery for encephalo-duro-arterio-synangiosis [6].

There have been only two case reports of Noonan syndrome and moyamoya [1,2]. One of these patients had activated protein C resistance, which was thought to be coincidental. Antiphospholipid antibodies were not measured in these cases. Both patients were treated with aspirin and were responsive to nonsurgical therapy.

Encephalo-duro-arterio-synangiosis surgery was also considered for the patient in the present report; we decided not to pursue this route, however, because pimozide dramatically improved her symptoms and no further recurrence or progression of moyamoya-like vascular change occurred. In patients with moyamoya disease or moyamoya-like vascular changes, the possibility of antiphospholipid syndrome should be considered.

---

The authors gratefully acknowledge the assistance of Dr. Muneyuki Matsuo at the University of Saga, Department of Pediatrics.

---

#### References

- [1] Ganesan V, Kirkham FJ. Noonan syndrome and moyamoya. *Pediatr Neurol* 1997;16:256-8.
- [2] Tang KT, Yang W, Wong J, Lee KY. Noonan syndrome associated with moyamoya disease: Report of one case. *Acta Pediatr Tw* 1999;40:274-6.
- [3] Booth F, Yanofsky R, Ross IB, Lawrence P. Primary antiphospholipid syndrome with moyamoya-like vascular changes. *Pediatr Neurosurg* 1999;31:45-8.
- [4] Takahashi J, Sugita K, Miyazato S, Sakao E, Miyamoto H, Niimi H. Antiphospholipid antibody syndrome in childhood strokes. *Pediatr Neurol* 1995;13:323-6.
- [5] Bonduel M, Hepner M, Sciuccati G, Torres AF, Tenenbaum S. Prothrombotic disorders in children with moyamoya syndrome. *Stroke* 2001;32:1786-92.
- [6] Shönig M, Klein R, Krägeloh-Mann I, et al. Antiphospholipid antibodies in cerebrovascular ischemia and stroke in childhood. *Neuropediatrics* 1994;25:8-14.

## L-Arginine improves the symptoms of strokelike episodes in MELAS

**Abstract**—Based on the hypothesis that mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes (MELAS) are caused by impaired vasodilation in an intracerebral artery, the authors evaluated the effects of administering L-arginine, a nitric oxide precursor. Patients were administered L-arginine intravenously at the acute phase or orally at the interictal phase. L-Arginine infusions significantly improved all strokelike symptoms, suggesting that oral administration within 30 minutes of a stroke significantly decreased frequency and severity of strokelike episodes.

NEUROLOGY 2005;64:710–712

Y. Koga, MD, PhD; Y. Akita, MD, PhD; J. Nishioka, MD; S. Yatsuga, MD; N. Povalko, MD; Y. Tanabe, MD, PhD; S. Fujimoto, MD, PhD; and Toyojiro Matsuishi, MD, PhD

Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes (MELAS) is a maternally inherited, multisystem mitochondrial disorder.<sup>1</sup> The primary cause of strokelike episodes in young patients with MELAS, whether mitochondrial cytopathy, angiopathy, or both, remains controversial. Based on the hypothesis that strokelike episodes in MELAS are caused by segmental impairment of vasodilation in intracerebral arteries, we administered L-arginine by IV administration during the acute phase of strokelike episodes and by oral administration during the interictal phase.

**Methods. Patients.** We studied 24 patients referred to the hospital with MELAS diagnosed according to clinical, muscle pathologic, and genetic studies and 72 healthy control subjects (table 1). Patients with congenital anomalies, sepsis, IV hyperalimentation, diabetes mellitus, cardiac failure, or a bedridden state were excluded from this study.

**Study design.** All patients or patients' parents gave written informed consent, and the L-arginine study protocol was approved (Kurume University IRB no. 9715). The study design was chosen because of patients' availability and finances did not permit a balanced, randomized design involving multiple centers. Our strokelike episodes fulfilled the criteria that patients have migraine headache, vomiting, convulsion, and transient blindness with brain image suggesting focal brain abnormality. Twenty-four patients with a total of 34 strokelike episodes took part in this study of L-arginine versus placebo, following a previously described protocol.<sup>2</sup> The severity of a strokelike attack (convulsion, cortical blindness, hemiparesis, or abnormality in brain images associated with headache and vomiting) was similar when either L-arginine or placebo was administered.

