

- ① 腱移行術：変形の矯正、つまみ動作や母指対立などの機能改善を目的とする。病状が進行すると外在筋の麻痺も生じるため、どの腱を移行に用いるかの判断が重要となる。有効な腱移行術を行える術式を選択する必要がある。用いる腱や腱の走行、固定位置などが工夫され、種々の手術方法が報告されている（図9、10）。
- ② 関節固定術：良肢位で関節を固定することで、つまみや力を入れるなどの動作が行いやすくなり手指機能を改善する。拘縮の生じた指に対しても有効な方法である。手指のMP関節、PIP関節、DIP関節などの固定術が行われている。
- ③ 軟部組織解離術：関節拘縮の改善を目的とする。指節間関節に拘縮が強い場合、軟部組織解離術が必要になる。第1・第2指間に拘縮がある場合には、指間形成術も必要になる。
- ④ 神経除圧術：しびれ感などの感覚異常や痛みの改善が期待できる。正中神経に対する手根管開放術、尺骨神経に対するGuyon管開放術や肘部管における尺骨神経前方移所術が行われる。

術後療法；腱移行術や軟部組織解離術では、手術部位における癒着を防止することが大切になる。Dynamic splintなどを併用した保護下の早期運動により、癒着を予防し機能改善を図る。関節固定術では必要に応じて外固定を行うが、運動療法により固定関節以外の部位の関節機能を維持することも重要になる。

股関節の手術

CMTでは股関節の臼蓋形成不全の合併例が報告されている。その合併率は6～8.1%といわれている⁵⁾。CMTと臼蓋形成不全発生との関連ははっきりしないが、近位筋の筋力低下が関係している可能性がある。

症状は比較的軽く、痛みのない場合もある

ので、CMTにおいては股関節の診察やスクリーニングとしてのレントゲン撮影が勧められている。家族内発生の頻度が高いことが報告されているため、家族に臼蓋形成不全をもつ者がいる場合には注意が必要である。また、若年者の臼蓋形成不全に遭遇したら、神経筋疾患も念頭に置く必要があると思われる。

手術は臼蓋の形成不全に対する骨盤骨切手術、股関節の適合性を改善するために大腿骨骨切術が行われる。骨盤骨切術は、大腿骨頭に対する臼蓋の被覆を改善することを目的とし、Chiari骨切術、Salter骨切術、Steel骨切術、棚形成術（shelf operation）など各種の方法が考案されている。大腿骨骨切術は、大腿骨の頸部、転子部、転子下を骨切することで大腿骨頭の温存を図る。内反骨切術、外反骨切術などが用いられている。これら骨盤と大腿骨の手術は、単独もしくは両者を組み合わせて行われている。

術後療法；骨切術を行った場合、術後は免荷期間が必要になる。また、術中・術後に坐骨神経麻痺、腓骨神経麻痺が発生したとの報告もある。CMTでは末梢神経が圧迫などにより障害を受けやすいので術中のみでなく、術後もギプスや肢位などに注意を払う必要がある。

脊椎の手術

CMTでは10%から30%の症例に脊椎変形がみられるといわれている。変形は側弯が主であるが、約半数に後弯が合併するとの報告がある。治療は、一般に特発性側弯症に対するのと同様な方法で行われる。体幹コルセットによる保存治療は有効との報告もあるが、KarolとElersonによる45例の治療経験では、装具治療はあまり有効ではなく1/3の例で手術に至ったと報告されている⁶⁾。これら側弯の悪化を認めた例の特徴は、CMTの進行により歩行不能となっていた例、側弯に後弯変形を伴う例であった。高度な変形にはインスト

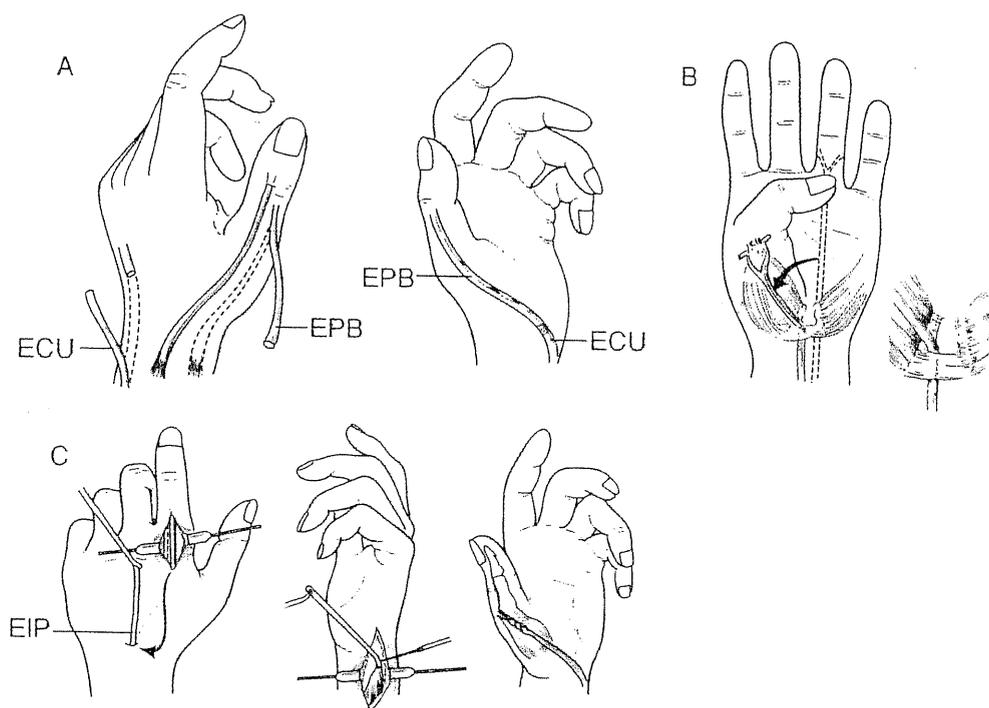


図9 腱移行術による母指対立再建³⁾
 A: 尺側手根伸筋腱 (ECU) を用いた方法
 B: 浅指屈筋腱 (FDS) を用いた方法
 C: 示指固有伸筋腱 (EIP) を用いた方法

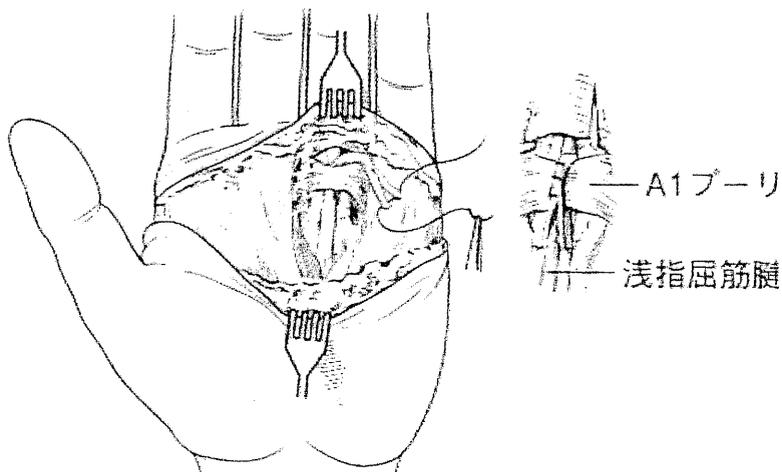


図10 鷺手変形に対するlasso法⁴⁾
 腱鞘を横切して浅指屈筋腱を引き出して切離。腱を反転しA1プーリーに引っ掛け浅指屈筋腱に縫着する。

ルメントを用いた脊椎の変形矯正固定手術が行われる。CMTにおける手術合併症発生の危険性が、特発性側弯症と比較して高くなるというエビデンスはない。現在側弯の矯正手術

中には、神経組織を手術操作で損傷するのを防ぐ目的で手術中に電気生理学的手法を用い脊髄などの機能を監視する脊髄モニタリングが広く用いられているが、CMTではその末梢

神経障害のため全ての症例に適応できないことは問題と思われる。

術後療法；手術後は固定部の骨癒合を得るために、外固定が必要になる。体幹コルセットなどを用いる。

文 献

- 1) Herring JA. Tachdjian's Pediatric Orthopaedics, 4th ed, Saunders, Philadelphia, 2008, pp1139-1164, pp1585-1597.
- 2) Wetmore RS, Drennan JC. Long-term results of triple arthrodesis in Charcot-Marie-Tooth disease. *J Bone Joint Surg* 1989; 71A: 417-422.
- 3) Wood VE, Huene D, Nguyen J. Treatment of the upper limb in Charcot-Marie-Tooth disease. *J Hand Surg* 1995; 20B: 511-518.
- 4) Zancolli E: Structural and Dynamic Bases of Hand Surgery, 2nd ed, Lippincott, Philadelphia, 1979, pp174-198.
- 5) Walker JL, Nelson KR, Heavilon JA, *et al.* Hip abnormalities in children with Charcot-Marie-Tooth disease. *J Pediatr Orthop* 1994; 14: 54-59.
- 6) Karol LA, Elerson E. Scoliosis in patients with Charcot-Marie-Tooth disease. *J Bone Joint Surg* 2007; 89A: 1504-1510.

