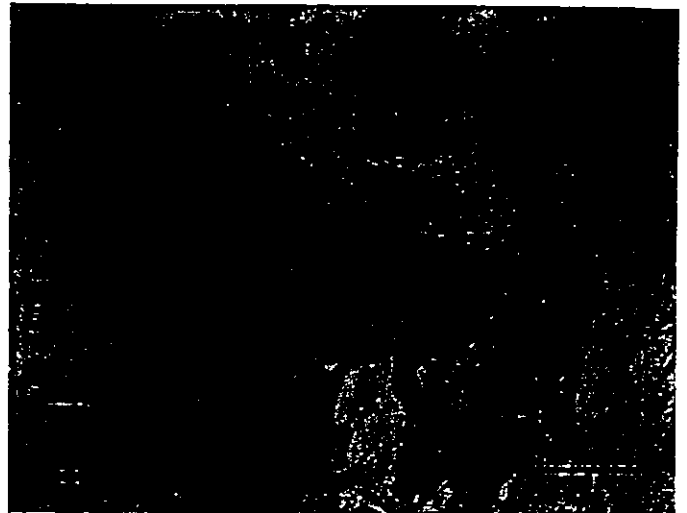
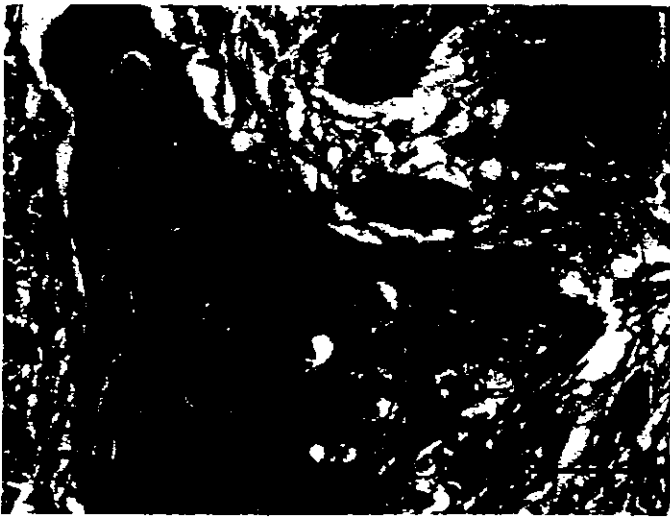


Figure 4



Supplemental information

Table S1. Characterization of ESCC patients and tissues. Tumors from surgical ESCC specimens were immunohistochemically analyzed for Mimitin, Ki-67, and c-Myc. G1, well differentiated; G2, moderately differentiated; G3, poorly differentiated.