From the Department of Pediatrics and Child Health (Drs. Koga, Akita, Nishioka, Yatsuga, Povalko, and Matsuishi), Kurume University School of Medicine, Fukuoka, Japan; Department of Pediatric Neurology (Dr. Tanabe), Chiba Children's Hospital, Chiba, Japan; Department of Pediatrics (Dr. Fujimoto), Nagoya City University School of Medicine, Nagoya, Japan; and Research Centre for Medical Genetics RAMNS (Dr. Povalko), Moscow, Russia.

Supported in part by grants 13670853 and 16390308 from the Ministry of Culture and Education in Japan; H14-006, and H14-team(syouni)-005 from Evidence-based Medicine, Ministry of Health, Labor and Welfare in Japan; Uehara Memorial Foundation; and Morinaga Hoshikai.

Received June 18, 2004. Accepted in final form October 4, 2004.

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

710 Copyright © 2005 by AAN Enterprises, Inc.

Six patients were treated by oral administration of L-arginine to prevent strokelike episodes. Four to 24 g of L-arginine (Arugi U, Ajinomoto Pharma; 0.15 to 0.3 g/kg/d) were given orally for 18 months. Patients were monitored clinically and biochemically as described previously once every 2 weeks. When patients were admitted to the hospital with a strokelike episode, the following symptoms were scored: headache (present: 1, none: 0), vomiting (present: 1, none: 0), teichopsia (present: 1, none: 0), convulsion (present: 1, none: 0) and hemiparesis (present: 1, none: 0).<sup>3</sup> For each admission during the study period, these scores were summed as the severity score for the stroke. Frequency of admission was taken to be the frequency of strokelike episodes. Severity and frequency were related to time as number and month and were compared between periods 18 months before and after oral administration of L-arginine in the same patient.

Analysis of amino acids, asymmetric dimethylarginine (ADMA),<sup>4</sup> nitric oxide (NOx),<sup>5</sup> cyclic guanosine monophosphate (cGMP)<sup>6</sup> were measured using described methods.

**Analysis.** Plasma concentrations of amino acids, NOx, and ADMA in patients in the acute or interictal phase of MELAS were compared with those in controls using unpaired *t* tests, with Bonferroni corrections for outlying values. Concentrations of L-arginine, L-citrulline, NOx, ADMA, and cGMP in plasma obtained before, 30 minutes after, and 24 hours after L-arginine infusion were compared with those in controls using paired *t* tests. Statistical analysis of clinical improvement was performed using Fisher's exact test. Frequency and severity of strokelike episodes in six patients with MELAS after long-term oral L-arginine supplementation were compared with those in the same patients without supplementation using a nonparametric Mann-Whitney *U* test. All data are presented as means  $\pm$  SD. *p* Values of 0.05 or less were considered to indicate significance.

**Results.** Baseline characteristics of the 24 patients and 72 controls are shown in table 1. Mean plasma concentrations of L-arginine and L-citrulline were lower in both acute (L-arginine:  $47 \pm 13$   $\mu$ mol/L; L-citrulline:  $23 \pm 10$   $\mu$ mol/L) ( $p < 0.01$ ) and interictal phases (L-arginine:  $84 \pm 26$   $\mu$ mol/L; L-citrulline:  $26 \pm 10$   $\mu$ mol/L) ( $p < 0.01$ ) of MELAS than in controls (L-arginine:  $108 \pm 28$   $\mu$ mol/L; L-citrulline:  $35 \pm 9$   $\mu$ mol/L). Concentrations of L-arginine in the acute phase were also significantly lower than in the interictal phase, whereas those of L-citrulline did not show a significant phase-related change. NOx concentrations were lower in the acute phase ( $24 \pm 10$   $\mu$ mol/L) ( $p < 0.01$ ) of MELAS than in controls ( $45 \pm 30$   $\mu$ mol/L), whereas in the interictal phase ( $91 \pm 44$   $\mu$ mol/L) ( $p < 0.01$ ), they were higher than in controls. Conversely, concentrations of ADMA did not significantly differ between controls and acute phase, although the ADMA/L-arginine ratio was higher in the acute phase ( $0.011 \pm 0.004$ ) ( $p < 0.01$ ) than in the controls ( $0.005 \pm 0.001$ ) or in the interictal phase ( $0.005 \pm 0.001$ ).