Surgical treatment for patients with Charcot-Marie-Tooth disease

Kota WATANABE and Toshihiko YAMASHITA

Department of Orthopaedic Surgery, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo

Foot deformity is often observed and common operative treatment is foot surgery for patients with Charcot-Marie-Tooth disease. The posterior tibialis and peroneus longus remain strong serving to invert the hindfoot, while the tibialis anterior and peroneus brevis are weak and therefore cannot dorsiflex the ankle, elevate the first metatarsal, or evert the foot. The intrinsic muscles of the sole of the foot are weak and become contracted, leading to elevation of the longitudinal arch. Foot deformity includes pes cavus, cavovarus, claw toes, or drop foot caused by dorsal muscle palsy of the ankle. Single or combined surgeries are selected for soft tissue such as plantar release, tendon transfer, or Achilles tendon lengthening, and for bones such as osteotomies and joint fusions. Appropriate soft tissue surgery with tendon transfer early in the disease in young patients may be sufficient to postpone or avoid triple arthrodesis. Tendon transfers used in Charcot-Marie-Tooth disease include transfer of the posterior tibialis tendon to the dorsum of the foot and transfer of the peroneus longus to the peroneus brevis. The upper limb demonstrates first a loss of power of the intrinsic hand muscles and symmetrical atrophy of the forearm muscle groups. Typical hand deformity is claw hand. Tendon transfer, joint fusion, soft tissue release, or nerve decompression procedures are performed for hand problems. Acetabular dysplasia is sometimes observed and osteotomies are selected as surgical treatments for such cases. Combined spinal deformity is scoliosis with or without lordosis. In patients with such spinal deformity, similar procedures are performed to idiopathic scoliosis.

Key Words: Charcot-Marie-Tooth disease, surgery, foot/hand deformity, pes cavus, peripheral nerve disease

足部横アーチの評価とその荷重による変化：CTによる3次元解析

木井 雄一郎¹⁾, 鈴木 智之¹⁾, 三好 俊行¹⁾, 渡邊 耕太²⁾, 山下 敏彦²⁾

¹⁾帯広協会病院整形外科

²⁾札幌医科大学医学部整形外科

要 旨

足部横アーチの荷重による変化を正確に評価する方法はいまだ確立していない。我々は荷重・非荷重時の足部CTを舟状骨で重ね合わせることで横アーチの生体内3次元解析を行い、荷重・非荷重による変化を計測した。

対象は足部疾患の既往のない男性12例12足、平均年齢29.3歳（26-41歳）であった。CT撮影肢位は仰臥位で足関節中間位とした。軸荷重装置を使用し非荷重は2kg、荷重時は体重の1/3を片脚に負荷し、足関節から足先端までCT撮影した。画像解析ソフトを用いて荷重時と非荷重時の3次元足モデルを重ね合わせ、横アーチ低下率、transverse arch height index（以下TAHI）、最下点変化量を算出し比較検討した。横アーチを中足骨頭レベル、中足骨基部レベル、楔状骨—立方骨レベルで評価すると、TAHIはいずれのレベルにおいても荷重時に有意に小さくなった。横アーチ低下率、最下点変化量は中足骨頭レベルで最も大きく、近位のレベルでより小さくなる傾向を認めた。本法は足アーチに変化をきたす疾患にも応用可能であり、これらの病態解明や治療法を検討する際に有用な情報が提供可能であると考えられた。

はじめに

足は3つのアーチ構造（内側縦アーチ、外側縦アーチ、横アーチ）を有する。縦アーチ構造は歩行時にばねとして働き、蹴りだし力を高めて歩行の効率を良くし、体重移動を円滑にするとされている¹⁾。

縦アーチに関してはこれまで多くの報告があるが、横アーチについて詳細に分析した報告はほとんどない。その一因として画像評価の困難さが挙げられる。横アーチの画像評価法としては、単純X線、エコー、足底圧、CTなどの報告があるが、生体内の荷重によるアライメント変化を正確に評価する方法はいまだ確立されていない。

本研究では荷重・非荷重時の足部CT3次元モデルにより横アーチを可視化し、得られた画像を舟状骨で重ね合わせることで荷重による変化を定量的に比較検討した。

対象と方法

対象は足部外傷・障害の既往のない男性12例12足である。平均年齢は29.3歳（26-41歳）である。CT撮影肢位は仰臥位で足関節中間位とした。荷重には軸荷重装置（Dynawell[®]）を使用し、非荷重は2kg、荷重時は体重の1/3を片脚に負荷した。両脚で体重の2/3が負荷された状態で、両足を同時にCT撮影した（図1）。荷重条件については軸荷重装置に内蔵された体重計の限界と被験者の撮影中にかかる負荷を考慮して決定した。

CT撮影で得られたDICOMデータから、骨表面の輪郭を抽出することにより、骨表面3次元モデルを作成した（図2）。次に画像解析ソフト（3-matic5.01[®], Materialise社）を用い、荷重時と非荷重時モデルの舟状骨を完全に重ね合わせた。横アーチ評価のため中足骨頭レベル、中足骨基部レベル、楔状骨—立方骨レベルという3つの断面図を作成した（図3）。各レベルにおける断面の決定方法は以下のとおりである。1）中足骨頭レベル：第1中足骨底側の種子骨の最下点と第5中足骨頭の最下点とを通り床面に垂直な断面、2）中足骨基部レベル：第1中足骨と第5中足骨の近位端の最下点を通り床面に垂直な断面、3）楔状骨—立方骨レベル：内側楔状骨と立方骨の最下点を通り床面に垂直な断面。各断面における上記の基準となる骨の最下点間の距離を、それぞれのレベルでの横アーチ幅とした。また、各断面における第2中足骨（楔状骨—立方骨レベルでは中間楔状骨）の最下点から横アーチ幅の線までの最短距離を横アーチ高と定義し計測した（図4）。さらに、荷重の影響など横アーチを詳細に評価するために以下の3つの指標を定義し検討した。

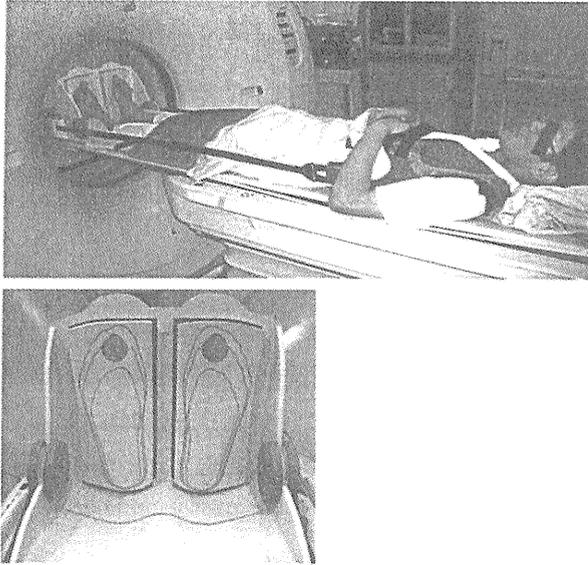


図1 軸荷重装置を用いたCT撮影法
 上図：体幹に装着したベストと足台をつなぐバンドを縮めていくことで、仰臥位でも足部に体重を模した荷重が負荷される。
 下図：足台の足接地面。足型がプリントされており、撮影肢位の再現性を向上させている。足台には片足ごとに体重計が内蔵されており、加わった荷重がわかる。

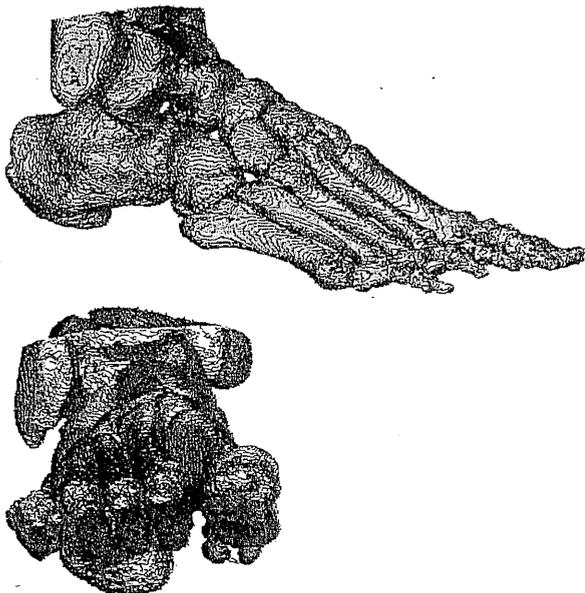


図2 骨表面3次元モデル
 上図：非荷重時
 下図：荷重・非荷重条件の重ね合わせモデル（黄：荷重時，黒：非荷重時）

(a) 横アーチ低下率

中足骨頭レベル，中足骨基部レベル，楔状骨一立方骨レベルの3つの横アーチにおける荷重の影響を比較検討するために横アーチ低下率を算出した。これは、非荷重時と荷重時の横アーチ高の差を非荷重時の横アーチ高で除して100倍したものである。