<u>Patient</u> No. (Sex, Age)	Stage	Pathological Grade	<u>Mimitin staining</u>			<u>Ki-67 staining</u>			<u>c-Myc staining</u>		
			Intensity	%	Index	Intensity	%	Index	Intensity	%	Index
1 (M, 62)	I	G2	2	86	1.72	3	89	2.67	1	58	0.58
2 (M, 72)	III	G1	1	56	0.56	3	83	2.49	2	82	1.64
3 (M, 77)	I	G3	2	71	1.42	1	12	0.12	2	79	1.58
4 (M, 56)	III	G1	3	93	2.79	3	84	2.52	2	90	1.8
5 (M, 59)	III	G1	2	82	1.64	3	64	1.92	2	85	1.7
6 (M, 60)	IIa	G1	2	91	1.82	3	63	1.89	2	87	1.74
7 (M, 67)	IV	G2	2	91	1.82	3	49	1.47	0.5	19	0.1
8 (M, 67)	III	G2	2	85	1.7	3	39	1.17	0	0	0
9 (M, 69)	III	G2	3	85	2.55	4	71	2.84	3	81	2.43
10 (M, 51)	I	G2	3	34	1.02	0	0	0	0.5	56	0.28
11 (M, 49)	III	G2	3	67	2.01	3	84	2.52	3	94	2.82
12 (M, 47)	I	G3	3	95	2.85	3	65	1.95	3	92	2.76
13 (M, 57)	IV	G1	3	92	2.76	4	60	2.4	0.5	55	0.28
14 (M, 69)	III	G2	3	95	2.85	3	71	2.13	3	90	2.7
15 (F, 71)	IIa	G2	2	95	1.9	1	26	0.26	3	90	2.7
16 (M, 64)	III	G1	2	63	1.26	3	42	1.26	2	97	1.94
17 (M, 59)	III	G2	1	30	0.3	0	0	0	3	98	2.94
18 (M, 46)	III	G2	2	60	1.2	3	51	1.53	3	75	2.25
19 (M, 70)	I	G2	2	82	1.64	4	40	1.6	3	98	2.94
20 (M, 68)	IV	G2	2	44	0.88	0	0	0	2	64	1.28
21 (F, 76)	I	G2	2	95	1.9	4	55	2.2	3	90	2.7
22 (M, 68)	IIa	G1	1	43	0.43	0.5	6	0.03	2	47	0.94
23 (M, 41)	IIa	G3	2	43	0.86	3	30	0.9	1	46	0.46
24 (M, 66)	III	G2	2	32	0.64	2	18	0.36	1	53	0.53
25 (M, 65)	III	G2	3	92	2.76	2	18	0.36	3	57	1.71
26 (M, 66)	IIa	G1	3	88	2.64	4	72	2.88	3	90	2.7
27 (F, 71)	III	G3	3	94	2.82	4	95	3.8	2	79	1.58
28 (M, 50)	IV	G1	2	63	1.26	2	49	0.98	2	91	1.82
29 (M, 61)	IV	G1	4	98	3.92	4	93	3.72	3	93	2.79
30 (M, 67)	IV	G3	2	98	1.96	2	48	0.96	0	0	0
31 (M, 66)	IIb	G3	1	72	0.72	0	0	0	0	0	0
32 (M, 57)	IV	G1	2	78	1.56	4	47	1.88	3	81	2.43
33 (M, 61)	III	G1	0	0	0	0.5	6	0.03	0	0	0
34 (M, 80)	IIa	G1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35 (M, 63)	III	G2	2	95	1.9	3	47	1.41	3	96	2.88

# MELAS の新しい治療法—L-アルギニン

古賀靖敏<sup>1)</sup>

[KEYWORDS] ミトコンドリア病, MELAS, L-アルギニン, 脳卒中, 電子伝達系酵素欠損, ミトコンドリア DNA の変異, NO, 血管内皮機能, ADMA, 治療法

## 1. はじめに

ミトコンドリア病(ミトコンドリア脳筋症)は、細胞のなかのエネルギー産生の中核であるミトコンドリアの異常で脳や筋肉の機能が低下する病気である。この一病型である MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes) は、小児期に脳卒中様の発作を繰り返し、ひいては、精神運動面の退行をきたし、早期に死に至る慢性進行性の難病である。本症における脳卒中発作の成因は、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。MELAS 患者では、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傷害されていた。さらに、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一酸化窒素(NO)の代謝産物(NOx)が有意に低下しており、かつ ADMA (asymmetrical dimethyl arginine) が相対的に増加していることがわかった。MELAS 患者の脳卒中様発作急性期に L-アルギニンを静注することで、脳虚血からくる神経症状が注射後 30 分

内に劇的に改善した。また、脳卒中様発作寛解期の患者で、L-アルギニンを内服することで、患者の脳卒中様発作の重症度および頻度を有意に低下することが判明した。MELAS に対する L-アルギニン療法は、発作急性期の静注による特効薬の効果のみでなく、発作間歇期の予防的内服薬剤としても期待される。

## 2. MELAS とは?

小児期に発作性の頭痛、嘔吐、半身けいれんで発症し、脳卒中様の発作を特徴とするミトコンドリア病の一病型である。本疾患は、1986年、コロンビア大学の神経内科医 Pavlakis により初めて臨床的に報告された<sup>1)</sup>。2003年の全国調査で、日本においては約 233 名が罹患し、122 名が小児科でフォローアップされている<sup>2)</sup>。80%の患者でミトコンドリア DNA の tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 遺伝子の A 3243 G 変異が<sup>3)</sup>、また、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<sup>4)</sup>、その後多くの点変異が見いだされた。典型的な症状は、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)と中小動脈壁の異常染色性(SSV: strongly SDH hyperreactive blood vessels)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

