

Patient Report

Congenital form of glycogen storage disease type IV: A case report and a review of the literature

KEINCHI MARUYAMA,² TOMOKO SUZUKI,² TAKENOBU KOIZUMI,² HIDEO SUGIE,¹ TOKIKO FUKUDA,¹ MASATAKA ITO¹ AND JUNKO HIRATO³

¹*Department of Pediatric Neurology, Hamamatsu City Medical Center for Developmental Medicine, Hamamatsu,* ²*Department of Neonatology, Gunma Children's Medical Center, Gunma, and*

³*First Department of Pathology, Gunma University School of Medicine, Gunma, Japan*

Key words glycogen storage disease type IV, hydrops fetalis, respiratory distress.

Glycogen storage disease (GSD) type IV is a very rare autosomal recessive disorder, which is caused by deficiency of alpha-1,4-glucan:alpha-1,4-glucan 6-glycosyl transferase, also known as the branching enzyme. The most common clinical feature is hepatosplenomegaly in the infantile period, and progressive liver cirrhosis results in death by 5 years of age. The disease, however, has been revealed to include three other clinical subtypes: congenital subtype, which is characterized by severe neonatal hypotonia or fetal death; childhood subtype, which starts between 2 and 7 years of age with cardiomyopathy; and adult subtype, in which adult onset myopathy is predominant.¹ Among the four clinical subtypes, the congenital one is the most severe variant of the disease and only a few cases have been reported.^{1–9} Here we report additional cases, in whom the clinical and pathological findings were consistent with the congenital form of GSD type IV and the diagnosis was made enzymologically.

Case reports

Case 1

A boy was delivered to a 36-year-old G1P1 mother by cesarean section at 37 weeks and 4 days' gestation because she had a history of cesarean section. His birthweight was 2616 g and the Apgar scores were 2 and 3 at 1 and 5 min after birth. The family history was unremarkable. Since about 2 weeks before the delivery, the mother had had reduced fetal movement and polyhydramnios. Shortly after birth he was

endotracheally intubated. When he was admitted to Gunma Children's Medical Center, Gunma, Japan, at 1 h after birth, severe hypotonia was seen, and X-ray examination revealed cardiomegaly. The serum aspartate aminotransferase (ASAT) was 120 IU/L; alanine aminotransferase (ALAT) was 25 IU/L; lactic acid dehydrogenase (LDH) was 1617 IU/L; alkaline phosphatase (ALP) was 782 IU/L; and creatine phosphokinase (CPK) was 2154 IU/L. Blood gas analysis revealed pH, 7.39; PaO₂, 421.1 mmHg; PaCO₂, 22.3 mmHg; and base excess, –11.0 mmol/L. Although he was treated with mechanical ventilation and inotropic drugs, he had had bradycardia since 7 h after birth and he died at 14 h after birth. Pathological findings showed that the hepatocytes, cardiomyocytes and skeletal muscle cells contained slightly basophilic masses which were periodic acid-Schiff (PAS)-positive and diastase-resistant. In addition, the heart included cardiomyocytes with vacuoles. In the vacuoles, there were PAS-positive granules, which were also observed in the hepatocytes, hepatic histiocytes and nerve cells of the brain stem nuclei, thalamus and cerebellum (Fig. 1). As accompanying lesions, he had multiple thrombosis in the lungs and hemorrhagic lesions in the subdural and subarachnoid space, lungs, gastrointestinal tract, heart, kidneys and testes, and these findings suggested that he had disseminated intravascular coagulation. Biochemical analysis of branching enzyme with a frozen and preserved autopsy specimen of the liver revealed that activity of the enzyme was 0.1 Pi mg/min per mg (normal controls, 14.7 and 11.6 Pi mg/min per mg).

Case 2

Two years after the birth of Case 1, his younger sister was born by cesarean section at 34 weeks and 6 days' gestation, weighing 2544 g. The Apgar scores were 2 and 4 at 1 and 5 min after birth. The mother had had polyhydramnios since 29 weeks' gestation, and ultrasonography revealed fetal

Correspondence: Kenichi Maruyama, Department of Neonatology, Gunma Children's Medical Center, 779 Shimohakoda, Hockitsu, Gunma 377-8577, Japan. Email: maruken@gcmc.pref.gunma.jp

Received 22 July 2003; revised 17 November 2003; accepted 22 December 2003.

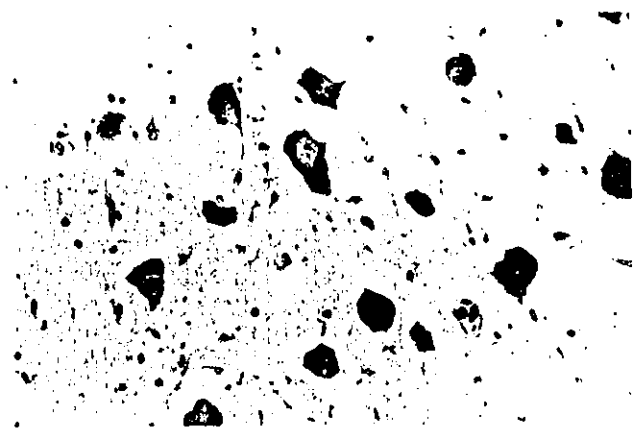


Fig. 1 Medulla oblongata of Case 1. Periodic acid Schiff (PAS)-positive granular deposits are seen in the cytoplasm of neuronal cells (PAS, $\times 400$).

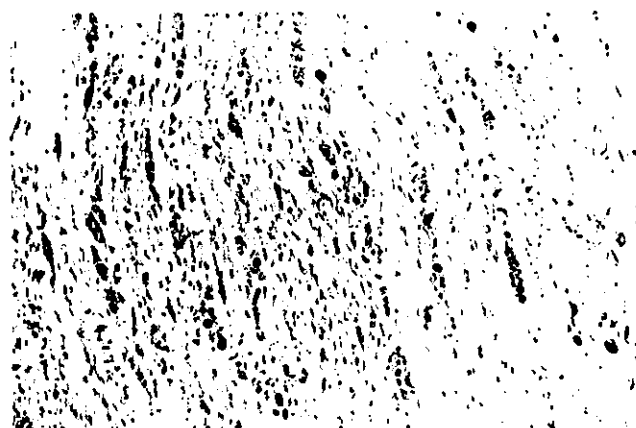


Fig. 2 Iliopsoas muscle of Case 2. Various sizes and shapes of Periodic acid Schiff (PAS)-positive substances are observed in the myocytes (PAS, $\times 200$).

hydrothorax at 34 weeks' gestation. At birth, the patient had subcutaneous edema, hypotonia, poor spontaneous respiration and response to very painful stimuli. An X-ray showed decreased aeration in both lungs and right-sided hydrothorax. The serum ASAT was 70 IU/L; ALAT, 19 IU/L; LDH, 1298 IU/L; ALP, 600 IU/L; and CPK, 1474 IU/L. Mechanical ventilation and continuous chest drainage were commenced. Cells in the pleural fluid consisted of mononuclear cells. Because the effusion was reduced, enteral feeding started at 3 days of age. At 7 days of age, chylous effusion appeared in the right thoracic cavity again, and an X-ray showed both-sided pleural effusion at 10 days of age. She needed chest drainage until 25 days of age. Although her patent ductus arteriosus became symptomatic at 36 days of age, it was successfully treated with indomethacin. Joint contracture of the extremities had been apparent since the second week of life. Since Case 1 was diagnosed as having GSD type IV, we analyzed her red blood cells yielded at 38 days of age, and very low activity of the branching enzyme was seen (the patient, 0.05 $\mu\text{mole Pi/min per gHb}$; and controls, 0.9–1.8 $\mu\text{mole Pi/min per gHb}$). At 82 days of age, serum C-reactive protein turned to positive, and blood culture at 87 days of age revealed *S. epidermidis*. She died at 89 days of age. Pathological examination revealed PAS-positive deposits in the heart, liver, skeletal muscle, and central nervous system, including the brain, brain stem and cerebellum (Fig. 2). Additionally, fibrously thickened endocardium, and hypertrophied cardiomyocytes in the middle layer of the myocardium were found. Myofibers of the skeletal muscles were degenerated and reduced. She also had findings suggesting infection, such as hyperplasia of the granulocytes in the bone marrow. Branching enzyme activity in the quadriceps muscle, liver and brain, which were harvested at autopsy, was all 0 nmole Pi/min per mg (control muscles, 55.9–80.2

nmole Pi/min/mg; control livers, 107.2–150.3 nmole Pi/min per mg; and control brains, 1.2–3.1 nmole Pi/min per mg).

Discussion

The congenital form of GSD type IV develops with severe symptoms during the fetal or neonatal period. In a literature search, we could find 12 cases of the disease¹⁻⁹ and the characteristics of the cases are shown in Table 1. Four previous cases had polyhydramnios during the fetal period.^{1,5,6} Diminished fetal movement was documented in two cases.^{6,9} Hydrops fetalis was seen in four cases, of which three had artificial termination of pregnancy.^{8,9} Two of the reported cases died *in utero*.¹ Both our cases had polyhydramnios. Case 2 also presented hydrops fetalis, which had been suspected due to fetal cardiac failure caused by the metabolic disease before birth, but the cause of the fetal abnormality was postnatally elucidated to be due to chylothorax.