$$a - a' / a \times 100$$

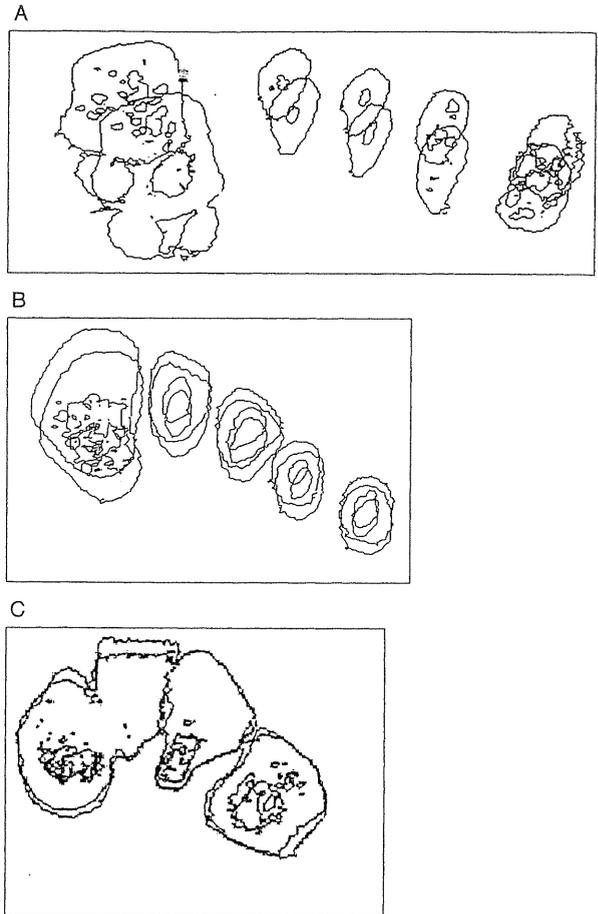


図3 重ね合わせモデルより抽出した3つの断面
 A：中足骨頭レベル，B：中足骨基部レベル，C：楔状骨一立方骨レベル

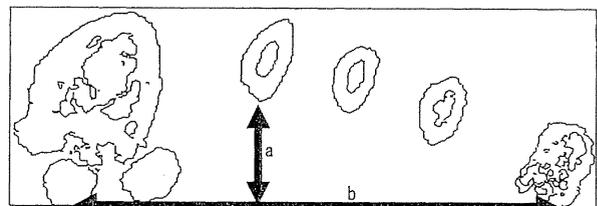


図4 横アーチ高 (a) と横アーチ幅 (b) の計測部位 (図は中足骨頭レベルの断面)

a : 非荷重時横アーチ高

a' : 荷重時横アーチ高

(b) Transverse arch height index (TAHI)

各レベルでの横アーチの形状（アーチの扁平程度）を評価するために，transverse arch height index (TAHI) を算出した。これは，横アーチ高を横アーチ幅で除して100倍したものである。それぞれのレベルで荷重時，非荷重時のTAHIを比較した。

$$c/d \times 100$$

c : 横アーチ高

d : 横アーチ幅

(c) 最下点変化量

横アーチを構成する各骨の最下点の荷重による垂直方向の変化量を、最下点変化量と定義した。これを用いて、各レベルにおける内側から外側までの各々の骨の位置変化を検討した。

統計学的解析には(a), (c)ではone-way ANOVA, (b)ではpaired t-testを使用した。p値0.05未満を有意差ありとした。

結 果

横アーチ低下率の平均値は中足骨頭レベルで12.7%，中足骨基部レベルで7.9%，楔状骨一立方骨レベルで6.6%であった（図5）。横アーチ低下率は足の遠位のレベルでより高い傾向があったものの、統計学的な有意差は認めなかった。

TAHIの平均値は非荷重時においては、中足骨頭レベルで21.6%，中足骨基部レベルで23.5%，楔状骨一立方骨レベルでは34.0%と近位に向かうに従って大きくなる傾向を示した。荷重時にはそれぞれ18.1%，20.3%，28.6%と変化し、近位に向かうほどより大きい値を保ちながらも、非荷重時に比べいずれも有意に小さい値となった（図6）。

最下点変化量の平均値は、中足骨頭レベルで第1中

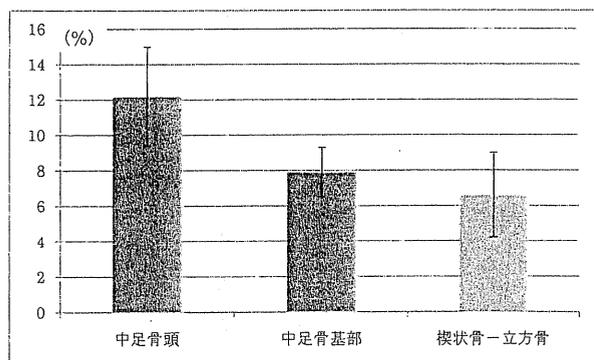


図5 横アーチ低下率

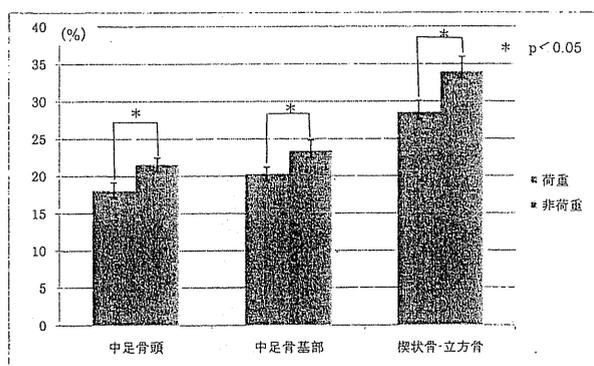


図6 Transverse arch height index (TAHI) 荷重と非荷重の条件間でいずれのレベルにおいても統計学的有意差を認めた。

足骨が10.8mm，第2中足骨が8.6mm，第3中足骨が8.9mm，第4中足骨が7.8mm，第5中足骨が5.8mmであった。中足骨基部レベルではそれぞれ5.2mm，3.7mm，4.0mm，3.8mm，3.7mmであった。楔状骨一立方骨レベルでは内側楔状骨が2.9mm，中間楔状骨が1.5mm，外側楔状骨が1.9mm，立方骨が2.2mmであった。3つのレベルいずれにおいても第1趾列の変化量が大きかったものの、統計学的有意差を認めなかった（図7）。

考 察

足部の横アーチ構造は足の機能において重要な働きをしており、その破綻は外反母趾をはじめとする種々の足部疾患と関連があると考えられているため、以前から荷重条件下での横アーチの評価が試みられてきた。Kumanoら³⁾はMTP関節45°背屈位で単純X線足部軸位像を撮影し横アーチを評価した。Suzukiら⁷⁾はMTP関節30°背屈位で、単純X線写真により荷重時横アーチを評価した。彼らは荷重時に横アーチは平坦化したと報告した。しかしStephans⁶⁾は、荷重下にMTP関節を背屈させて足部軸写撮影をすると巻き上げ機現象の影響が加わるため横アーチの正確な評価ができないと指摘している。単純X線写真の足部軸写像を撮影するためにはMTP関節を背屈させなければならない、これは生理的な肢位とは言えない。Wangら⁸⁾はエコーを用いて荷重時の中足骨頭レベルの横アーチを評価した。その結果、第1中足骨から外側に向かって横アーチが直線的に傾斜していた。しかしエコーでは、一般的にはプローブの大きさに限界があり、横アーチを同一画面に可視化することは困難である。Lugerら⁴⁾は足底圧を計測し、横アーチの形態を仮想した。しかしこ

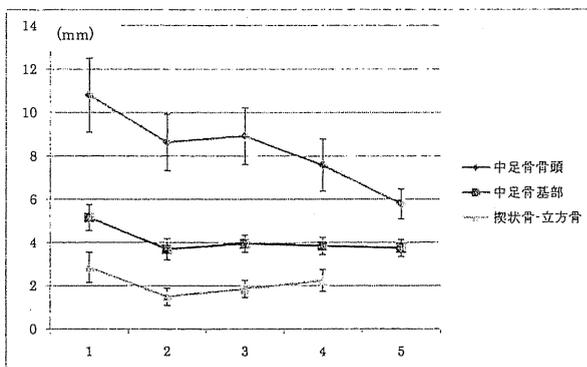


図7 最下点変化量 横軸の数字は中足骨頭レベルと中足骨基部レベルでは、1：第1中足骨，2：第2中足骨，3：第3中足骨，4：第4中足骨，5：第5中足骨。楔状骨一立方骨レベルでは、1：内側楔状骨，2：中間楔状骨，3：外側楔状骨，4：立方骨。

の方法では、直接横アーチを可視化しておらず、さらに非荷重時とのアライメント変化をとらえることができない。本研究では、荷重・非荷重の足部CT 3次元モデルを舟状骨で重ね合わせることで横アーチの動態を可視化した。これにより同一個体における生体足の荷重・非荷重による変化を正確に計測することを可能にした。

荷重時の横アーチの役割に関してはいまだ一定の見解が得られていない。Kapandji²⁾は荷重時に足部は第1中足骨頭、第5中足骨頭、踵部の3点で接地することから、これを‘tripod’と名付け、この構造が衝撃吸収としての機能を担っているとした。しかし、Luger⁴⁾やKanatli¹⁾は足底圧を計測し、立脚相で第1、5中足骨に比べ、第2、4中足骨での圧が高いことを報告した。このことから荷重時に前足部横アーチは存在せず、tripodの考え方に否定的な見解を示した。本研究では、TAHIは中足骨頭レベル、中足骨基部レベル、楔状骨—立方骨レベルの全てのレベルにおいて荷重により低下したが、完全に平坦化していなかった。これは荷重時にも横アーチが存在することを支持する結果である。荷重により横アーチのアライメントが変化しつつもアーチ構造を維持していたことから、足縦アーチと同様に横アーチが衝撃吸収と推進力という働きを持っている可能性がある。