1) KOGA Yasutoshi 久留米大学医学部医学科 小児科学・助教授

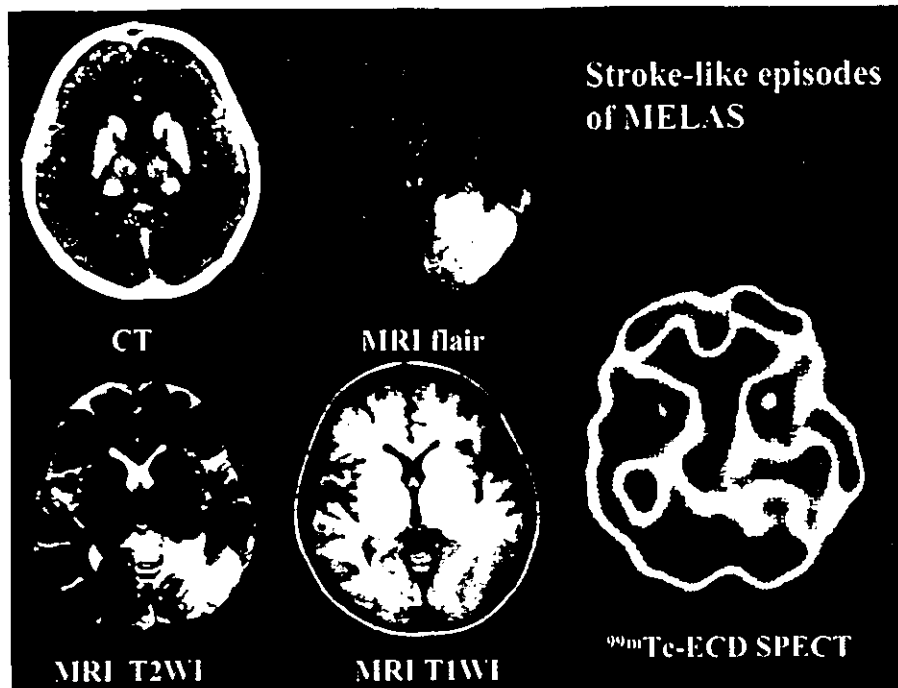


図1 MELAS の頭部画像

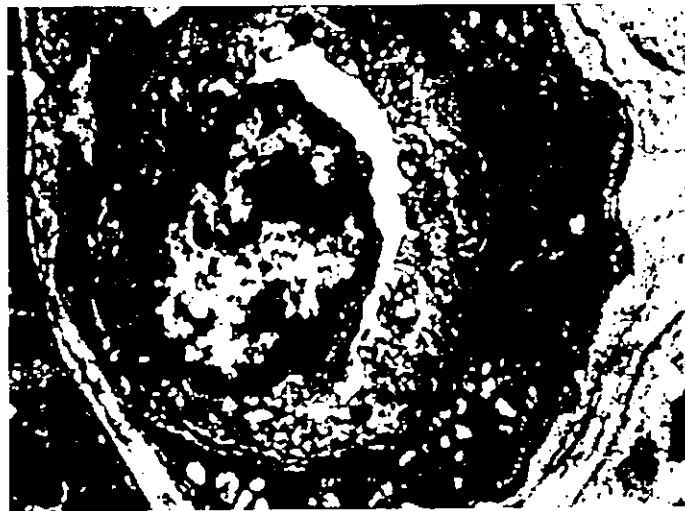


図2 MELAS 患者の筋内動脈の電子顕微鏡所見

有することを示している。

### 3. 頭部画像所見

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(図1)。発作は連続で起こるときもあれば、数か月寛解期をみることもある。発作時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. MELAS における脳卒中様発作の成因

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。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、以下に挙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 ragged-red fiber (RRF) があり、