In the live born cases, the main clinical features are respiratory or circulatory distress and hypotonia.^{1,3,6,8} Four of the cases had arthrogryposis^{1,3,7,8} and three patients had hypoplastic lungs,^{1,5,6} which could cause respiratory distress. These two abnormalities were thought to be secondary to the neuromuscular disorder. Four of the six patients whose outcome was described, died within 1 year after birth.^{1,4,6,8} Case 1, who had hypotonia and severe neonatal asphyxia, died at 14 h after birth. In Case 2, mechanical ventilation was needed for life because of severe respiratory insufficiency due to severe hypotonia. She also had joint contracture, and her autopsy showed cardiac wall thickening, which was seen in one previously reported case.⁶

Although the prenatal or postnatal findings, such as hydrops fetalis, respiratory distress and hypotonia, were common to

Table 1 Cases of congenital form of glycogen storage disease type IV

	Schochet ² (1970)	Shin ⁴ (1988)	Benirschke ⁵ (1990)	van Noort ¹ (1993)	van Noort ¹ (1993)	van Noort ¹ (1993)	Tang ⁶ (1994)	Di Rocco ⁷ (1998)	Alegria ⁸ (1999)	Cox ⁹ (1999)	Cox ⁹ (1999)	Case 1	Case 2
Gender	Female			Female	Female	Male	Male	Male	Female	Female		Male	Female
Gestational age (week)				36	36	34	34		34			37	34
Birth weight (g)	2610			2200	1730	2319	2319					2616	2544
Prenatal findings			+										
Polyhydramnios						+							+
Hydrops fetalis													+
Diminishing fetal movement							+						+
Intrauterine growth retardation				+									
Clinical/pathological findings													
Respiratory/circulatory distress ¹													
Hypotonia													
Hypoplastic lungs	+												
Cardiac wall thickening													
Arthrogryposis													
PAS-positive deposit	L,M,H,C			L,M,H,C	L,M,H,C	L,M,H,C	L,M,H,C	L,M	L,M,H,C	M	M,E,I	L,M,H,C	L,M,H,C
Low branching enzyme activity	L,W,F						F,M	F	F		F	L	L,R,M,C
Branching enzyme gene mutation													
Outcome	Died	Died		IUFD	IUFD	Died	Died	Alive	Died	ATP	ATP	Died	Died
Age	28 months	0 day				0 day	4 weeks	1 year	3 days			14 hours	89 days

¹Cases with intensive therapy such as mechanical ventilation or circulatory support. L, liver; M, muscle; H, heart; C, central nervous system; E, epidermis; I, intestine; W, white blood cell; F, fibroblast; R, red blood cell; IUFD, intrauterine fetal death; ATP, artificial termination of pregnancy.

several cases, they were not specific to the disease. Therefore pathological or enzymological examination is necessary for a diagnosis. Characteristic pathological findings of GSD type IV are deposition of basophilic substances in the organs involved. These substances are PAS-positive, but they are not digested by diastase. All of the reported cases in whom pathological findings were documented had these deposits in muscle.^{1-3,5-9} Abnormality in the central nervous system, liver or heart was proven in more than half of the pathologically examined cases.^{1-3,5-8} In our two cases, PAS-positive deposits were found in the muscle, central nervous system, liver and heart.

Measurement of the branching enzyme activity was performed in six reported cases: fibroblasts were used for the measurement in three cases; fibroblasts, liver and white blood cells in one; fibroblasts and muscle in one; and red blood cells in one.^{2-4,6-9} In Case 1, we harvested a liver specimen on postmortem examination and proved lowered branching enzyme activity. Case 2 had low activity of the enzyme in the red blood cells, liver, muscle and brain.

The etiology of heterogeneity of clinical features in GSD type IV is unclear. Van Noort *et al.* attempted to explain it by pathological and enzymological findings.¹ Difference in the distribution of the organs involved due to the clinical subtypes was found pathologically. But the difference could not be proven enzymologically because in most cases limited organs were used for measurement of the branching enzyme activity. In Case 2, we could examine the main organs involved and found correspondence between pathological and enzymological findings. Another approach to the etiology is genetical analysis. According to a report on the genetical analysis of the branching enzyme in GSD type IV, 3 and 2 point mutations were detected in two patients with the classical form and one with the non-progressive hepatic form, respectively, and a patient with the congenital form had a large defect representing the loss of one full exon.¹⁰ In our cases, the parents did not want to have genetic counseling,

and we could not obtain parental consent to the genetical analysis. In order to elucidate the mechanism causing the clinical variation in GSD type IV, the relationship between pathological, enzymological and genetical findings should be investigated in further cases.

References

- 1 van Noort G, Straks W, Van Diggelen OP, Hennekam RCM. Congenital variant of glycogenosis type IV. *Pediatr. Pathol.* 1993; **13**: 685-98.
- 2 Schochet SS Jr, McCormick WF, Zellweger H. Type IV glycogenosis (amylopectinosis). Light and electron microscopic observations. *Arch. Pathol.* 1970; **90**: 354-63.
- 3 Zellweger H, Mueller S, Ionasescu V, Schochet SS, McCormick WF. Glycogenosis type IV: A new cause of infantile hypotonia. *J. Pediatr.* 1972; **80**: 842-4.
- 4 Shin YS, Steiguer H, Klemm P, Endres W, Schwab O, Wolff G. Branching enzyme in erythrocytes. Detection of type IV glycogenosis homozygotes and heterozygotes. *J. Inher. Metab. Dis.* 1988; **11**: 252-4.
- 5 Benirschke K, Kaufmann P. Fetal storage disease. In: *Pathology of the Human Placenta*, 2nd edn. Springer-Verlag, New York, 1990; 460-3.
- 6 Tang TT, Segura AD, Chen YT *et al.* Neonatal hypotonia and cardiomyopathy secondary to type IV glycogenosis. *Acta Neuropathol.* 1994; **87**: 531-6.
- 7 Di Rocco M, Doria-Lamba L, Marino C *et al.* Atypical congenital form of glycogen storage disease (GSD) type IV. *J. Inher. Metab. Dis.* 1998; **21** (Suppl. 2): 95.
- 8 Alegria A, Martins E, Dias M, Cunha A, Cardoso ML, Maire I. Glycogen storage disease type IV presenting as hydrops fetalis. *J. Inher. Metab. Dis.* 1999; **22**: 330-2.
- 9 Cox PM, Brueton LA, Murphy KW *et al.* Early-onset fetal hydrops and muscle degeneration in siblings due to a novel variant of type IV glycogenosis. *Am. J. Med. Genet.* 1999; **86**: 187-93.
- 10 Bao Y, Kishnani P, Wu JY, Chen YT. Hepatic and neuromuscular forms of glycogen storage disease type IV caused by mutations in the same glycogen-branching enzyme gene. *J. Clin. Invest.* 1996; **97**: 941-8.



Case report

Intermittent and recurrent hepatomegaly due to glycogen storage in a patient with type 1 diabetes: Genetic analysis of the liver glycogen phosphorylase gene (*PYGL*)

Masako Tomihira^a, Eiji Kawasaki^b, Hiromu Nakajima^c, Yutaka Imamura^d,
Yuichi Sato^a, Michio Sata^e, Masayoshi Kage^f, Hideo Sugie^g, Kiyohide Nunoi^{a,*}

^a Division of Endocrinology and Metabolism, St. Mary's Hospital, 422 Tsubukuhonmachi, Kurume, Fukuoka, Japan

^b Unit of Metabolism/Diabetes and Clinical Nutrition, Nagasaki University School of Medicine, Nagasaki, Japan

^c Department of Clinical Laboratory, Osaka Medical Center for Cancer and Cardiovascular Diseases (OMCC), Osaka, Japan

^d Division of Hematology, St. Mary's Hospital, 422 Tsubukuhonmachi, Kurume, Fukuoka, Japan

^e Second Department of Internal Medicine, Kurume University School of Medicine, Fukuoka, Japan

^f First Department of Pathology, Kurume University School of Medicine, Fukuoka, Japan

^g Department of Pediatric Neurology, Hamamatsu City Medical Center for Developmental Medicine, Shizuoka, Japan

Received in revised form 12 February 2003; accepted 12 December 2003

Abstract

We report a 19-year-old woman who had a history of type 1 diabetes with recurrent glycogen accumulation in the liver. During her infantile period she presented with no hepatomegaly nor growth retardation. On admission she was diagnosed with diabetic ketoacidosis (DKA). She also had hepatomegaly and elevated transaminase levels, but these abnormalities had resolved after administration of insulin. However, 4 weeks after DKA marked hepatomegaly and elevated transaminases were reappeared with simultaneous hypoglycemia which suggested an impaired glycogenolysis in the extraordinary conditions. We supposed the partial deficiency of liver glycogen phosphorylase activity in this patient and analyzed the liver glycogen phosphorylase gene (*PYGL*). Deduced amino acid sequence of the *PYGL* in this patient was completely identical to that reported by Burwinkel et al. (Y15233), however, the nucleotide sequence of *PYGL* cDNA was heterozygous for substitutions at positions Asp339 (GAT to GAC) on exon 9 and Ala703 (GCT to GCC) on exon 17, respectively. These SNPs were also screened in 51 Japanese normal subjects by PCR-based direct sequencing or PCR-RFLP method. The same genotype observed in this patient was detected in 2 of 51 (3.9%) normal subjects. These results suggest that the structure of *PYGL* coding sequence in this patient is unlikely to account for her excessive liver glycogen accumulation. Further studies including genetic analysis on the promoter region of the gene are necessary to clarify the etiology of susceptibility to excessive liver glycogen storage in patients with type 1 diabetes. © 2004 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: Type 1 diabetes; Mauriac syndrome; Liver glycogen storage; *PYGL*; Polymorphisms

* Corresponding author. Tel.: +81-942-35-3322; fax: +81-942-34-3575.

E-mail address: nu@st-mary-med.or.jp (K. Nunoi).

1. Introduction

Marked hepatomegaly due to liver glycogen storage and liver dysfunction in the patients with poorly controlled type 1 diabetes mellitus was reported by Mauriac in 1930 and referred to as Mauriac syndrome [1]. The classical features of Mauriac syndrome were hepatomegaly, cushingoid facies, dwarfism, delayed sexual maturation, and hyperlipidemia. Glycogen-induced hepatomegaly in type 1 diabetes mellitus was well recognized and reported [2–9]. Hepatic glycogen metabolism is regulated by complicated mechanisms and glycogen accumulation is promoted by hyperglycemia and insulin effect [10–12]. It is supposed that in such cases excessive glycogen storage is caused by extraordinary hyperglycemia and following acute therapeutic insulin effect. Hepatomegaly occurred characteristically in the cases with diabetic ketosis or ketoacidosis, unstable blood glucose levels from hyperglycemia to hypoglycemia and regressed when stable glucose levels were maintained. The frequency of excessive liver glycogen storage in patients with type 1 diabetes mellitus is not so often or relatively rare. Chatila et al. reviewed the clinical and pathological features of 11 cases with hepatocellular glycogenesis confirmed by liver biopsy at Yale University for the period from 1954 to 1995 [13]. In Japan we reviewed seven cases with hepatic glycogen storage after diabetic ketoacidosis confirmed by liver biopsy for the period from 1975 to 1998 [14].