最下点変化量は中足骨頭レベルでは第1趾から第5趾にかけて直線的に減少した。それぞれの骨の変化量は中足骨基部レベル、楔状骨—立方骨レベルにおける変化量よりも大きかった。また、3つのレベルいずれにおいても第1趾列での変化量が大きかった。さらに、アーチ減少率が前足部で大きい傾向がみられるなど、横アーチの荷重に対する反応は足のレベルや各々の骨で異なることがわかった。これらのことから、横アーチは荷重に対して足全体として協調して変化しながらも、部位ごとに異なる機能も併せ持っている可能性が考えられた。

本研究では、正常足の荷重による横アーチ変化の詳細な分析が可能であった。本研究で用いた方法により、横アーチの減少をきたす種々の疾患（外反母趾、扁平足など）の病態解明やより有効な治療法の開発に寄与することが可能であると考えられた。

ま と め

- ①荷重・非荷重時の足部CT 3次元モデルを重ね合わせることで横アーチの動態を可視化した。
- ②横アーチを中足骨頭レベル、中足骨基部レベル、

楔状骨—立方骨レベルで評価すると、荷重によりいずれのレベルにおいても横アーチは減少した。

- ③横アーチの荷重による変化量は、足の近位よりも遠位レベルで、外側よりも内側（第1趾列）でより大きい傾向を認めた。

Key words : foot (足), transverse arch (横アーチ), CT画像 (Computed tomography), 3次元解析 (three-dimensional analysis)

文 献

- 1) Kanatli U, Yetkin H, Bolukbasi S. : Evaluation of the transverse metatarsal arch of the foot with gait analysis. Arch Orthop Trauma Surg., 123 : 148-15, 2003
- 2) Kapandji LA. : The physiology of the joints. Edinburgh & London : E & S Livingstone, 1970
- 3) Kumano H, Kinoshita M, Onomura T. : Radiological studies on transverse arch of the foot (part1) : new tangential radiography of metatarsus. J Jpn Soc Surg Foot, 15 : 259-262, 1994
- 4) Luger EJ, Nissan M, Karpf A. Patterns of weight distribution under the metatarsal heads. J Bone Joint Surg., 81-B : 199-202, 1999
- 5) Michael S, Pinzur MD. Biomechanics of the foot and ankle. Orthopaedic Knowledge Update Foot and Ankle 4 : 3-13, 2008
- 6) Stephens MM. Letters to the editor. Comment on “Coronal plane rotation of the first metatarsal” Foot Ankle Int., 17 : 720-721, 1996
- 7) Suzuki J, Tanaka Y, Takaoka T. Axial radiographic evaluation in hallux valgus : evaluation of the transverse arch in the forefoot. J Orthop Sci., 9 : 446-451, 2004
- 8) Wan TG, Hsiao TY, Wang TM. Measurement of vertical alignment of metatarsal heads using a novel ultrasonographic device. Ultrasound in Med & Bil., 29 : 373-377, 2003

ORIGINAL ARTICLE

Molecular diagnosis and clinical onset of Charcot–Marie–Tooth disease in Japan

Akiko Abe, Chikahiko Numakura, Kazuki Kijima, Makiko Hayashi, Taeko Hashimoto and Kiyoshi Hayasaka

To study the genetic background of Japanese Charcot–Marie–Tooth disease (CMT) patients, we analyzed qualitative and quantitative changes in the disease-causing genes mainly by denaturing high performance liquid chromatography and multiplex ligation-dependent probe analysis in 227 patients with demyelinating CMT and 127 patients with axonal CMT. In demyelinating CMT, we identified 53 patients with *PMP22* duplication, 10 patients with *PMP22* mutations, 20 patients with *MPZ* mutations, eight patients with *NEFL* mutations, 19 patients with *GJB1* mutations, one patient with *EGR2* mutation, five patients with *PRX* mutations and no mutations in 111 patients. In axonal CMT, we found 14 patients with *MFN2* mutations, one patient with *GARS* mutation, five patients with *MPZ* mutations, one patient with *GDAP1* mutation, six patients with *GJB1* mutations and no mutations in 100 patients. Most of the patients carrying *PMP22*, *MPZ*, *NEFL*, *PRX* and *MFN2* mutations showed early onset, whereas half of the patients carrying *PMP22* duplication and all patients with *GJB1* or *MPZ* mutations showing axonal phenotype were adult onset. Our data showed that a low prevalence of *PMP22* duplication and high frequency of an unknown cause are features of Japanese CMT. Low prevalence of *PMP22* duplication is likely associated with the mild symptoms due to genetic and/or epigenetic modifying factors.

Journal of Human Genetics advance online publication, 17 February 2011; doi:10.1038/jhg.2011.20

Keywords: Charcot–Marie–Tooth disease; CMT; denaturing high performance liquid chromatography; DHPLC; MLPA; multiplex ligation-dependent probe analysis; peripheral myelin protein 22; PMP22

INTRODUCTION

Charcot–Marie–Tooth disease (CMT) is the most common inherited peripheral neuropathy-affecting motor and sensory nerves of the peripheral nervous system. The disease is genetically highly heterogeneous and has been traditionally classified into demyelinating and axonal forms based on nerve conduction studies. More than 27 genes have been identified as disease-causing genes of CMT (<http://www.molgen.ua.ac.be/CMTMutations/Mutations>). Disease-causing genes of demyelinating forms have been identified as follows: genes encoding myelin components, genes encoding regulators of myelin gene transcription and genes encoding intracellular Schwann cell proteins that are likely associated with the synthesis, transport and degradation of myelin components.^{1–4}

Regarding the causes of axonal forms, genes encoding cytoskeletal proteins, genes associated with axonal transport or with mitochondrial dynamics and genes encoding several aminoacyl-tRNA synthetases have been identified.⁵

To identify the genetic background of Japanese CMT cases, we previously screened for gene mutations using single-strand conformation polymorphism^{6–9} or denaturing gradient gel electrophoresis^{10,11} and recently performed such screening by denaturing high performance liquid chromatography (DHPLC).^{12–14} In addition, we screened for quantitative alterations in the major causative genes

using multiplex ligation-dependent probe analysis (MLPA).¹⁵ We also studied the relationship between the genotype and age at clinical onset.

MATERIALS AND METHODS

The Ethics Committee of Yamagata University School of Medicine approved this study. Peripheral blood specimens were used for genetic analysis after written informed consent was obtained from the patients or patient's families.

Patients

We studied 227 patients with demyelinating CMT: male-to-female ratio, 1.6:1; median age, 29.5 years old (ranging from 6 months to 88 years old), and 127 patients with axonal CMT: male-to-female ratio, 1.8:1; median age, 27.5 years old (ranging from 2 to 75 years old).

Extraction of genomic DNA

We extracted genomic DNA from the peripheral blood of patients with CMT, patients' family members and healthy controls using a standard method.

Screening for PMP22 duplication/deletion and gene mutations using DHPLC

Analysis flow charts are shown in Figures 1 and 2. First, we screened for *PMP22* duplication or deletion by fluorescence *in situ* hybridization (FISH) or Southern blot hybridization methods in patients showing both phenotypes.¹⁶ Patients

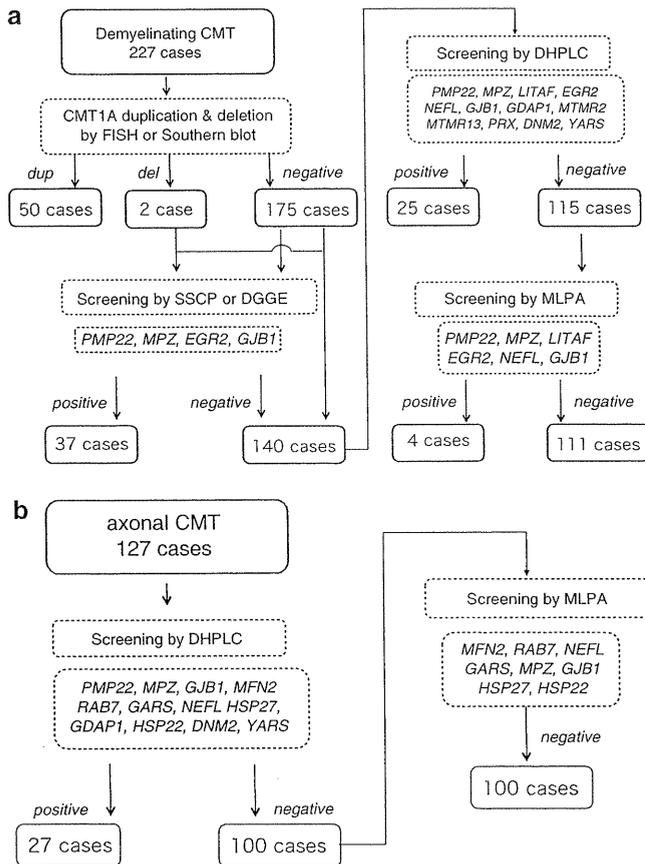


Figure 1 Schema of mutation analysis of demyelinating and axonal Charcot-Marie-Tooth disease (CMT). (a) Demyelinating CMT. (b) Axonal CMT.