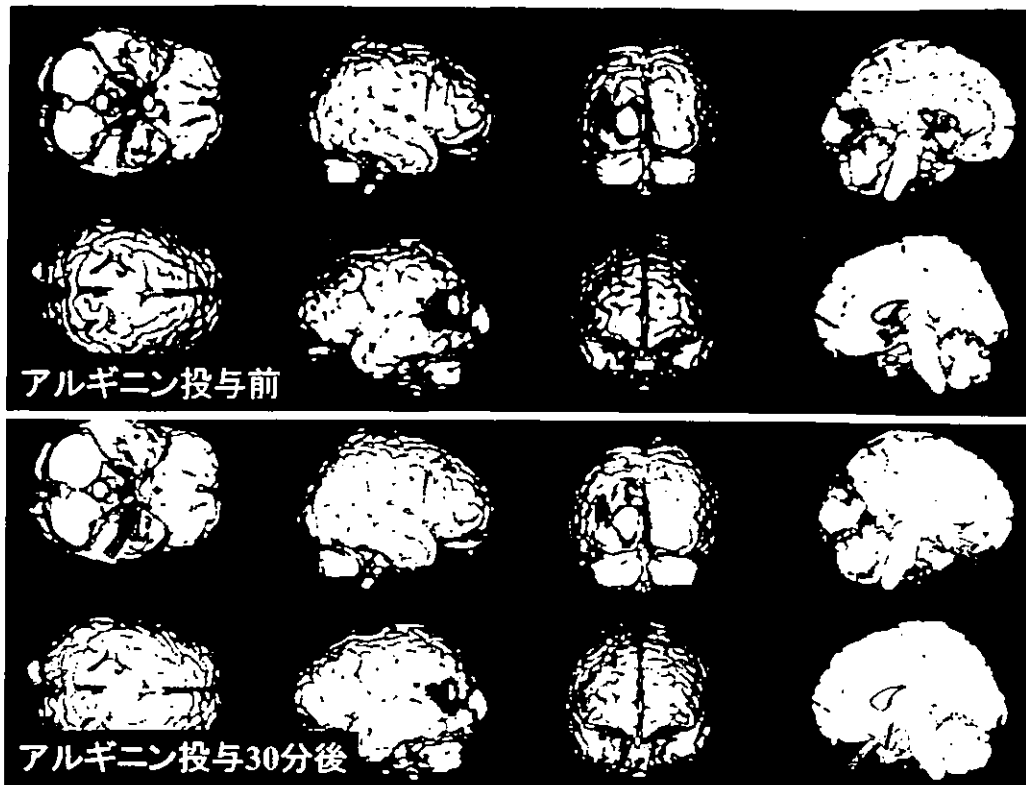


図3 L-アルギニン投与前後のSPM-SPECT画像

- 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 (strongly SDH positive blood vessels)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。
  - (3) 血管の閉塞性病変が存在する(図2)<sup>6)</sup>。
  - (4) 血管内皮の機能異常が存在する。MELAS患者の内皮機能を測定したところ、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た。
  - (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が相対的に増加している<sup>6,7)</sup>。
  - (6) L-アルギニンは、動脈の拡張機能に中核的役割を行う。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

患者の脳卒中様発作急性期では、有意に低下しており、したがって、NO産生の総量を表すNOxは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<sup>7)</sup>。

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(特に内皮機能不全)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のリスクファクターになっていると考える。

#### 5. MELASの脳卒中様発作急性期におけるL-アルギニン療法の効果

われわれは、脳卒中をきたすミトコンドリア病の急性期にL-アルギニンを投与し、速やかに脳卒中症状が改善したことを報告した<sup>6)</sup>。主な内容として、投与量:L-アルギニン10%溶液で5ml/kg/hr、投与方法:右上腕より点滴静注、有効性:閃輝暗点を除く脳卒中様症状に有効である。安全性:副作用としての頭痛が1例あった

が、肝障害、発疹などの重篤副作用は見られず、頭痛を訴えた症例も投与速度を落としたら頭痛の症状は消失した。血圧に対しては、投与前に比較し最高血圧の10 mmHg以下の血圧低下が投与開始後30分でみられたが、血圧低下による副作用の症状はなかった。

#### 1) 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、各急性期症状の改善率を検討した。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。半身痙攣は、投与前 5 例見られたが、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 例に見られたが、投与 30 分後には消失した。閃輝暗点は、投与前 9 例に見られたが、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<sup>7)</sup>。

#### 2) 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、ADMA 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 時間の各血中濃度推移を検討した<sup>7)</sup>。