On the other hand, several basic deficiencies of enzymes for glycogen metabolism cause glycogen storage in the liver. Deficiency of liver glycogen phosphorylase typically causes glycogen storage disease type VI (Hers disease) [15]. The clinical features of this disease are hepatomegaly in infantile period, early fasting hypoglycemia, elevated transaminase, hyperlipidemia and ketosis [16]. It takes a benign course. Hepatomegaly and growth retardation usually improve with age and disappear. With regard to the clinical features, glycogen-induced hepatomegaly in type 1 diabetes and hepatic phosphorylase deficiency have several similarities.

We experienced a case of type 1 diabetes with excessive glycogen accumulation in the liver and simultaneous hypoglycemia which suggested impaired glycogenolysis in the extraordinary conditions. In addition, based on the several similarities with clinical

features of glycogen storage disease type VI, we supposed that partial inhibition of liver glycogen phosphorylase occurred in our case. Not all the patients with type 1 diabetes with or without ketoacidosis exhibit abnormal glycogen accumulation during insulinization. Therefore, it should be clarified whether any functional abnormality in the liver glycogen phosphorylase accounts for such a phenomenon. The present study aimed to clarify the relation between the genetic abnormalities of *PYGL* gene and the tendency to glycogen accumulation during the clinical course of extraordinary hyperglycemia and rapidly increasing insulin action such as release of glucose toxicity in a patient with type 1 diabetes.

2. Case report

A 19-year-old Japanese woman, who had a history of type 1 diabetes since 15 years of age, was admitted to our hospital due to diabetic ketoacidosis (DKA). During her infantile period she presented with no hepatomegaly nor growth retardation and her development had been normal. The parents and siblings were healthy. On admission her height was 162 cm with a weight of 45 kg. She had drowsy consciousness level, hyperglycemia (492 mg/dl) and acidemia (pH 6.980). She was confirmed as having type 1 diabetes based on a low level of fasting serum C-peptide (0.1 ng/ml) and positive for GAD autoantibodies (11.4 U/ml). She also had hepatomegaly extending 5 cm below the right costal margin and transaminase levels were elevated (AST 387 U/l, ALT 234 U/l), but these abnormalities had resolved after administration of insulin, i.e. continuous venous infusion of regular insulin (total 41 U/30 hours) during DKA and subcutaneous insulin injection four times a day (regular 30 U and NPH 10 U) after recovery from DKA (Fig. 1). However, four weeks after DKA marked hepatomegaly extending 10 cm below the right costal margin and elevated transaminases (AST 1228 U/l, ALT 649 U/l) reappeared with hypoglycemia (FPG 47 mg/dl), hypokalemia (2.89 mEq/l) and leucocytopenia (WBC/1480 mm³). The values of plasma glucagon, adrenalin, noradrenalin and cortisol were within normal ranges. Serological examinations of viral hepatitis and autoimmune hepatitis were negative and the examination of bone marrow aspira-

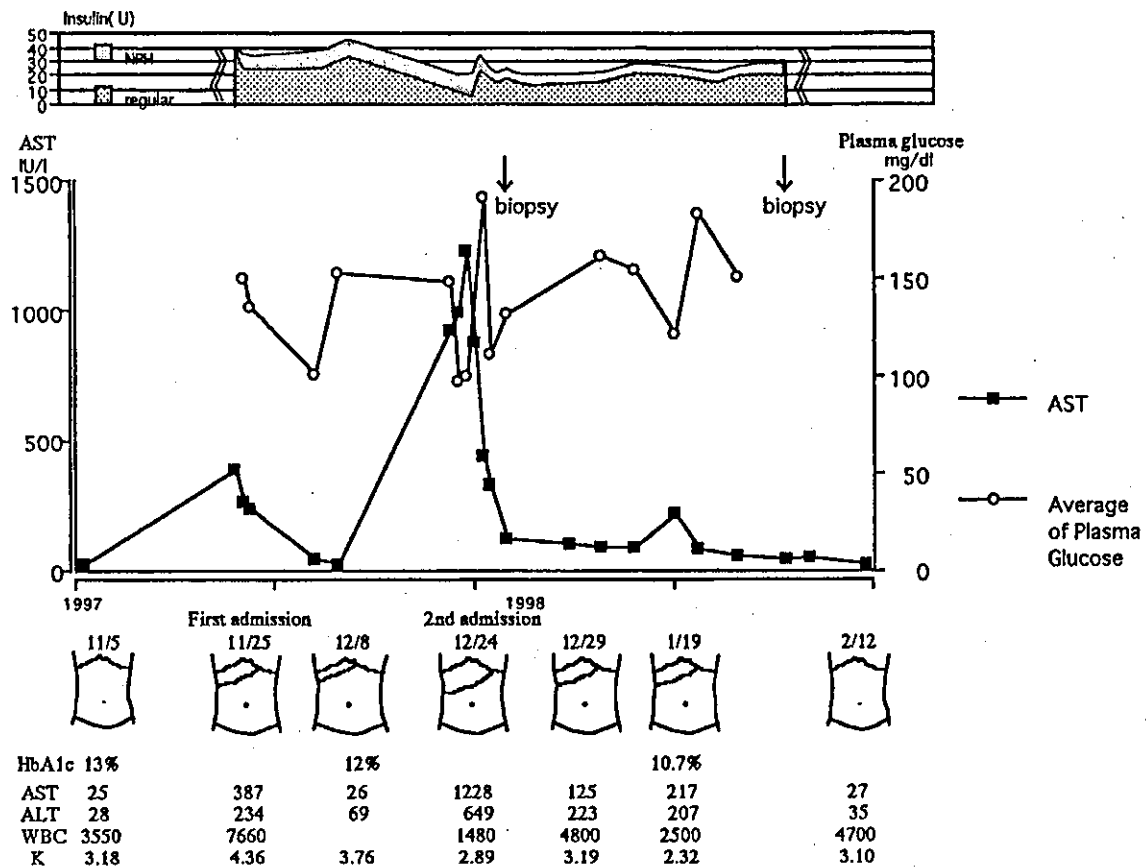


Fig. 1. Clinical course of hepatomegaly and liver function related to plasma glucose, serum K and WBC.

tion showed no malignant findings. The liver biopsy showed extensive glycogen deposition and mild steatosis by both light microscopy and electron microscopy. The evidence of glycogen deposition in the cytoplasm of hepatocytes was obtained in a PAS stain and diastase digestion (Fig. 2). Her hepatomegaly disappeared in accordance with the maintenance of stable blood glucose levels 10 weeks after DKA. However, she presented with recurrent hepatomegaly 3 cm below the right costal margin 5 months later during the repeated poor diabetic control periods.

3. Materials and methods

3.1. PYGL gene analysis

To analyze the coding region of *PYGL* gene, total RNA was prepared from the patient's peripheral blood lymphocytes. The first-strand cDNA was synthesized and *PYGL* cDNA was amplified by reverse-

transcription PCR method. The sequence-specific primers used were taken from the sequence for human *PYGL* as previously reported (GenBank accession number M14636) [19]. The amplified cDNA fragments were subcloned into the pCR2.1 vector. Multiple clones for each PCR fragment were sequenced by ABI Prism 310 DNA Sequencer.

Genomic DNA were obtained from peripheral blood lymphocytes from the patient and 51 independent Japanese healthy subjects. Exons 9 and 17 of the *PYGL* gene were amplified by PCR using genomic DNA and sequence-specific primers for each exon.

Exon 9 – 95 < 5'-GTGGGCATATCAGTGCTTTC-TCCAG-3',

Exon 9 + 151 > 5'-AGTCTTTCAACTGCAGCAT-TCTGG-3',

Exon 17 + 52 < 5'CTCGGGGACAGGCAATATG-AAGTT-3',

Exon 17 + 282 > 5'-GGAAGCCCTCTGAGGTC-ACATACC-3'.

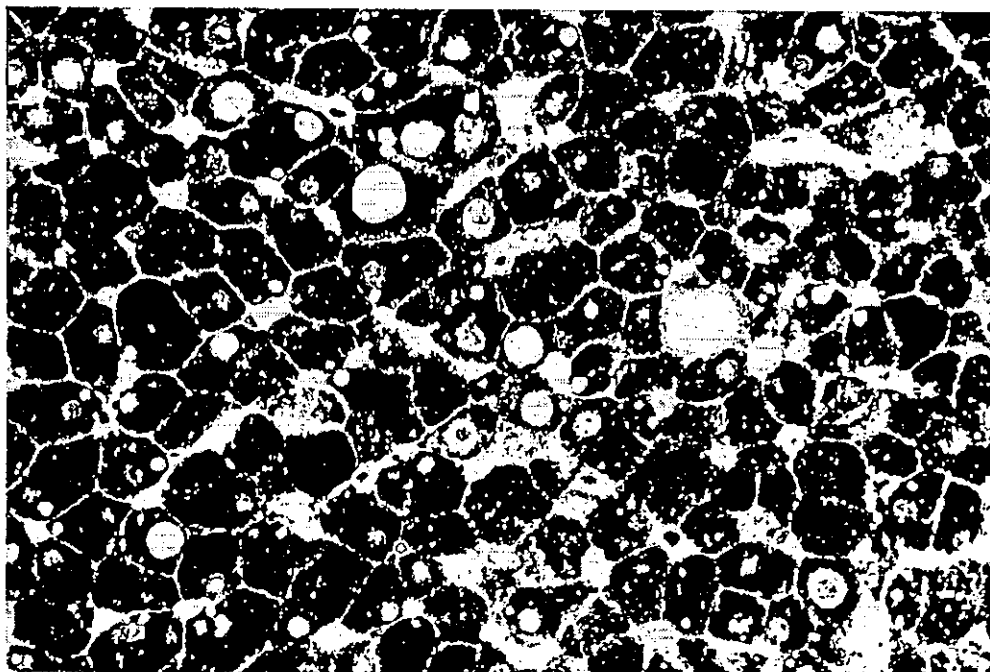


Fig. 2. Histological findings of the liver. The evidence of glycogen deposition in cytoplasm of hepatocytes with a PAS stain and diastase digestion. (PAS stain, $\times 200$).