with no *PMP22* duplication or deletion were then screened for gene mutations by single-strand conformation polymorphism⁶⁻⁹ or denaturing gradient gel electrophoresis^{10,11} and recently by DHPLC.¹²⁻¹⁴ In patients with demyelinating CMT, we screened for mutations of *PMP22*, *MPZ*, *LITAF*, *NEFL*, *GJB1*, *GDAP1*, *MTMR2*, *MTMR13*, *EGR2*, *PRX*, *DNM2* and *YARS*. In patients with axonal CMT, we screened for the mutation of *MFN2*, *RAB7*, *GARS*, *NEFL*, *HSP27*, *MPZ*, *HSP22*, *GDAP1*, *GJB1*, *DNM2* and *YARS*. We amplified all coding regions and its exon-intron boundary regions using a set of PCR primers designed based on the genomic information (details available upon request) or previous reports: *NEFL*,¹⁷ *GDAP1*,¹⁸ *EGR2*,¹¹ *PRX*,¹² *MFN2*¹⁴ and *HSP27*.¹³ After a heteroduplex was introduced, we analyzed the samples by DHPLC (WAVE DHPLC System; Transgenomic, Omaha, NE, USA). The fragments showing heteroduplex were sequenced by the Dye Deoxy Terminator Cycle method on an ABI Prism Genetic Analyzer 310 (PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Screening for quantitative alteration of the major causing genes using MLPA

We screened for quantitative alteration (microdeletion or amplification) of the major causing genes using MLPA in patients, who did not show any mutation on DHPLC. We analyzed *PMP22*, *MPZ*, *LITAF*, *GJB1*, *NEFL* and *EGR2* in 115 patients with demyelinating CMT, and *MFN2*, *RAB7*, *GARS*, *NEFL*, *HSP27*, *HSP22*, *MPZ* and *GJB1* in 100 patients with axonal CMT. Probes for MLPA were designed based on genomic information so that the length of the PCR products varied in the sets of genes analyzed at the same time (details available upon request). MLPA reaction was performed using an MLPA kit (MRC Holland, Amsterdam, The Netherlands), and PCR products were analyzed by fragment analysis using ABI Prism Genetic Analyzer 310. The obtained peak area was standardized for each gene. We calculated the mean and standard

deviation of each peak in 20 normal controls. We set threshold values for identification of abnormal results at $>+3.0$ s.d. or <-3.0 s.d. based on the mean of normal controls.¹⁹

RESULTS

Disease-causing gene mutation in the patients

As shown in Figure 1a, we analyzed 227 cases of demyelinating CMT and found 50 cases carrying *PMP22* duplication by FISH or Southern blot analysis. We also detected *PMP22* duplication in three cases by MLPA, which had not been detected by FISH or Southern blot analysis, indicating that MLPA is a more sensitive method of detecting the copy number variation of *PMP22* than FISH or Southern blot analysis. We finally found 53 cases carrying *PMP22* duplication, which were ~25% of demyelinating CMT and significantly lower than the frequency of 50–70% reported from European countries²⁰ and the USA²¹ (Table 1). By screening with single-strand conformation polymorphism or denaturing gradient gel electrophoresis or DHPLC and MLPA, we found 10 cases carrying *PMP22* mutations, 20 cases carrying *MPZ* mutations, eight cases carrying *NEFL* mutations, 19 cases carrying *GJB1* mutations, one case carrying *EGR2* mutation and five patients carrying *PRX* mutations (Table 1). Two cases carrying *PMP22* deletion on one allele demonstrated severe symptoms and were further analyzed. Single-strand conformation polymorphism and MLPA analyses detected a missense mutation and a small deletion on the other *PMP22* allele, respectively. We finally identified one patient was a compound heterozygote carrying a deletion of the whole *PMP22* on one allele and a missense Arg157Gly mutation of *PMP22* on the other allele²² and the other patient was a compound heterozygote carrying a deletion of the whole *PMP22* on one allele and a deletion of exon 5 of *PMP22* on the other allele.²³ However, we could not find any mutation in 111 patients (Table 1).

In axonal type, we analyzed 127 patients by DHPLC and detected mutations in 27 cases: 14 cases carrying *MFN2* mutations, one case carrying *GARS* mutation, five cases carrying *MPZ* mutations, one case carrying *GDAP1* mutation and six cases carrying *GJB1* mutations (Figure 1b). In 100 patients, we could not find any mutations by DHPLC analysis. We further screened for quantitative alteration of major causative genes using the MLPA method, but did not find any mutations (Figure 1b, Table 2).

Previously unreported novel mutations are described in Table 3.

Relationship between the genotype and age at clinical onset

We studied the relationship between genotype and patient age at clinical onset. In the demyelinating form, half of the patients with *PMP22* duplication presented with symptoms within the first two decades of life, whereas half of them presented with symptoms after 20 years of age (Figure 2a). Most of the patients carrying *PMP22*, *MPZ*, *NEFL* or *PRX* mutations were early onset and presented within the first decade. The patients with *GJB1* mutations showed symptoms before 40 years of age.

As for the axonal type, nearly all patients with *MFN2* mutations were early onset in childhood (Figure 2b). Most patients with *MPZ* or *GJB1* mutations were adult onset and patients carrying *MPZ* mutations were older than patients carrying *GJB1* mutations.

DISCUSSION

To identify the genetic background of Japanese CMT cases, we screened gene mutations by FISH or Southern blot analysis, DHPLC and MLPA methods. The major characteristics of demyelinating CMT in Japanese are the low prevalence of *PMP22* duplication and high frequency of unidentified gene mutations compared with the reports

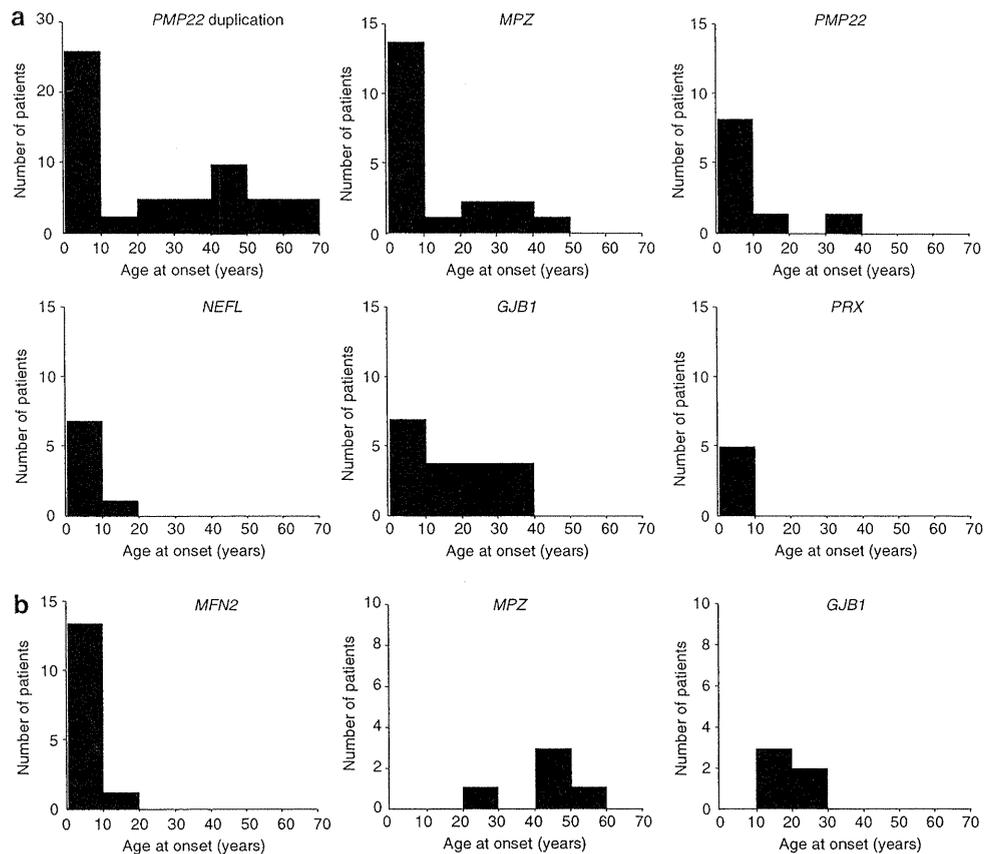


Figure 2 Genotype and age at clinical onset in demyelinating and axonal Charcot–Marie–Tooth disease (CMT). Association between genotype and age at clinical onset is shown. Vertical axis corresponds to the numbers of patients and horizontal axis to the age at onset. (a) Demyelinating CMT. (b) Axonal CMT.