##### (1) 血中 L-アルギニンおよび L-シトルリン濃度の推移

投与前の血中 L-アルギニン濃度においては、正常値( $108.1 \pm 27.6 \mu\text{mol/l}$ )に比べ約 1/2

( $46.99 \pm 13.01 \mu\text{mol/l}$ )に低下していたが、投与 15 分後には、最大血中濃度( $9,542.27 \pm 1,169.91 \mu\text{mol/l}$ )を示し、その後徐々に低下し 24 時間後には、ほぼ正常値( $92.41 \pm 15.85 \mu\text{mol/l}$ )となった。血中 L-シトルリンにおいては、正常値( $34.6 \pm 8.8 \mu\text{mol/l}$ )とほぼ同じであった投与前値( $21.27 \pm 9.27 \mu\text{mol/l}$ )が、L-アルギニンの最大血中濃度より少し遅れて投与 30 分後に最大血中濃度( $41.54 \pm 13.04 \mu\text{mol/l}$ )を示した。

##### (2) 乳酸、ピルビン酸、L/P 比の推移

ピルビン酸は、L-アルギニン投与後、徐々に低下し投与 24 時間後には有意に低下した( $0.17 \pm 0.03 \mu\text{mol/l}$ )。乳酸は、L-アルギニン投与後に上昇し投与 30 分後には最大血中濃度( $7.28 \pm 0.55 \mu\text{mol/l}$ )を示したが、投与 24 時間後には、有意に低下した( $3.35 \pm 0.49 \mu\text{mol/l}$ )。L/P 値は、乳酸およびピルビン酸の変動に伴い、投与 30 分後に最大血中濃度( $28.02 \pm 8.15$ )を示し、投与 24 時間後には、ほぼ投与前の値( $19.16 \pm 4.41$ )となった。

##### (3) 血中 NOx、c-GMP、ADMA 濃度の推移

NOx は、投与後 30 分に有意に上昇し( $55.88 \pm 20.40 \mu\text{mol/l}$ )、24 時間後も高い血中濃度( $29.06 \pm 9.68 \mu\text{mol/l}$ )を示した。c-GMP は、投与後 30 分に有意に上昇し( $0.86 \pm 0.16 \mu\text{mol/l}$ )した。ADMA は、L-アルギニン投与後 15 分、30 分と有意に上昇し、投与 30 分後に最大血中濃度( $0.87 \pm 0.11 \mu\text{mol/l}$ )を示したが、投与 24 時間後には投与前の値以下まで低下した(図 3)。

##### (4) L-アルギニン投与の頭蓋内血流動態に及ぼす影響

3 名の MELAS 患者に対して、脳卒中発作時 L-アルギニン投与を行い、その前後で頭部 <sup>99m</sup>Tc-ECD-SPECT を実施した。L-アルギニン投与 1 時間後には、臨床症状の改善とともに、虚血部位の局所的脳血流(rCBF)の改善が認められた。ROI による虚血部位の血流増加率は、健常側同部位の血流比で算出し、11~13%であった。