**Table 1** Baseline characteristics of the patients with MELAS and controls

| Variable                       | Patients with MELAS (n = 24) | Controls (n = 72)      |
|--------------------------------|------------------------------|------------------------|
| Age, y (range)                 | 19.6 ± 12.5 (8.2–30.3)       | 21.5 ± 10.4 (4.3–35.4) |
| Gender, M/F                    | 8/16                         | 27/45                  |
| BMI                            | 17.8 ± 3.6*                  | 20.4 ± 2.3             |
| Height                         | -2.2 ± 0.8*                  | 0.2 ± 0.9              |
| Alanine, μmol/L plasma         | 514 ± 164*                   | 406 ± 121              |
| Pyruvate, μmol/L               | 0.22 ± 0.06*                 | 0.08 ± 0.05            |
| Lactate, μmol/L                | 4.5 ± 1.8*                   | 0.8 ± 0.2              |
| L/P ratio                      | 19.8 ± 2.9*                  | 10.5 ± 1.8             |
| Total cholesterol              | 139 ± 27                     | 135 ± 38               |
| LDL cholesterol                | 13.8 ± 3.7                   | 14.6 ± 5.9             |
| A3243G in muscle, %            | 68 ± 16                      | ND                     |
| Ragged-red fibers in muscle, % | 3.6 ± 1.9                    | ND                     |

Plus-minus values are means ± SD.

\*  $p < 0.05$  compared with controls.

MELAS = mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes; BMI = body mass index; L/P = lactate pyruvate; LDL = low density lipoprotein; ND = not detectable.

Symptoms and biochemical measurements after L-arginine therapy in the acute phase of strokelike episodes in MELAS are shown in table 2 and the figure. After administration of L-arginine, all symptoms suggesting stroke dramatically improved. No adverse effects occurred, except headache, when L-arginine was infused too rapidly in two patients. With treatment, concentrations of lactate and pyruvate, L-arginine, L-citrulline, NO<sub>x</sub>, cGMP, and ADMA returned to interictal-phase concentrations within 24 hours.

After oral L-arginine supplementation, the frequency and severity of symptoms caused by the stroke had decreased dramatically. Frequency of strokelike episodes after treatment ( $0.09 \pm 0.09$ ) ( $p < 0.05$ ) decreased compared with before supplementation ( $0.78 \pm 0.42$ ). The severity score after treatment ( $0.17 \pm 0.18$ ) ( $p < 0.05$ ) was also lower than before supplementation ( $2.04 \pm 0.34$ ). After L-arginine supplementation, no patient with MELAS had a major strokelike attack, including hemiconvulsion or hemiparesis, but only headache or teichopsia. Plasma concentrations of L-arginine in patients with MELAS ranged from 82 to 120 μmol/L (mean ± SD  $92 \pm 17$  μmol/L) after initiation of L-arginine supplementation.

**Discussion.** L-Arginine, which plays an important role in endothelium-dependent vascular relaxation, was significantly lower in both the acute and interictal phases of MELAS than in control subjects. Why plasma L-arginine is decreased in the acute phase of MELAS remains to be elucidated. We analyzed the

**Table 2** Effects of L-arginine on the clinical symptoms in acute phase of MELAS

|                                                            | Time after administration |        |        |        |
|------------------------------------------------------------|---------------------------|--------|--------|--------|
|                                                            | Before                    | 15 min | 30 min | 24 h   |
| Headache (improvement of score from 3/2 to 1/0)            |                           |        |        |        |
| L-Arginine                                                 | 0/22                      | 2/22   | 18/22* | 21/22* |
| Placebo†                                                   | 0/12                      | 0/12   | 1/12   | 1/12   |
| Clinical disability (improvement of score from 3/2 to 1/0) |                           |        |        |        |
| L-Arginine                                                 | 0/22                      | 3/22   | 16/22* | 20/22* |
| Placebo†                                                   | 0/12                      | 0/12   | 1/12   | 1/12   |
| Nausea                                                     |                           |        |        |        |
| L-Arginine                                                 | 0/22                      | 2/22   | 15/22* | 22/22* |
| Placebo†                                                   | 0/12                      | 0/12   | 0/12   | 1/12   |
| Vomiting                                                   |                           |        |        |        |
| L-Arginine                                                 | 0/22                      | 3/22   | 18/22* | 22/22* |
| Placebo†                                                   | 0/12                      | 0/12   | 0/12   | 1/12   |
| Hemi-blindness (transient)                                 |                           |        |        |        |
| L-Arginine                                                 | 0/7                       | 2/7    | 4/7*   | 7/7*   |
| Placebo†                                                   | 0/4                       | 0/4    | 1/4    | 1/4    |
| Teichopsia                                                 |                           |        |        |        |
| L-Arginine                                                 | 0/22                      | 0/22   | 8/22*  | 19/22* |
| Placebo†                                                   | 0/12                      | 0/12   | 0/12   | 0/12   |

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.

† 5% dextrose (0.5 g/kg/dose) in eight episodes, and D-arginine in four episodes.