Table 1 Gene mutations in demyelinating CMT

	PMP22 duplication	PMP22	MPZ	LITAF	NEFL	GJB1	GDAP1	MTMR2	MTMR13	EGR2	PRX	DNM2	YARS	Unknown	Total	
Our study	53 (40) 23.3%	10 (8) 4.4%	20 (15) 8.8%	0 0%	8 (8) 3.5%	19 (15) 8.5%	0 0%	0 0%	0 0%	1 (1) 0.4%	5 (4) 2.2%	0 0%	0 0%	111 48.9%	227	
Italy	98 57.6%	2 1.2%	4 2.3%	ND ND	ND ND	12 7.1%	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND	54 31.8%	170
USA	79 54.1%	5 3.4%	5 3.4%	ND ND	ND ND	8 5.5%	0 0%	ND ND	ND ND	1 0.7%	1 0.7%	ND ND	ND ND	ND ND	51 34.9%	146

Abbreviations: CMT, Charcot–Marie–Tooth disease; ND, not done.

Numbers in parentheses indicate data previously published.^{6–14,16,22,23,27,33,34,41,42} PMP22 mutations include a compound heterozygote of a PMP22 deletion and a missense Arg157Gly mutation²² and a compound heterozygote of a PMP22 deletion and an exon 5 deletion mutation.²³

Table 2 Gene mutations in axonal CMT

	MFN2	RAB7	GARS	NEFL	HSP27	MPZ	HSP22	GDAP1	GJB1	DNM2	YARS	Unknown	Total
Our study	14 (7) 11.0%	0 0%	1 (1) 0.8%	0 0%	0 0%	5 (3) 4.0%	0 0%	1 0.8%	6 (4) 4.7%	0 0%	0 0%	100 78.7%	127

Abbreviation: CMT, Charcot–Marie–Tooth disease.

Numbers in parentheses indicate data previously published.^{14,33,34}

from European countries²⁰ and the USA²¹ (Table 1). The low prevalence of *PMP22* duplication in Japanese CMT can be explained by ethnic differences. *De novo* *PMP22* duplication is known to arise from unequal crossing over via long repeat sequences, located at the 5' and 3' regions of the *PMP22* gene.²⁴ More than 10% of the patients

with *PMP22* duplication are reported to show *de novo* mutations.²⁵ If Japanese have a variation in the sequence of long repeats that decreases the frequency of unequal crossing over, the low prevalence of *PMP22* duplication would be explained. However, there is no report indicating any variation in the repeats. Vincristine-induced peripheral

Table 3 Novel mutations

Gene	Nucleotide change	Amino-acid change	Genotype	Phenotype
MPZ	c.235-1G>C	3'-splice site	Heterozygote	Axonal CMT
	c.278G>C	Gly93Ala	Heterozygote	Demyelinating CMT
	c.410G>C	Gly137Ala	Heterozygote	Demyelinating CMT
GJB1	c.124A>C	Ser42Cys	Hemizygote	Demyelinating CMT
	c.247_256del10	Leu83ProfsX22	Hemizygote	Axonal CMT
MFN2	c.310C>T	Arg104Trp	Heterozygote	Axonal CMT
	c.476C>T	Ser249Phe	Heterozygote	Axonal CMT
	c.2171T>C	Leu724Pro	Heterozygote	Axonal CMT
PRX	(c.875-906del32; c.915-923dup9; c.924A>T; c.927T>G)	Val292AlafsX52	Homozygote	Demyelinating CMT
GDAP	(c.740C>A)+(c.845G>A)	(Ala247Val)+(Arg282His)	Compound heterozygote	Axonal CMT

Abbreviation: CMT, Charcot-Marie-Tooth disease.

neuropathy is sometimes an initial symptom of patients with *PMP22* duplication.¹⁰ In the study of families with vincristine-induced peripheral neuropathy, we frequently found family members, who were almost or completely asymptomatic and were unaware of being affected.²⁶ Recently, modifying factors have been discussed especially in association with the phenotypic variability in *PMP22* duplication. Japanese patients with *PMP22* duplication may have mild symptoms due to genetic and or epigenetic modifying factors and may be unaware of being affected. Ascertainment bias may be associated with low prevalence of *PMP22* duplication. In addition, social and or reproductive fitness impairment of the affected individuals should also be considered.

We found *NEFL* mutations in eight patients (3.5%) with demyelinating form, but not in patients with the axonal form.²⁷ *NEFL* mutations had initially been identified as the cause of dominant axonal CMT, but these mutations were also detected in many patients with dominant demyelinating CMT. Diameter of the axon is the principal determinant of conduction velocity and conduction velocity is nearly proportional to the diameter of the axon.^{28,29} Decrease in the diameter of the axon in the patients with *NEFL* mutations is likely associated with decreased nerve conduction velocities. We found a patient carrying a homozygous Glu140Stop mutation, which may cause loss-of-function.²⁷ *NEFL* mutation is one of the major causes of dominant demyelinating CMT and also a cause of recessive phenotype.^{27,30}

In the axonal phenotype, *MFN2* mutations were the most frequent in 10% of the patients. However, its frequency was lower than 20–30% reported in other countries.^{14,31,32} Following the *MFN2* mutations, we found *GJB1* or *MPZ* mutations in 4–5% of patients with axonal CMT (Table 2). *GARS* or *GDAP1* mutations are very rare and were detected in one patient each.³³ No disease-causing mutation was identified in ~80% of patients with axonal CMT. An unknown cause in axonal CMT is more frequent than that in demyelinating CMT.

Recently copy number variations have been shown to be a widespread phenomenon associated with disease. However, we did not find any quantitative alteration in major-causative genes other than *PMP22* by MLPA analysis. Huang *et al.*³⁴ did not find any copy number variation in CMT-causing genes other than *PMP22* on comparative genomic hybridization microarrays. This suggests that quantitative alteration of disease-causing genes other than *PMP22* is not likely a major cause of CMT.

We studied the relationship between genotype and patient age at clinical onset. Half of the patients with *PMP22* duplication presented with the symptoms after the age 20, supporting our speculation that Japanese patients with *PMP22* duplication have mild symptoms

(Figure 2a). Most patients carrying *PMP22*, *MPZ*, *NEFL* or *MFN2* mutations showed early onset and severe progressive symptoms probably due to a gain-of-function mutation. Verhoeven *et al.*³¹ reported that most patients with *MFN2* mutations presented with early onset and severe disease status, but a small number of the patients showed a later onset and milder disease course. Recently, a recessive type of *MFN2* mutation was also reported.³⁵ Patients with early onset and severe disease and late onset mild disease have been described in the same family.³⁶ However, severity of the disease is typically similar in each family and the phenotype of the patients is likely associated with the genotype of the mutation.^{32,37} Patients with *PRX* mutations presented with early onset, but slowly progressive symptoms, suggesting that the mutations may cause loss-of-function.¹² All patients with *MPZ* or *GJB1* mutations showing the axonal type were late onset, probably because it takes a long time to damage the axon after the initial damage to myelin.³⁸ CMT is characterized by phenotypic variability even within patients carrying the same mutations.^{39,40} However, overall severity varies according to the causative gene and type of mutation.

Our data showed that the low prevalence of *PMP22* duplication and high frequency of unknown cause are features of Japanese patients with CMT. The peripheral nervous system seems to be vulnerable because of its characteristic structure and function, suggesting that there are more genes associated with CMT. It will be necessary to establish a high-throughput method for screening of many disease-causing genes and to resequence the whole genome of patients with unidentified mutations to detect a new disease-causing gene.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the patients and their families for their cooperation and Ms Kishikawa for the excellent assistance in molecular analyses. This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Science, Culture and Sports of Japan, and Grants-in-Aid from the Research Committee of Charcot-Marie-Tooth Disease and the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

- Patel, P. I., Roa, B. B., Welcher, A. A., Schoener-Scott, R., Trask, B. J., Pentao, L. *et al.* The gene for the peripheral myelin protein PMP-22 is a candidate for Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Nat. Genet.* **1**, 159–165 (1992).
- Bergoffen, J., Scherer, S. S., Wang, S., Scott, M. O., Bone, L. J., Paul, D. L. *et al.* Connexin mutations in X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Science* **262**, 2039–2042 (1993).
- Hayasaka, K., Himoro, M., Sato, W., Takada, G., Uyemura, K., Shimizu, N. *et al.* Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 1B is associated with mutations of the myelin P0 gene. *Nat. Genet.* **5**, 31–34 (1993).