##### (5) 副作用

L-アルギニン投与後に L-アルギニン投与によるものと思われる軽度の嘔気が 2 例に認められたが、経過観察により 2~3 時間で消失し、特に問

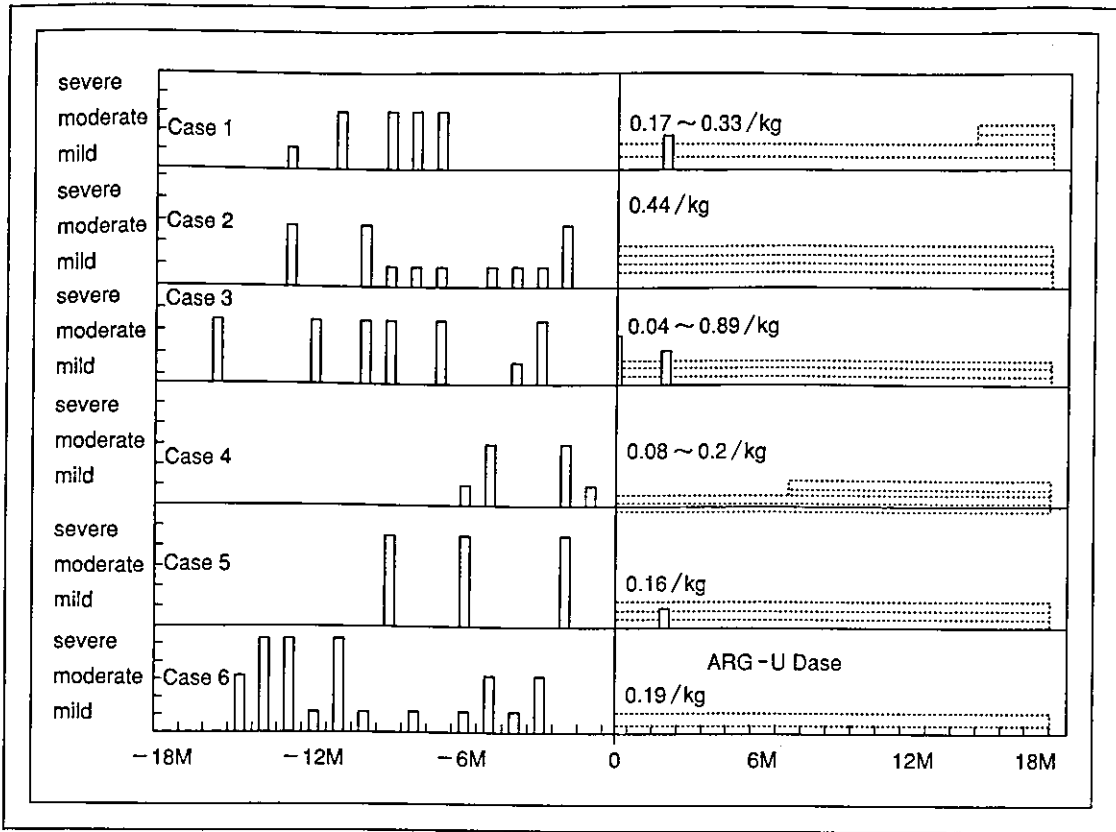


図4 L-アルギニンの脳卒中予防効果

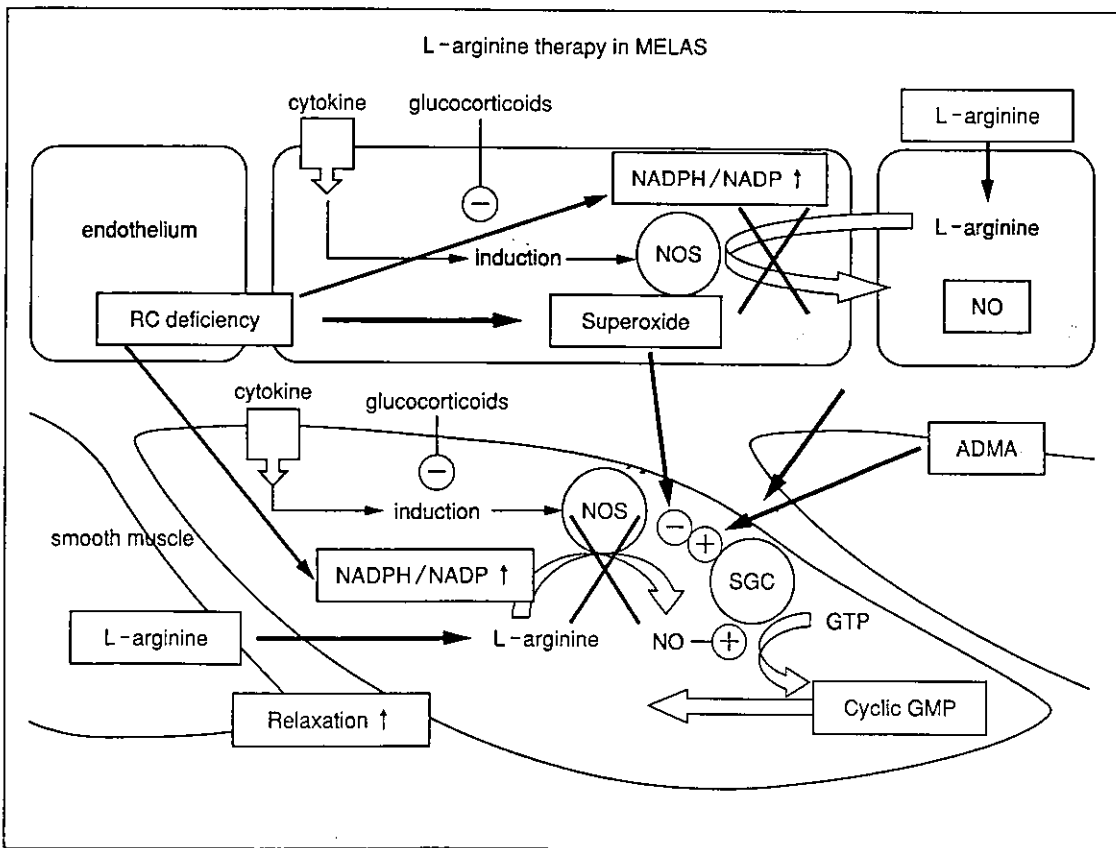


図5 MELAS 患者における血管拡張機能障害  
 RC deficiency: 電子伝達系酵素欠損  
 ADMA: asymmetrical dimethyl arginine

題となるものではなかった。

#### 6. MELAS の発作寛解期における予防効果

過去 18 か月間に頻回に脳卒中様発作を起こしている MELAS 患者 6 名に対して、L-アルギニンの内服させ、発作予防効果について検討した。その結果、患者では、発作の重症度および頻度共に有意に低下したことが判明した(図 4)。

#### 7. おわりに

MELAS 患者の脳卒中様発作発現時における NO の供与体である L-アルギニンの投与は、低下している血中 L-アルギニン濃度を上昇させ、脳の小中動脈の急性虚血性障害を著明に改善させることが多くの患者で確認され、その効果がより明確となった(図 5)。MELAS 患者に対する L-アルギニン投与は、MELAS 患者の脳卒中様発作急性期のみでなく、発作寛解期の予防にも極めて有効な治療法であると考えられる(図 5)。

#### 文 献

1) Pavlakis SG, Phillips PC, DiMauro S, et al : Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes ; a distinctive clinical syndrome. Ann Neurol 16 : 481-488,

1984

2) 古賀靖敏 : 厚生労働科学研究費補助金 効果的医療技術の確立推進臨床研究事業「小児期発症のミトコンドリア脳筋症に対する L-アルギニンおよびジクロロ酢酸療法の効果判定と分子病態を踏まえた新しい治療法開発に関する臨床研究」研究課題番号(H14-小児-006)。平成 14 年度研究報告書 平成 15 年 3 月

3) 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

4) 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