The nucleotide sequences were analyzed by direct sequencing and were confirmed by cloning the PCR product into pGEM-T vector.

3.2. Enzyme assay

Total phosphorylase activity in the presence of AMP was determined by the method of DiMauro et al. [17]. Phosphorylase b kinase in erythrocytes was measured in the presence of exogenous phosphorylase b as described by Lederer et al. [18].

3.3. Statistical analysis

Allele or haplotype frequencies were calculated on control subjects by direct counting. The estimate haplotype frequencies (EH) program was used to determine maximum-likelihood estimates of disequilibrium (D_{ij}) between two SNPs, where $D_{ij} = h_{ij} - p_i q_j$ and p_i and q_j are the frequencies for allele i at locus 1 and for allele j at locus 2, respectively [20].

4. Results

The PYGL cDNA sequence of the patient obtained was compared with that published (GenBank acces-

sion number Y15233) [21]. The deduced amino acid sequence of the PYGL in this patient was completely identical to that reported by Burwinkel et al. However, the nucleotide sequence of PYGL cDNA was heterozygous for substitutions at two positions, Asp339 (GAT to GAC) on exon 9 and Ala703 (GCT to GCC) on exon 17, respectively, (Fig. 3A and B). These nucleotide substitutions were confirmed by direct sequencing of genomic DNA or PCR-RFLP method. We have also screened 51 unrelated Japanese normal subjects. In all 102 chromosomes screened, 37 (36.3%) and 65 (63.7%) were GAT and GAC at codon 339, respectively, 94 (92.2%) and 8 (7.8%) were GCT and GCC at codon 703 (Table 1). Genotypic frequencies of these two SNPs were statistically consistent in Hardy–Weinberg equilibrium. As shown in Table 2, the genotype observed in this patient, GAT/GAC at codon 339 and GCT/GCC at codon 703, was detected in 2 of 51 (3.9%) normal subjects. To examine the linkage disequilibrium between these SNPs, haplotype frequencies were estimated by maximum likelihood methods based on the EH program [20]. The linkage disequilibrium found all of the four possible haplotypes defined by these SNPs. The most common haplotype is codon 339 GAC/codon 703 GCT which accounts for about 60% of the possible haplotypes. The

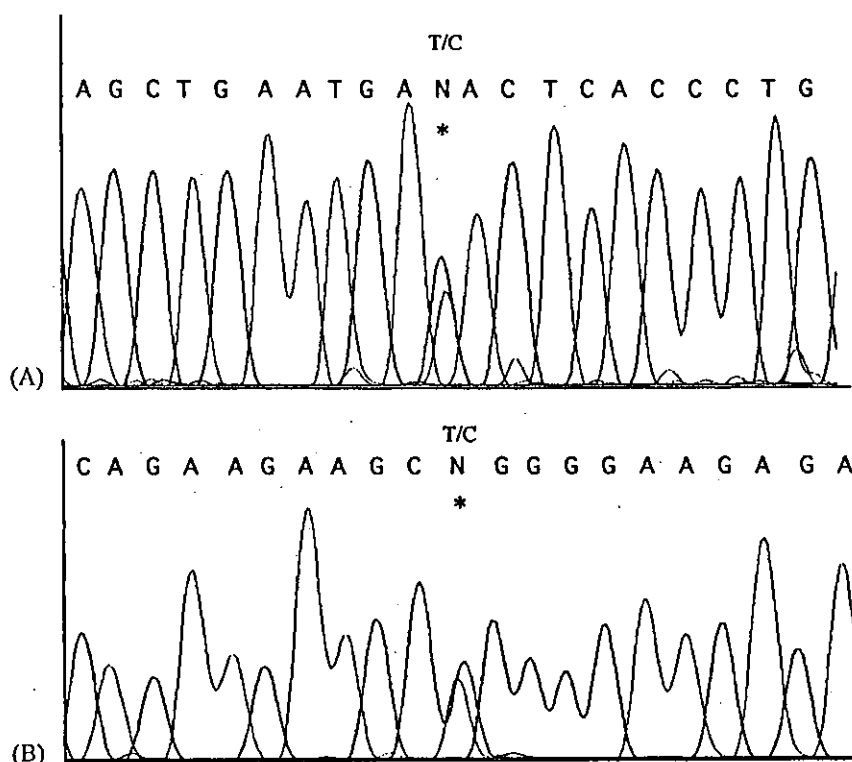


Fig. 3. The electropherograms of *PYGL* gene in the patient. (A) Asp339 (GAT/GAC) on exon 9. (B) Ala703 (GCT/GCC) on exon 17.

haplotypes comprising codon 703 GCC were relatively rare among them (Table 3).

We could not obtain the liver glycogen phosphorylase activity in liver biopsy specimens, however, the leucocyte phosphorylase activity and erythrocyte phosphorylase kinase activity were measured. The total leucocyte phosphorylase activity in this

Table 1
Allele and genotype frequencies of *PYGL* gene polymorphisms in healthy controls

Polymorphism		Frequency (n = 51)
Allele	Codon 339	GAT 37/102 (36.3) GAC 65/102 (63.7)
	Codon 703	GCT 94/102 (92.2) GCC 8/102 (7.8)
Genotype	Codon 339	GAT/GAT 8/51 (15.7)
		GAC/GAT 21/51 (41.2)
		GAC/GAC 22/51 (43.1)
	Codon 703	GCT/GCT 44/51 (86.3)
		GCC/GCT 6/51 (11.8)
		GCC/GCC 1/51 (1.9)

Data are n (%).

Table 2
Pairwise genotype distribution of *PYGL* gene SNPs in 51 healthy controls

Codon 339 genotype	Codon 703 genotype		
	GCT/GCT	GCT/GCC	GCC/GCC
GAT/GAT	7 (0.14)	1 (0.02)	0 (0)
GAT/GAC	18 (0.35)	2 (0.04)	1 (0.02)
GAC/GAC	19 (0.37)	3 (0.06)	0 (0)

Percentage in parentheses refers to observed haplotype frequencies.

Table 3
Estimated haplotype frequencies of the SNPs in the *PYGL* gene in 51 healthy controls

Haplotype		Estimated HF
Codon 339	Codon 703	
GAT	GCT	0.333
GAT	GCC	0.030
GAC	GCT	0.589
GAC	GCC	0.049

Data are n (%). The haplotype frequencies were estimated based on the EH program. HF, haplotype frequency.

patient was 18.4 nmol/min/mg, which was not decreased compared to that in normal control subjects (19.3 ± 3.9 nmol/min/mg, mean \pm SD; $n = 4$). Phosphorylase kinase activity in erythrocytes was 47.9 nmol/min/gHb and within normal range (53.3 ± 7.9 nmol/min/gHb, mean \pm SD; $n = 4$).

5. Discussion

Glycogen induced hepatomegaly in type 1 diabetes and glycogen storage disease type VI have some similar clinical features such as liver dysfunction, fasting hypoglycemia and ketosis. The differences between them are the age-at-onset of disease; i.e. youth period versus infantile period, and the background of disease; i.e. the state of type 1 diabetes versus the hereditary enzyme deficiency. Glycogen-induced hepatomegaly in type 1 diabetes mellitus had been reported and the features common to all reported cases were the state of type 1 diabetes and the lability of the diabetic control. Vallance-Owen et al. pointed out the normal or increased amounts of liver glycogen in patients dying in diabetic coma without insulin therapy and that such high blood glucose levels alone could cause the liver glycogen accumulation on a basis of circulating insulin [6]. In addition, they found that the patients dying in diabetic coma, having received insulin, showed a uniformly increased deposition in the liver over the controls. In our patient, on the first admission due to diabetic ketoacidosis she already had hepatomegaly. On the second admission during adequate insulinization marked hepatomegaly reappeared 4 weeks after recovering from DKA with the improvement of insulin sensitivity due to the release of glucose toxicity. Manderson et al. reported two cases with liver glycogen accumulation in unstable diabetes and analyzed the glycogen contents and phosphorylase activity in the liver [9]. The liver glycogen content was high and the phosphorylase activity appeared to be lower than normal but did not approach the levels associated with glycogen storage disorder. At that time the other enzymes related to liver glycogen storage, such as glucose-6-phosphatase, acid maltase and amylo-1,6-glucosidase were assayed and these values were normal. Therefore they suggested that the elevated liver glycogen levels seen in some patients with brittle diabetes mellitus are not the result of enzyme

deficiency but are secondary to wide fluctuations in blood sugar and frequent doses of soluble insulin. However, the doses of regular insulin (8–35 U per day) administered in our patient were not so high. In addition, she presented with recurrent mild hepatomegaly thereafter during the repeated poor diabetic control periods. Therefore, it is suggested that her liver glycogen phosphorylase systems were latently impaired and inhibited transiently in the extraordinary conditions.

Glycogen storage disease type VI (Hers disease) is caused by the deficiency of liver glycogen phosphorylase and suspected as an autosomal recessive inheritance. The mutations of *PYGL* gene in glycogen storage disease type VI were identified and reported previously [21,22]. Burwinkel reported the mutations of *PYGL* of three patients with glycogen storage disease type VI and these are two splicing-site mutations and two missense mutations [21]. Chang determined that Mennonite glycogen storage disease type VI was caused by a single base pair change in a splice donor site of intron 13 in the *PYGL* gene, which showed heterogeneous *PYGL* mRNA lacking all or part of exon 13 in affected persons [22]. Liver glycogen phosphorylase is regulated by multiple allosteric effectors and hormonal controls, therefore it is relatively difficult to assess the enzyme activities in various conditions [9,21,23]. In addition, phosphorylase kinase deficiency also causes deficiency of glycogen phosphorylase in liver glycogen metabolism [24,25]. Therefore it is suggested that genetic analysis of related enzymes contribute to the diagnosis of liver glycogen storage disease type VI and the detection of the susceptibility to such liver glycogen storage in extraordinary conditions.