- 4 Berger, P., Niemann, A. & Suter, U. Schwann cells and the pathogenesis of inherited motor and sensory neuropathies (Charcot-Marie-Tooth disease). *Glia* **54**, 243–257 (2006).
- 5 Züchner, S. & Vance, J. M. Mechanisms of disease: a molecular genetic update on hereditary axonal neuropathies. *Nat. Clin. Pract. Neurol.* **2**, 45–53 (2006).
- 6 Ikegami, T., Ikeda, H., Mitsui, T., Hayasaka, K. & Ishii, S. Novel mutation of the myelin Po gene in a pedigree with Charcot-Marie-Tooth disease type 1B. *Am. J. Med. Genet.* **71**, 246–248 (1997b).
- 7 Ikegami, T., Ikeda, H., Aoyama, M., Matsuki, T., Imota, T., Fukuuchi, Y. *et al.* Novel mutations of the peripheral myelin protein 22 gene in two pedigrees with Dejerine-Sottas disease. *Hum. Genet.* **102**, 294–298 (1998).
- 8 Ikegami, T., Lin, C., Kato, M., Itoh, A., Nonaka, I., Kurimura, M. *et al.* Four novel mutations of the connexin 32 gene in four Japanese families with Charcot-Marie-Tooth disease type 1. *Am. J. Med. Genet.* **80**, 352–355 (1998).
- 9 Ikegami, T., Nicholson, G., Ikeda, H., Ishida, A., Johnston, H., Wise, G. *et al.* De novo mutation of the myelin Po gene in Dejerine-Sottas disease (hereditary motor and sensory neuropathy type III): two amino acid insertion after Asp 118. *Hum. Mutat. Suppl.* **1**, S103–S105 (1998).
- 10 Numakura, C., Lin, C., Ikegami, T., Guldborg, P. & Hayasaka, K. Molecular analysis in Japanese patients with Charcot-Marie-Tooth disease: DGGE analysis for PMP22, MPZ, and Cx32/GJB1 mutations. *Hum. Mutat.* **20**, 392–398 (2002).
- 11 Numakura, C., Shirahata, E., Yamashita, S., Kanai, M., Kijima, K., Matsuki, T. *et al.* Screening of the early growth response 2 gene in Japanese patients with Charcot-Marie-Tooth disease type 1. *J. Neurol. Sci.* **210**, 61–64 (2003).
- 12 Kijima, K., Numakura, C., Shirahata, E., Sawashiki, Y., Shimohata, M., Igarashi, S. *et al.* Periaxin mutation causes early-onset but slow-progressive Charcot-Marie-Tooth disease. *J. Hum. Genet.* **49**, 376–379 (2004).
- 13 Kijima, K., Numakura, C., Goto, T., Takahashi, T., Otagiri, T., Umetsu, K. *et al.* Small heat shock protein 27 mutation in a Japanese patient with distal hereditary motor neuropathy. *J. Hum. Genet.* **50**, 473–476 (2005).
- 14 Kijima, K., Numakura, C., Izumino, H., Umetsu, K., Nezu, A., Shiiki, T. *et al.* Mitochondrial GTPase mitofusin 2 mutation in Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. *Hum. Genet.* **116**, 23–27 (2005).
- 15 Schouten, J. P., McElgunn, C. J., Waaijter, R., Zwiijnenburg, D., Diepvens, F. & Pals, G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res.* **30**, e57 (2002).
- 16 Ikegami, T., Ikeda, H., Chance, P. F., Kiyosawa, H., Yamamoto, M., Sobue, G. *et al.* Facilitated diagnosis of CMT1A duplication in chromosome 17p11.2–12: analysis with a CMT1A-REP repeat probe and photostimulated luminescence imaging. *Hum. Mutat.* **9**, 563–566 (1997).
- 17 Mersiyanova, I. V., Perepelov, A. V., Polyakov, A. V., Sitnikov, V. F., Dadali, E. L., Oparin, R. B. *et al.* A new variant of Charcot-Marie-Tooth disease type 2 is probably the result of a mutation in the neurofilament-light gene. *Am. J. Hum. Genet.* **67**, 37–46 (2000).
- 18 Baxter, R. V., Ben Othmane, K., Rochelle, J. M., Stajich, J. E., Huette, C., Dew-Knight, S. *et al.* Ganglioside-induced differentiation-associated protein-1 is mutant in Charcot-Marie-Tooth disease type 4A/8q21. *Nat. Genet.* **30**, 21–22 (2002).
- 19 Slater, H., Bruno, D., Ren, H., La, P., Burgess, T., Hills, L. *et al.* Improved testing for CMT1A and HNPP using multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) with rapid DNA preparations: comparison with the interphase FISH method. *Hum. Mutat.* **24**, 164–171 (2004).
- 20 Mostacciolo, M. L., Righetti, E., Zortea, M., Bosello, V., Schiavon, F., Vallo, L. *et al.* Charcot-Marie-Tooth disease type 1 and related demyelinating neuropathies: mutation analysis in a large cohort of Italian families. *Hum. Mutat.* **18**, 32–41 (2001).
- 21 Boerkoel, C. F., Takashima, H., Garcia, C. A., Olney, R. K., Johnson, J., Berry, K. *et al.* Charcot-Marie-Tooth disease and related neuropathies: mutation distribution and genotype-phenotype correlation. *Ann. Neurol.* **51**, 190–201 (2002).
- 22 Numakura, C., Lin, C., Oka, N., Akiguchi, I. & Hayasaka, K. Hemizygous mutation of the peripheral myelin protein 22 gene associated with Charcot-Marie-Tooth disease type 1. *Ann. Neurol.* **47**, 101–103 (2000).
- 23 Abe, A., Nakamura, K., Kato, M., Numakura, C., Honma, T., Seiwa, C. *et al.* Compound heterozygous PMP22 deletion mutations causing severe Charcot-Marie-Tooth disease type 1. *J. Hum. Genet.* **55**, 771–773 (2010).
- 24 Lupski, J. R., de Oca-Luna, R. M., Slaugenhaupt, S., Pentao, L., Guzzetta, V., Trask, B. J. *et al.* DNA duplication associated with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Cell* **66**, 219–232 (1991).
- 25 Blair, I. P., Nash, J., Gordon, M. J. & Nicholson, G. A. Prevalence and origin of *de novo* duplications in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: first report of a *de novo* duplication with a maternal origin. *Am. J. Hum. Genet.* **58**, 472–476 (1996).
- 26 Ikegami, T., Akiba, K., Imaizumi, M., Yoshinari, M., Suzuki, H., Haginoya, K. *et al.* Severe vincristine neuropathy in an asymptomatic patient with Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 1A. *J. Japan Pediatr. Society* **102**, 1210–1213 (1998).
- 27 Abe, A., Numakura, C., Saito, K., Koide, H., Oka, N., Honma, A. *et al.* Neurofilament light chain polypeptide gene mutations in Charcot-Marie-Tooth disease: nonsense mutation probably causes a recessive phenotype. *J. Hum. Genet.* **54**, 94–97 (2009).
- 28 Waxman, S. G. Determinants of conduction velocity in myelinated nerve fibers. *Muscle Nerve* **3**, 141–150 (1980).
- 29 Sakaguchi, T., Okada, M., Kitamura, T. & Kawasaki, K. Reduced diameter and conduction velocity of myelinated fibers in the sciatic nerve of a neurofilament-deficient mutant quail. *Neurosci. Lett.* **153**, 65–68 (1993).
- 30 Yum, S. W., Zhang, J. X., Mo, K., Li, J. & Scherer, S. S. Neurofilaments are required for the maintenance of myelinated axons: analysis of the first homozygous mutation in NEFL associated with Charcot-Marie-Tooth disease. *Ann. Neurol.* **66**, S17 (2009).
- 31 Verhoeven, K., Claeys, K. G., Züchner, S., Schröder, J. M., Weis, J., Ceuterick, C. *et al.* MFN2 mutation distribution and genotype/phenotype correlation in Charcot-Marie-Tooth type 2. *Brain* **129**, 2093–2102 (2006).
- 32 Calvo, J., Funalot, B., Ouvrier, R. A., Lazaro, L., Toutain, A., De Mas, P. *et al.* Genotype-phenotype correlations in Charcot-Marie-Tooth disease type 2 caused by mitofusin 2 mutations. *Arch. Neurol.* **66**, 1511–1516 (2009).
- 33 Abe, A. & Hayasaka, K. The GARS gene is rarely mutated in Japanese patients with Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *J. Hum. Genet.* **54**, 310–312 (2009).
- 34 Huang, J., Wu, X., Montenegro, G., Price, J., Wang, G., Vance, J. M. *et al.* Copy number variations are a rare cause of non-CMT1A Charcot-Marie-Tooth disease. *J. Neurol.* **257**, 735–741 (2010).
- 35 Nicholson, G. A., Magdelaine, C., Zhu, D., Grew, S., Ryan, M. M., Sturtz, F. *et al.* Severe early-onset axonal neuropathy with homozygous and compound heterozygous MFN2 mutations. *Neurology* **70**, 1678–1681 (2008).
- 36 Lawson, V. H., Graham, B. V. & Flanagan, K. M. Clinical and electrophysiologic features of CMT2A with mutations in the mitofusin 2 gene. *Neurology* **65**, 197–204 (2005).
- 37 Chung, K. W., Kim, S. B., Park, K. D., Choi, K. G., Lee, J. H., Eun, H. W. *et al.* Early onset severe and late-onset mild Charcot-Marie-Tooth disease with mitofusin 2 (MFN2) mutations. *Brain* **129**, 2103–2118 (2006).
- 38 Shy, M. E., Jani, A., Krajewski, K., Grandis, M., Lewis, R. A., Li, J. *et al.* Phenotypic clustering in MPZ mutations. *Brain* **127**, 371–384 (2004).
- 39 Garcia, C. A., Malamut, R. E., England, J. D., Parry, G. S., Liu, P. & Lupski, J. R. Clinical variability in two pairs of identical twins with the Charcot-Marie-Tooth disease type 1A duplication. *Neurology* **45**, 2090–2093 (1995).
- 40 Szigeti, K., Wiszniewski, W., Saifi, G. M., Sherman, D. L., Sule, N., Adesina, A. M. *et al.* Functional, histopathologic and natural history study of neuropathy associated with EGR2 mutations. *Neurogenetics* **8**, 257–262 (2007).
- 41 Ikegami, T., Nicholson, G., Ikeda, H., Ishida, A., Johnston, H., Wise, G. *et al.* A novel homozygous mutation of the myelin Po gene producing Dejerine-Sottas disease (hereditary motor and sensory neuropathy type III). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **222**, 107–110 (1996).
- 42 Lin, C., Numakura, C., Ikegami, T., Shizuka, M., Shoji, M., Nicholson, G. *et al.* Deletion and nonsense mutations of the connexin 32 gene associated with Charcot-Marie-Tooth disease. *Tohoku J. Exp. Med.* **188**, 239–244 (1999).