5) Ohama E, Ohara S, Ikura F, et al : Mitochondrial angiopathy in cerebral blood vessels of mitochondrial encephalomyopathy. Acta Neuropathol 74 : 226-233, 1987

6) Koga Y, Ishibashi M, Ueki I, et al : Effect of L-arginine on the acute phase of strokes in three patients with MELAS. Neurology 58 : 827-828, 2002

7) Koga Y, Akita Y, Nishioka J, et al : L-arginine improves the symptoms of stroke-like episodes in MELAS. Neurology 2005 (in press)

## MEDICAL BOOK INFORMATION

医学書院

<日本医師会生涯教育シリーズ>

### 腹部エコーの ABC 第 2 版

編集・発行 日本医師会  
監修 竹原靖明  
編集 竹原靖明・秋本 伸・木村邦夫・跡見 裕  
B5 頁 460 2004 年  
定価 5,775 円(本体 5,500 円 + 税 5%)  
[ISBN4-260-17517-3]

日本医師会生涯教育シリーズ。最もわかりやすい腹部エコー入門書として大ベストセラーになった初版を、読者の熱い要望にこたえて大幅改訂。豊富な症例と簡潔な解説はそのままだが、頻度の高い重要な疾患を改めて厳選し、写真・記述ともに時代に合ったクオリティに刷新した。初心者のみならず超音波診断に携わる医療者すべてに必要な十分な 1 冊。

## 診療・研究に活かす病理診断学

消化管・肝胆膵編

編集 福嶋敬宜  
著 福嶋敬宜・二村 聡・太田雅弘・入江準二  
B5 頁 272 2004 年  
定価 6,825 円(本体 6,500 円 + 税 5%)  
[ISBN4-260-10661-9]

この 1 冊で病理診断に強い消化器医といわれよう！ 今、現場に必要な消化器検体提出時の注意点・病理診断報告書の読み方から、明日の一步に差をつける学会・論文発表のコツまで、臨床で共に働く病理医が、病理情報活用の術を丁寧に解説。入門・基礎・応用・資料編の 4 部構成。豊富なシエマ・写真が読者個人に必要な情報を届ける。