The sequences of human *PYGL* mRNA have been reported previously [19,21,22]. The nucleotide sequence of *PYGL* cDNA in this patient was identical to that reported by Burwinkel et al. (GenBank accession number Y15233), except for the two heterozygous positions, Asp339 (GAT/GAC) and Ala703 (GCT/GCC). This is the first report on the SNP at codon 703 (GCT/GCC). These nucleotide substitutions were also found in Japanese healthy controls, indicating that they are SNPs of *PYGL*. Burwinkel et al. found polymorphisms in the *PYGL* coding sequence at Asp50 (GAC/GAT), Asp339 (GAT/GAC), Thr671 (ACC/ACT) and Val221/Ile221 (GTC/ATC) [21]. Considering the clinical course of our patient

that marked hepatomegaly and elevated transaminases reappeared with the tendency of hypoglycemia and hypokalemia 4 weeks after DKA, it is suggested that liver glycogen phosphorylase activity was transiently inhibited. At this point, we could not obtain the value of her liver glycogen phosphorylase activity. However, the sequence analysis of PYGL c DNA in this patient suggests that there are no structural defects in her amino acid sequence. Later the leucocyte phosphorylase activity and erythrocyte phosphorylase kinase activity were measured and these values were within normal range. The enzyme activities of these blood cells seemed to parallel that of liver and be useful in the diagnosis of glycogen storage disease type VI [26].

Single nucleotide polymorphisms are the most common type of genetic variations. Most SNPs are neutral but a proportion of SNPs contribute to disease susceptibility and resistance. In this study we screened 51 unrelated Japanese normal subjects at the heterozygous sites on exons 9 and 17 of PYGL by direct sequencing or PCR-RFLP. The same genotype observed in this patient was detected in 2 of 51 (3.9%) normal subjects. The association of these SNPs and liver glycogen accumulation in type 1 diabetes is unknown and further genetic analysis including the promoter region is necessary to reveal the susceptibility to this phenomenon in our patient.

We were also interested in the transient appearance of marked leucocytopenia accompanied by the peak of hepatomegaly. The mechanism of such leucocytopenia is unknown and analysis of glycogen contents and enzyme assays on glycogen metabolism in WBC at this point may reveal the mechanism.

Acknowledgements

The authors thank Emeritus Professor Masayuki Hirata of Tokyo Women's Medical University for his advice and Akemi Tyuman for assistance with gene analysis.

References

- [1] P. Mauriac, Gros ventre, hepatomegalie, troubles de la croissance chez les enfants diabetiques traites plusieurs annees par l'insuline, *Gaz. Hebd. Med. Bordeaux*. 26 (1930) 402–410.
- [2] F. Mandell, W. Berenberg, The Mauriac syndrome, *Am. J. Dis. Child.* 127 (1974) 900–902.
- [3] H.S. Traisman, Mauriac's syndrome. A complication of poorly managed diabetes, *Clin. Pediatr.* 3 (9) (1964) 520–522.
- [4] E.W. Brian, A.J. Schecher, E.L. Persons, Unusual glycogen storage in a case of diabetes Mellitus, *Arch. Intern. Med.* 59 (1937) 685–690.
- [5] A. Marble, P. White, I.K. Nogan, R.M. Smith, Enlargement of the liver in diabetic children. I. Its incidence, etiology and nature, *Arch. Intern. Med.* 62 (1938) 740–750.
- [6] J. Vallance-Owen, Liver glycogen in diabetes Mellitus, *J. Clin. Pathol.* 5 (1952) 42–53.
- [7] J.I. Goodman, Hepatomegaly and diabetes mellitus, *Ann. Intern. Med.* 39 (1953) 1077–1087.
- [8] R.W. Evance, T.R. Littler, H.S. Pemberton, Glycogen storage in the liver in diabetes mellitus, *J. Clin. Path.* 8 (1955) 110–113.
- [9] W.G. Manderson, M.T. McKiddie, D.J. Manners, J.R. Stark, Liver glycogen accumulation in unstable diabetes, *Diabetes* 17 (1968) 13–16.
- [10] G.I. Shulman, R.A. DeFronzo, L. Rossetti, Differential effect of hyperglycemia and hyperinsulinemia on pathways of hepatic glycogen repletion, *Am. J. Physiol.* 260 (1991) 731–735.
- [11] H.K. Ortmeyer, N.L. Bodkin, B.C. Hansen, Insulin regulate liver glycogen synthase and phosphorylase activity reciprocally in rutilus monkeys, *Am. J. Physiol.* 272 (1997) 133–138.
- [12] K.F. Peterson, D. Laurent, D.L. Rothma, G.W. Cline, G.I. Shulman, Mechanism by which glucose and insulin inhibit net hepatic glycogenolysis in humans, *J. Clin. Invest.* 101 (1998) 1203–1209.
- [13] R. Chatila, B. West, Hepatomegaly and abnormal liver tests due to glycogenesis in adults with diabetes, *Medicine (Baltimore)* 75 (6) (1996) 327–333.
- [14] M. Tomihira, Y. Uchizono, Y. Sato, et al., Recurrent hepatomegaly due to glycogen storage after diabetic ketoacidosis in a case of type 1 diabetes mellitus, *J. Jpn. Diabetes Soc.* 43 (10) (2000) 879–885. In Japanese.
- [15] Y.T. Chen, A. Burchell, Glycogen storage disease, in: C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, D. Valle (Eds.), *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, vol 1, McGraw-Hill, New York, NY, 1995, pp. 935–966.
- [16] H. Hers, Etudes enzymatiques sur fragments he'patiques, *Revue. Int. Hepatol.* 9 (1959) 35–55.
- [17] S. DiMauro, G.B. Hartwing, A. Hays, et al., Debrancher deficiency, neuromuscular disorder in 5 adults, *Ann. Neurol.* 5 (1979) 422–436.
- [18] B. Lederer, G. van de Werve, T. de Barsy, H.G. Hers, The autosomal form of phosphorylase kinase deficiency in man reduced activity of the muscle enzyme, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 92 (1980) 169–174.
- [19] C.B. Newgard, K. Nakano, P.K. Hwang, R.J. Fletterick, Sequence analysis of the c DNA encoding human liver glycogen phosphorylase reveals tissue-specific codon usage, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83 (1986) 8132–8136.

- [20] J.D. Terwilliger, J. Ott, *Linkage Disequilibrium Between Alleles at Marker Loci*, Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1994.
- [21] B. Burwinkel, H.D. Bakker, E. Herschkoviz, S.W. Moses, Y.S. Shin, M.W. Killian, Mutation in liver glycogen phosphorylase gene (*PYGL*) underlying Glycogenesis type IV (Hers disease), *Am. J. Hum. Genet.* 62 (1998) 785–791.
- [22] S. Chang, M.J. Rosenberg, H. Morton, C.A. Francomano, L.G. Biesecker, Identification of a mutation in liver glycogen phosphorylase in glycogen storage disease type IV, *Hum. Mol. Genet.* 7 (5) (1998) 865–870.
- [23] J.W. Hudson, G.B. Golding, M.M. Crerar, Evolution of allosteric control in glycogen phosphorylase, *J. Mol. Biol.* 234 (1993) 700–721.
- [24] B. Lederer, van F. Hoof, van den G. Berghe, H.G. Hers, Glycogen phosphorylase and its converter enzymes in haemolysates of normal human subjects and of patients with type VI glycogen storage disease, *Biochem. J.* 147 (1975) 23–35.
- [25] I. Marie, C. Baussan, N. Moatti, M. Mathieu, A. Lemonnier, Biochemical diagnosis of hepatic glycogen storage diseases: 20 years French experience, *Clin. Biochem.* 24 (1991) 169–178.
- [26] N. Dahan, C. Baussan, N. Moatti, A. Lemonnier, Use of platelets, mononuclear and polymorphonuclear cells in the diagnosis of glycogen storage disease type IV, *J. Inher. Metab. Dis.* 11 (1988) 253–260.

■特集 軽度発達障害の学校保健における支援を考える

軽度発達障害児への援助と対応： 医療と学校保健の連携のあり方

杉 江 秀 夫

浜松市発達医療総合センター小児科（小児神経科）

Systematic Comprehensive Support for Children with Developmental Disorders: Special Reference to a Co-operation between School Teachers and Medical Staffs

Hideo Sugie

Department of Pediatrics (Pediatric Neurology),

Hamamatsu City Medical Center for Developmental Medicine

はじめに

浜松市発達医療総合センター(以下センター)は10年前に開設した発達障害児の早期発見・早期治療をひとつの目的とする医療・療育の複合施設である。開院当初には医学的診断に基づいた療育・訓練・評価を中心に、患児への対応を行っていた。これは患児・保護者について考えると「点」での関わりであった。実際に患児が大部分の時間を過ごしている家庭や地域社会(例えば保育園、幼稚園、小中学校など)における適応に問題が生じた場合は、保護者や教育現場の担当者の個人的努力により対応しているのが現状である。この現状に関して総合的に患児・保護者をサポートする体制の構築について、

関係機関との協力を得て検討してきた。今回はその経緯と現状について紹介する。

1. 発達医療総合センターの機能について (表1)

本センターは療育センター、療育センター付属診療所、5つの発達障害児者の通所施設からなる複合施設で、表1には関連するスタッフの配置について記した。小児神経科は最初の受け皿となり医学的検査、診断および療育への方向付けを行っている^{1,2,3)}。小児神経科医があつかう発達障害児には運動発達障害、知的発達障害、混合性発達障害(知的障害・運動障害合併)がある。初期兆候は運動発達の遅れ、言葉の遅れ、社会性の遅れ、特異な行動パターンなどであり、保護者、医療機関、保健機関、健診、保育の現場の関係者などから問題点を指摘され来院する事が多い。平成15年度における初診者の障害別内訳では約60%が知的発達障害(自閉圏障害、注意欠陥/多動性障害、精神遅滞、学習障害など)の範疇であり、特に軽度発達障害に起因する社会への適応の問題を指摘され来院する例が増加している。

表1 医療教育連携に関わるスタッフの内訳および所属

療育センター 付属診療所	療育センター 療育課	総合相談室
小児科 (小児神経科)	臨床心理 言語聴覚	コーディネーター 保健師
小児科 (小児循環器科)	理学療法 作業療法	ソーシャルワーカー
耳鼻咽喉科	視能訓練	
眼科	保育士	
整形外科	保健師	
精神科		

2. センターにおける発達障害児を対象とした 医療・教育連携への対応とその経緯

図1に示すように発達障害児の保護者は個々に医療・療育機関、保健福祉機関、教育機関との対応をしているものの、医療・療育機関、保

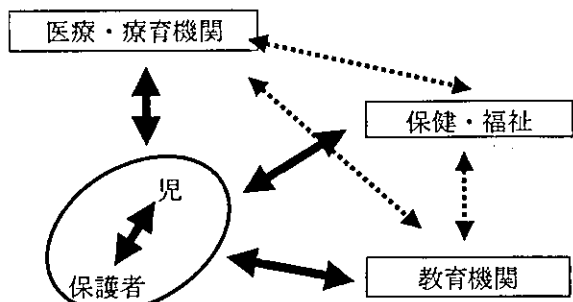


図1 医療・保健・福祉・教育現場の関係
 ←→ 関わりのある方向
 ←……→ あまり関連が構築できなかった方向

健福祉機関，教育機関のスタッフ同士の児に関した相互の連携は，その機関の個人的な努力などで情報の交流がある程度でシステム化された連携はほとんどないと言ってよかった^{4,5)}。児の発達を総合的にサポートするには「点」で見てゆくことのみでは限界があるため，どのような連携システムづくりが必要かを検討してきた。当時保健・医療・福祉の連携が行政を中心に叫ばれていたが，それに「教育」を加えた連携が児の包括的支援には重要である。さてシステムを構築する上の考え方として①障害を知る事②家族，保護者を知る事③早く見つける事④色々な職種が協力する事⑤色々な機関が連携する事⑥点ではなく線で見えてゆく事(フォローアップ)⑦後方視的・前方視的な検討の必要性，の7点をあげた。また連携システムを構築する取り組みに際して基本的な配慮のひとつとして倫理的な観点から児および保護者のプライバシー保護を最重要課題とし，必ず文書で了解を得ることを原則として行うことを申し合わせた(図2)⁶⁾。それと平行して，実態を把握するため浜松市内小・中学校教職員に対して連携に関するアンケートを調査したところ，実に小学校で96%，中学校で94%が自分の学級に発達障害児が在籍した際に，その児の専門的な情報をほしいと考えていることが判明した。

以上の結果を踏まえセンターの持つ専門的なスキルを教育現場の人たちにどのように提供できるか検討した。また連携システムに公的な性格(バックグラウンド)を持たせる事で，継続

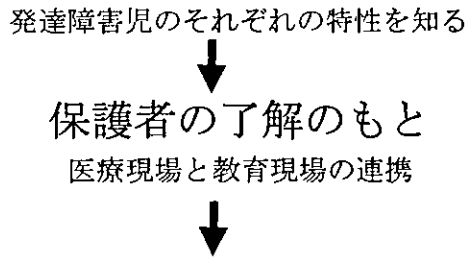


図2 医療・教育連携を進める際の基本的な考え方の

図2 医療・教育連携を進める際の基本的な考え方の地域で認知された連携の構築が可能であろうという考え方から，浜松市保健福祉部障害福祉課と浜松市教育委員会にも趣旨と現状を説明し理解を求めた。その結果①現場の教職員への医学的知識および専門的知識を提供するための研修会を行う：専門研修会，②教育・保育現場での問題点についてセンタースタッフと教育現場の職員が面談を行い児の社会適応を援助する：面談システム，の2つの事業について立ち上げることとした。この二つの事業は関係行政部局がよき理解者となりセンターが全面協力をするという形で事業化されている。以下「専門研修会」および「面談システム」についてその発足の経緯および内容について述べる。

3. 専門研修会について

幼児については「知的障害児保育者研修会(初級，上級)」を浜松市保健福祉部障害福祉課の事業として，小・中学校教職員には「発達教育研修会」を浜松市教育委員会学校教育課の選択研修のひとつとして毎年定期的に行った。

(a) 知的障害児保育者研修会(定員20名，実習を含む)(表2)

基礎知識の講義と実習をとりいれた研修会で，浜松市内の保育園，幼稚園の保育士，教師を対象としている。上級は初級を終えた人を対象とし実習を主体とした実践的な内容としている。初級では知的発達障害児に関する基礎講義と知的障害児通園施設での実習を一日行うスケジュールである。上級は実践的な講義と実習を主体としたスケジュールからなっている。平成9年度から開始した保育者研修は現在までに初級約150名，上級70名が受講し現場での活動を

表2 浜松市知的障害児保育者研修会（平成9年度から開始）

初級コース（20名） 発達障害の基礎講義と実習 講義（3日間） （1）発達障害児の概念 （2）精神遅滞 （3）ダウン症 （4）集団保育での知的発達障害児への関わり方 （5）自閉症 （6）AD/HD（注意欠陥/多動性障害） （7）LD（学習障害） （8）発達障害児の家族支援 実習（1日） 知的障害児通園施設での実習	上級コース（15名） 初級コース研修修了者対象 講義，グループワーク（2日間） （1）統合保育の現場から （2）言葉の発達について （3）作業療法士から見た保育へのヒント 実習（2日間） 知的障害児通園施設
参加スタッフおよび関連機関	
センター 医師，臨床心理士，保健師，保育士 言語聴覚士，作業療法士	浜松市 障害福祉課，保育課，浜松市教育委員会

表3 発達教育研修会（平成14年度から開始）

浜松市教育委員会新規学校選択研修のひとつ （定員15名）6回のシリーズ研修	
（1）教育委員会指定校での軽度発達障害児（センターにかかっている）の授業参観 研究協議：担任，研修参加者，教育委員会，センタースタッフを交えた討議	
（2）夏季（センターにおいて） 軽度発達障害の基礎講義 事例検討 発達障害児への訓練の見学	
参加スタッフ： 浜松市発達医療総合センター 医師，臨床心理士，言語聴覚師， 作業療法士，保健師，MSW	浜松市教育委員会学校教育課

している。

(b) 発達教育研修会（定員15名）（表3）

センターと浜松市教育委員会とで平成13年秋準備会を発足し，小中学校教職員の研修制度について検討のうえ，平成14年度から浜松市教育委員会新規学校選択研修のひとつとして発足した。6回のシリーズ研修で以下の2つの構成からなる。①浜松市教育委員会指定校（毎年新たに指定される）における軽度発達障害児（セン

ター受診中の児）の授業参観：授業参観ではあらかじめ配布された机の配置図に，対象児の机にマークがしてあり，研修を受講中の教員は同級生に対象児が特定児であることに気づかれないように配慮して，授業での児の状態を見守った。またその際の担任の対応などについても記録して後の協議の資料とした。その後研究協議として担任，研修参加者，教育委員会，センタースタッフ（小児神経科医，臨床心理士，保

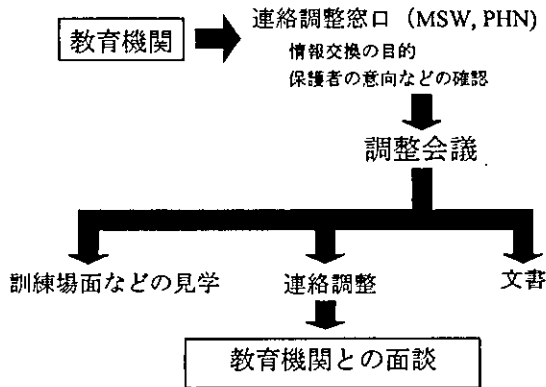


図3 医療現場と教育現場のスタッフ同士の面談

健師) による児への対応・処遇に関する討論を行った。②夏季休暇を利用した発達障害の基礎講義、事例検討、軽度発達障害児への訓練参観。参加教職員は学校長推薦などを得て、出張扱いで公務として参加した。

4. 教育現場担当者との面談システムについて (図3)

図3に面談への流れを示す。はじめに述べたように発達障害児を包括的にサポートするには、

児が社会生活を送っている現場のスタッフとの連携が不可欠である。この考え方から平成10年から現場教師とセンタースタッフによる児への対応に関する面談事業を開始した。ソーシャルワーカー、保健師が面談窓口（現在は総合相談室）を開設し、面談日程の設定、保護者への説明および同意などを取り付けた。また医療情報を開示する際にはその範囲についてあらかじめ保護者の希望を聞き（例えば発達テスト結果の開示の制限、診断名の開示の制限など）、例え教育現場のスタッフから診断名などの具体的な説明を求められても、保護者の希望の範囲での面談を行った。面談時間は原則1時間で、児の特徴について専門的な説明および教育現場でどのようなサポート、対応が必要かの議論を中心に情報交換を行った。面談児の診断ではAD/HD、精神遅滞、自閉性障害が最も多く、知的に正常な範囲に属する軽度発達障害の児が多かった（図4）。面談に来院した教育機関としては小学校および幼稚園が多かった（図5）。

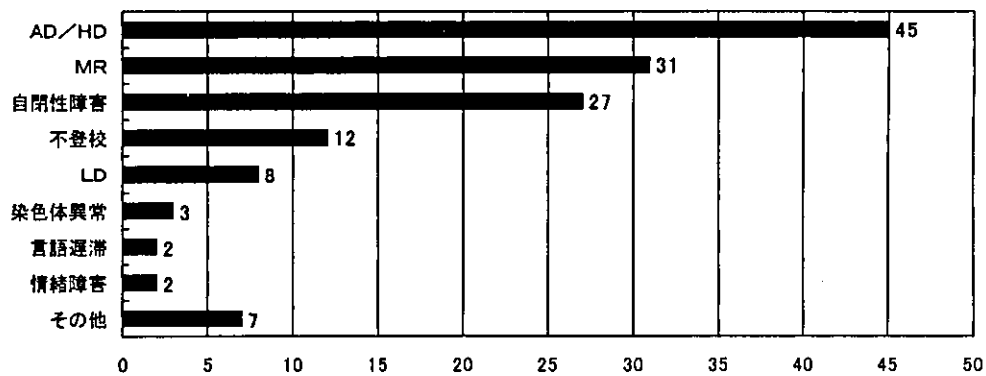


図4 平成15年度における、面談児の診断

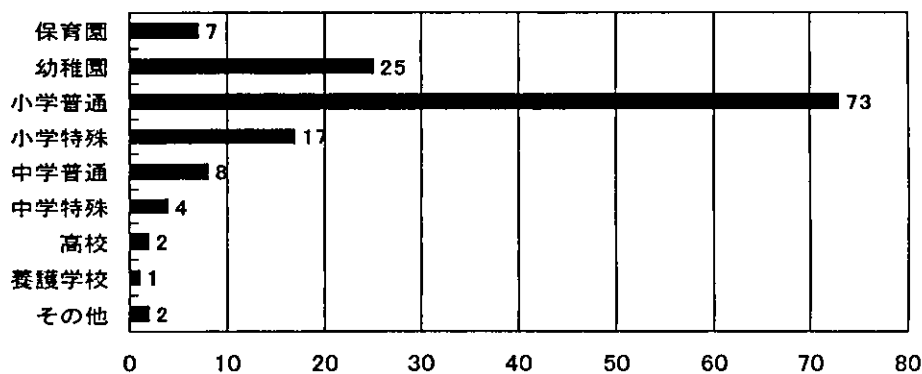


図5 平成15年度における面談に来院した教育機関の内訳

5. 面談についての評価の分析について

当センターに受診する患児について教育機関と面談を行う上で、面談が教育機関での指導に役立っているのか、教育機関との連絡調整窓口（現在総合相談室）の機能について十分に理解が得られているかなどについて把握する事を目的としてアンケート調査を行った。対象は当センター小児神経科に受診中の患児のうち、平成12年4月～平成13年3月に面談を行った教育機関の保育士、教師等（以下教職員とする）である。面談後1ヶ月を目安に、アンケートを91の教育機関へ送付した。なお本調査にあたっては保護者の同意を得て行った。82機関、95人の教職員から回答を得た（回収率84.5%）。窓口が面談の手順を整えるシステムについては、「センターのスタッフと学校の間に入ってきめ細かく対応してくれた」「窓口が決まっていることで連絡がスムーズに行える」「医師に直接連絡することはためられるが、担当者がいると密に連絡できる」などがあつた。患児の個人医療情報の取扱について窓口から説明をうけた上で、「確認書」を作成する意義については「当然のこと」、「権利擁護の点で重要なこと」などがあつた。面談で説明した内容については「説明が具体的で丁寧だった」「対応方法を具体的に教えてもらえた」があつた。ただし「子どもの状態の説明に専門用語が使われたため難解だった」などの感想もあつた。面談の効果について「対応方法が明確になった」、「子どもの様子を理解できた」、「今後の指導に自信が持てた」などがあつた。今後も当センターと積極的に連携を取ろうと思うかについて「協力して関わるほうが効果がある」、「多方面のアプローチが必要」などがあつた。また少数に「保護者とセンターの見解にずれがなく、保護者を通して連携することで十分」という回答もあつた。当センターで窓口を設け「確認書」作成の手続きを取る目的は、患児のプライバシー保護が目的の一つであるが、それについては「当然のこと」と認識している教職員が圧倒的であり、倫理的なことを理解して面談を行うという考え方に対し

て好意的であつた。しかし自由記述の中には「保護者の理解がなくても診断名など教えてもらいたい」、「クラス選択の資料として知能検査の結果を数値で教えて欲しい」などがあり、今後も十分な配慮が必要と考えられる。当センターとの面談については、88.4%の者が分かりやすかったと評価している。教職員は問題行動への具体的な対応方法を切実に求めており、説明も難解な専門用語を交えず具体性のあるものを必要としていた。また面談で得た情報は教育機関内で有効に活用されている傾向にあり、子どもの状態の改善につながらなくとも、教職員が指導に自信が持てることや、教職員間で共通理解が得られることが重要であることが、アンケートの自由記述などから明らかになった。面談を実施した教職員の94.1%が今後も積極的に連携を行いたいと回答していることから、継続的な助言を求めていると言える。医療現場での方法論を教育現場にそのまま当てはめることは困難であるが、教育機関の体制や問題行動に対する考え方を、我々医療機関が十分に理解した上で、教育機関で実行可能なことを医療と教育の両面から模索し、解決策を見出す連携が重要であることがわかつた⁷⁾。

6. 今後の課題

センターにおける医療・教育連携のシステムづくりの経緯と現状について述べた。この成果は平成15年2月8日に浜松市で厚生労働科学研究発表会として報告した⁸⁾。約380名の出席者とともに浜松市の医療教育連携について議論がされた。今後はこの成果を元に医療の領域、教育の領域がさらに理解を深め合い議論してゆくことで軽度発達障害児の適切な教育環境への適応支援が行われることを期待したい。さらに近年は「虐待」の問題も複雑に関係している事例もあり、今後さらに幅広い連携が求められてゆくことが想定される。特別支援教育の施行に伴い連携の重要性が増すことが予想され、現場からの連携の構築のみならず医療・教育・福祉・保健にさらに担当行政の意識改革も重要である^{8,9,10)}。

謝 辞

本研究の一部は厚生労働科学研究（平成12—14年度）「知的障害児の医学的診断のあり方と療育・教育連携に関する研究」、厚生労働科学研究（平成16年度）「知的障害児者の機能退行の要因分析と予防体系開発に関する研究」、精神神経疾患研究委託費（14公—2）の援助を受けた。またこの研究に関しては浜松市発達医療総合センター、療育センター附属診療所、療育課、総合相談室、および浜松市保健福祉部障害福祉課、浜松市教育委員会学校教育課のスタッフの多大な理解、努力と協力によることを付記する。

文 献

- 1) 杉江秀夫. 知的障害児の遺伝子診断の役割と問題点及び地域における療育センターの役割に関する研究. 加我牧子（班長）：厚生科学研究精神保健福祉総合研究事業「知的障害児の医学的診断のあり方と療育・教育連携に関する研究」平成12年度研究報告書 東京：pp. 35-36
- 2) 杉江秀夫. 知的発達障害と診断した外来受診児の医学的検査：染色体検査の意義について. 加我牧子（班長）：厚生科学研究精神保健福祉総合研究事業「知的障害児の医学的診断のあり方と療育・教育連携に関する研究」平成13年度研究報告書 東京：pp. 17-19
- 3) 杉江秀夫, 杉江陽子. 自閉性障害と周生期因子について：正常発達児との比較検討. 加我牧子（班長）：厚生労働科学研究こころの健康科学研究事業「知的障害児の医学的診断のあり方と療育・教育連携に関する研究」平成14年度研究報告書 東京：pp. 23-25
- 4) 伊藤智恵子, 宮司登志江, 中林睦美, 笹田夕美子, 福田冬季子, 伊藤政孝, 杉江秀夫. 早期集団療育を受けた発達障害児の就園および就学に関する調査. 第49回小児保健学会総会抄録集 神戸, 2002年
- 5) 尾関ゆかり, 伊藤智恵子, 福田冬季子, 伊藤政孝, 杉江秀夫. 教育機関と医療機関との連携に対する保護者の意識. 第49回小児保健学会総会抄録集 神戸, 2002年
- 6) 伊藤政孝, 杉江秀夫, 福田冬季子, 杉江陽子, 大関武彦. 発達障害児が在籍する保育・教育機関と医療機関の連携—医療情報の取り扱いについて—. 2000年 第103回日本小児科学会抄録和歌山市
- 7) 杉江秀夫. 医療教育連携に対する教職員の意識：面談後のアンケート調査. 加我牧子（班長）：厚生科学研究精神保健福祉総合研究事業「知的障害児の医学的診断のあり方と療育・教育連携に関する研究」平成13年度研究報告書 東京：pp. 23-25
- 8) 尾関ゆかり, 伊藤智恵子, 杉江秀夫ら. 子供の発達支援における医療と教育との連携について：浜松市発達医療総合センターでの取り組み. 小児保健研究, 61：776-781, 2002
- 9) 杉江秀夫. 浜松市を中心とした医療教育連携の実践. 厚生労働科学研究発表会抄録 平成15年2月8日, 浜松
- 10) 杉江秀夫. 浜松市発達医療総合センターにおける医療教育連携について. 加我牧子（班長）：厚生労働科学研究こころの健康科学研究事業「知的障害児の医学的診断のあり方と療育・教育連携に関する研究」平成14年度研究報告書 東京：pp. 21-22

PI-26) Bronx waltzer mouse の多動性回転行動に対する D1 アゴニスト投与の影響

小林奈麻子, 稲垣真澄
 国立精神・神経センター
 精神保健研究所 知的障害部
 〒272-0827 千葉県市川市国府台 1-7-3

【目的】

常染色体劣性遺伝性難聴マウスである bronx walter (bv) には回転性行動異常を示す群 (bv 回転群) と示さない群 (bv 非回転群) が存在する。この 2 群には難聴の程度に差は認められず、回転性行動異常が難聴以外の原因によるものであると考えられた。以前我々は、bv 回転群にドパミン受容体、特に D1 系での機能障害が存在することを見出した。本研究では、D1 アゴニストによる bv 回転群における回転性多動行動への効果について検討した。

・【方法】

D1 アゴニスト R(+)-SKF82957 投与 (1-10mg/kg, i.p) 後の自発性運動量、回転数、スピード、および車回し運動に対する影響を検討した。locomotion は DAS システムにより測定し、回転数及び車回し運動は、ビデオ撮影後比較検討した。また車回しは半強制条件とした。

【結果】

1. 自発性運動量

対照群では、D1 アゴニスト投与後行動量が亢進 (止まらなくなる状態) し、30-60 分後には平常時の約 1.7 倍量になった。一方 bv 回転群では投与直後より行動量が平常時の約 57% に減少し、対照群とほぼ同じになった。行動抑制は 30~60 分間持続した。

2. 回転行動

D1 アゴニスト投与により、bv 回転群における回転数の減少が認められた。特に少量投与 (1.25mg/kg) での効果が強く、回転スピードも抑制した。

3. 車回し運動

対照群はホイールに入れた後、スムーズに回すことが出来た。一方、bv 回転群では車回し運動を行うことが困難であった。D1 アゴニスト投与後、対照群、bv 回転群ともに、車回し運動量が投与直後 (1 分間) に亢進した。bv 回転群では、D1 アゴニストの投与量依存的に車回し運動量が増加した。しかしその効果は一過性で、すぐに投与前の状態に戻った。

【考察】

Bronx waltzer mice (bv/bv) に存在している回転群に対しドパミン D1 受容体アゴニストである R(+)-SKF82957 を投与することで、自発性行動量の抑制が認められた。しかしその効果は同じドパミン受容体アゴニストでも D2 系である Apomorphine や Quinpirole を投与した際に見られた停止状態ではなく、行動量は対照群や bv 非回転群の示すレベルを示しており、bv 回転群が呈する多動性行動異常を質的に改

善するものであった。この結果は、以前報告した bv 回転群の線条体ドパミン D1 受容体における機能障害と、多動性行動異常の関連性を裏付けるものと考えられる。

bv 回転群の示す「回転」行動に対しても、D1 アゴニストを投与することにより量、スピードともに抑制効果を示した。bv 回転群は一度回転を開始すると、停止せずに連続して回り続ける特徴があり、方向転換を交えながら多いときで 100 回転以上回り続けることがある。D1 アゴニストを投与すると、回転スピードや全回転数もさることながら、1 エピソードあたりの回転数が極端に減少、つまり回転が継続しなくなるという効果が得られた。このことも、bv 回転群の行動に対する D1 アゴニスト投与の質的改善効果の一つと言え、対照群や bv 非回転群の行動様態に近づいていると考えられる。

一方、bv 回転群は車回し運動がほとんど出来ず、このことから前後肢の共調運動に障害があることが示唆された。D1 アゴニストを投与することにより車回し運動を行うことが可能となり、一定の改善効果が認められた。しかしその効果は回転行動抑制に対する効果よりも極端に短かった。車回し運動を行うことが容易である対照群においても同様に亢進効果が認められたことから、車回し運動に対する D1 アゴニストの作用機序は、自発性行動量に対するものとは異なっている可能性がある。

以上の結果より、bv 回転群における多動性行動異常、特に回転行動とドパミン D1 受容体の機能障害との間に何らかの関連があることが示された。今後は遺伝的背景や他の要因を含め、さらに検討をつづける必要があると考えられる。

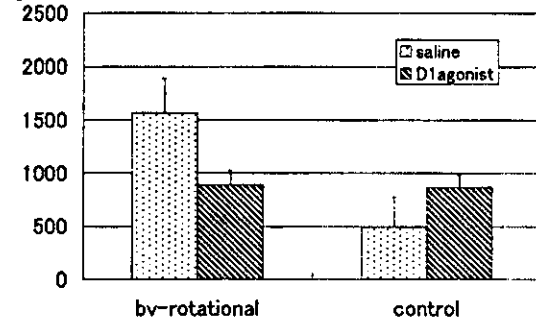


Fig.1 Effects of D1 agonist on the locomotor activity counts/30min

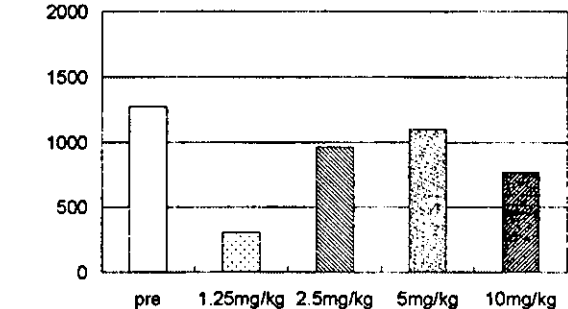


Fig.2 Effects of D1 agonist on the rotational counts of the bv-rotational group

PI-26) Bronx waltzer mouse の多動性回転行動に対する D1 アゴニスト投与の影響

小林奈麻子, 稲垣真澄
 国立精神・神経センター
 精神保健研究所 知的障害部
 〒272-0827 千葉県市川市国府台 1-7-3

【目的】

常染色体劣性遺伝性難聴マウスである bronx walter (bv) には回転性行動異常を示す群 (bv 回転群) と示さない群 (bv 非回転群) が存在する。この 2 群には難聴の程度に差は認められず、回転性行動異常が難聴以外の原因によるものであると考えられた。以前我々は、bv 回転群にドパミン受容体、特に D1 系での機能障害が存在することを見出した。本研究では、D1 アゴニストによる bv 回転群における回転性多動行動への効果について検討した。

【方法】

D1 アゴニスト R(+)-SKF82957 投与 (1-10mg/kg, i. p) 後の自発性運動量、回転数、スピード、および車回し運動に対する影響を検討した。locomotion は DAS システムにより測定し、回転数及び車回し運動は、ビデオ撮影後比較検討した。また車回しは半強制条件とした。

【結果】

1. 自発性運動量

対照群では、D1 アゴニスト投与後行動量が亢進 (止まらなくなる状態) し、30-60 分後には平常時の約 1.7 倍量になった。一方 bv 回転群では投与直後より行動量が平常時の約 57% に減少し、対照群とほぼ同じになった。行動抑制は 30~60 分間持続した。

2. 回転行動

D1 アゴニスト投与により、bv 回転群における回転数の減少が認められた。特に少量投与 (1.25mg/kg) での効果が強く、回転スピードも抑制した。

3. 車回し運動

対照群はホイールに入れた後、スムーズに回すことが出来た。一方、bv 回転群では車回し運動を行うことが困難であった。D1 アゴニスト投与後、対照群、bv 回転群ともに、車回し運動量が投与直後 (1 分間) に亢進した。bv 回転群では、D1 アゴニストの投与量依存的に車回し運動量が増加した。しかしその効果は一過性で、すぐに投与前の状態に戻った。

【考察】

Bronx waltzer mice (bv/bv) に存在している回転群に対しドパミン D1 受容体アゴニストである R(+)-SKF82957 を投与することで、自発性行動量の抑制が認められた。しかしその効果は同じドパミン受容体アゴニストでも D2 系である Apomorphine や Quinpirole を投与した際に見られた停止状態ではなく、行動量は対照群や bv 非回転群の示すレベルを示しており、bv 回転群が呈する多動性行動異常を質的に改

善するものであった。この結果は、以前報告した bv 回転群の線条体ドパミン D1 受容体における機能障害と、多動性行動異常の関連性を裏付けるものと考えられる。

bv 回転群の示す「回転」行動に対しても、D1 アゴニストを投与することにより量、スピードともに抑制効果を示した。bv 回転群は一度回転を開始すると、停止せずに連続して回り続ける特徴があり、方向転換を交えながら多いときで 100 回転以上回り続けることがある。D1 アゴニストを投与すると、回転スピードや全回転数もさることながら、1 エピソードあたりの回転数が極端に減少、つまり回転が継続しなくなるという効果が得られた。このことも、bv 回転群の行動に対する D1 アゴニスト投与の質的改善効果の一つと言え、対照群や bv 非回転群の行動様態に近づいていると考えられる。

一方、bv 回転群は車回し運動がほとんど出来ず、このことから前後肢の共調運動に障害があることが示唆された。D1 アゴニストを投与することにより車回し運動を行うことが可能となり、一定の改善効果が認められた。しかしその効果は回転行動抑制に対する効果よりも極端に短かった。車回し運動を行うことが容易である対照群においても同様に亢進効果が認められたことから、車回し運動に対する D1 アゴニストの作用機序は、自発性行動量に対するものとは異なっている可能性がある。

以上の結果より、bv 回転群における多動性行動異常、特に回転行動とドパミン D1 受容体の機能障害との間に何らかの関連があることが示された。今後は遺伝的背景や他の要因を含め、さらに検討をつづける必要があると考えられる。

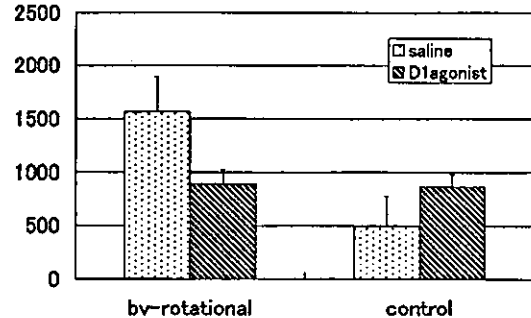


Fig.1 Effects of D1 agonist on the locomotor activity counts/30min

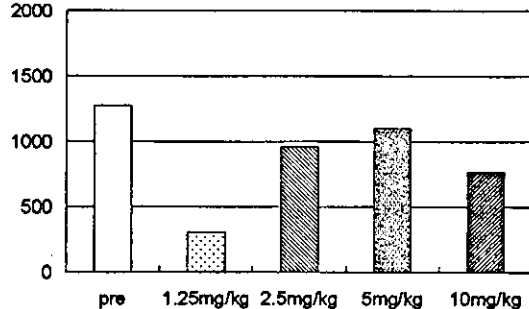


Fig.2 Effects of D1 agonist on the rotational counts of the bv-rotational group