特集「シャルコー・マリー・トゥース病の診断と治療」

シャルコー・マリー・トゥース病のリハビリテーション*

松嶋 康之, 蜂須賀研二

要旨 シャルコー・マリー・トゥース病に対する有効な治療法はなく、適切なりハビリテーションを行うことが重要である。四肢末梢の筋力低下、関節可動域制限、歩行障害が主に問題となり、活動的なライフスタイルや足関節のストレッチを行うことである程度障害の進行を防止することができる。軽度から中等度の負荷の運動によって、下肢の筋力と歩行能力は改善する。歩行障害に対しては、筋力に応じて適切な装具を選択することが大切であり、軟性装具、プラスチック製短下肢装具、長下肢装具が主に用いられる。また、重度の歩行障害に対しては電動・電動補助車椅子の適応があり、ロボットを用いた訓練やロボット機器も今後検討する必要がある。

Key Words : 筋力低下, 関節可動域制限, 歩行障害, 装具, ロボット

Peripheral Nerve 2011; 22(1): 31-38

はじめに

シャルコー・マリー・トゥース病 (CMT) は遺伝性の末梢神経疾患であり、四肢の末梢から徐々に筋力低下が進み、日常生活や社会生活に支障をきたす。有効な治療法が確立されておらず、発症早期から適切なりハビリテーション (リハビリ) を行うことが大切である。

リハビリは単なる訓練ではなく、障害の正確な診断とそれぞれの障害に対して対策を立てることが大切である。障害は心身機能・構造に異常を生じる「機能障害」、個人が活動を行う際に支障が生じる「活動制限」、社会参加が損なわれる「参加制約」の3相に分けられ^{1), 2)}、CMTによる機能障害として、両下肢麻痺あるいは四肢麻痺、筋力低下、関節拘縮、感覚障害などが挙げられ、活動制限や参加制約として、歩行障害、手指巧緻動作障害、日常生活動作制限、復学・通学の問題、仕事・通勤の問題、装具や車椅子の問題などが挙げられる。

ここでは、CMTの主な障害である筋力低下、関節可動域制限、歩行障害の特徴とリハビリ、対策として有用である装具療法、新しい治療法であるロボット機器の活用について述べる。

1. 筋力低下の特徴とリハビリ

CMTでは四肢の末梢から徐々に筋肉が萎縮し、筋力が低下する。一般的に大腿四頭筋の下1/3、前脛骨筋、下腿三頭筋、足部の筋の筋力低下と筋萎縮が左右対称性に生じ、下肢よりも遅れて手内筋など上肢の筋にも症状が出現する。下肢は典型例ではその筋萎縮の状態から“逆シャンペンボトル”様と表現される。また、足部は筋萎縮と筋力の不均衡により変形し“凹足”となる。歩行時には、前脛骨筋の筋力低下のために“下垂足”となり、足を高く上げて歩く“鶏歩”が特徴的である。

また、閉じこもりがちな生活のために廃用症候群による筋力低下を生じることがある。

* Rehabilitation for patients with Charcot-Marie-Tooth disease

Yasuyuki MATSUSHIMA, M.D. and Kenji HACHISUKA, M.D. : 産業医科大学リハビリテーション医学講座 [〒807-8555 北九州市八幡西区医生ヶ丘1-1]; Department of Rehabilitation Medicine, University of Occupational and Environmental Health, Kitakyushu

廃用症候群とは身体の不活動状態によって二次的に引き起こされる病的状態の総称であり、筋力低下、筋萎縮、関節可動域制限、体力低下、起立性低血圧など全身に様々な症状を呈する³⁾。CMTにより手足の筋力が低下して歩行障害や日常生活動作能力の低下を来とし、さらに活動量が低下した場合には廃用症候群による筋力低下や筋萎縮、心肺機能低下や筋持久力低下が加わる。廃用症候群を来した場合には臀筋や大腿四頭筋など体幹に近い大きな筋の筋力低下や筋萎縮も生じる。下腿部の筋力低下に臀筋や大腿四頭筋の筋力低下が加わると、立ち上がりが困難となり、立脚後期の脚の蹴りだしが弱く歩幅も狭くなり、膝折れも生じる。

予防

障害が軽度であれば、仕事や学業を積極的に行うことで筋力は維持されるが、症状が進行し活動量が減少する場合は、廃用症候群を避け筋萎縮を防止することが大切となる。可能な範囲は自分で歩くこと、自分のことは自分で行うことなど、活動的なライフスタイルを指導する。活動性が低下しないように、毎日一定時間散歩をすることや固定自転車こぎなどの定期的な運動が有用である。

訓練

末梢神経障害による筋力低下に対する筋力強化訓練は低負荷・高頻度が基本である。CMT患者では軽度から中等度の筋力強化訓練が有効で安全に行え、数週間の訓練を行うことで、下肢の筋力と歩行能力が改善したとの報告がある⁴⁾⁻⁹⁾。

廃用症候群による臀筋の筋力低下に対しては、手すりやテーブルを利用した椅子からの立ち上がり訓練を指導し、臀筋や大腿四頭筋の筋力強化を行う。また、手内筋の筋力低下に対しては書字や箸の使用などの細かい動作の訓練や粘土細工などによる筋力強化訓練を指導する。

CMT患者では筋力低下や心肺機能低下のた

め疲労を生じやすい。心肺機能や筋持久力を向上させる訓練として有酸素運動が有効である。最大酸素摂取量の50%程度の運動負荷強度が最適な強度の有酸素運動と考えられる。健常者では、1回20～30分間の散歩、自転車エルゴメータ、トレッドミル歩行を1週間に3～4回の頻度で行う事が勧められるが¹⁰⁾、CMT患者は運動により下肢の疲労を生じやすく、健常者と同一の運動負荷を加えることは困難である。翌日に疲労が残らない程度の負荷強度で、10～30分間、個人の能力に合わせた時間を設定する。

CMTなど末梢神経障害では過用性筋力低下に注意が必要である¹¹⁾。運動翌日に普段とは異なる筋力低下、筋肉痛、疲労感などを認める場合は運動負荷を調整する。血液中のクレアチニンキナーゼ(CK)を測定し、筋破壊の目安とする。CK値が普段よりも急に高くなった場合、運動や生活強度が過剰であると判断し運動量を減らす指導を行う。

代償方法

下肢の筋力低下により歩行障害を生じた場合には、症状に応じて装具を処方し筋力低下を代償する(後述)。

2. 関節可動域制限の特徴とリハビリ

CMTでは筋力が低下した筋が短縮し、周囲の筋とのアンバランスから不良肢位となり、二次的に関節可動域制限が起こる。特に下腿三頭筋が短縮し、足関節の背屈制限(尖足)を生じる。さらに踵の高い靴を履くことで下腿三頭筋の短縮は促進される。尖足は歩行障害の原因となり、装具による代償が必要となる。また、手内筋の萎縮による手指変形の予防も忘れてはならない。

予防

発症早期から下腿三頭筋の持続伸張訓練を行うことが重要である。また、踵の高い靴を履かないようにすることも大切である。足関節の背屈方向へのストレッチ、手指MP関節

屈曲方向へのストレッチ、母指の対立位保持、股関節の伸展方向へのストレッチ、膝関節の伸展方向へのストレッチが重要である。

訓練方法

自重を利用した起立台による下腿三頭筋の持続伸張訓練（図1）やストレッチが効果的である。



図1. 起立台による下腿三頭筋の持続伸張訓練

その他の治療

温熱療法は、疼痛の緩和や局所の循環改善の目的で用いられ、関節可動域訓練に先行して行えば、筋血流を良好な状態に保ち、組織の伸張性を増すことができる。温熱療法としては、ホットパックや極超短波、パラフィン浴があり、下腿や大腿の後部にはホットパックを15～20分間あてる。

関節可動域訓練、温熱療法などを十分量実施しても関節可動域の改善が難しければ、アキレス腱延長術などの外科的治療も検討する必要がある。

3. 歩行障害の特徴とリハビリ

CMT患者は、歩行時に爪先を持ち上げられず（下垂足）、遊脚相で床に爪先が引きずらないように膝を高く持ち上げて歩く（鶏歩）。さらに進行して膝伸展筋力が低下すると、立脚相で膝関節を完全に伸展するようになり、急に膝折れを生じて転倒する危険性もある。

予防

CMTが歩行障害を起こす主な原因として、下肢の筋力低下、感覚障害、足関節の可動域制限、足底部の疼痛などが挙げられる。前述した筋力低下、関節可動域制限への対策をたてるのが歩行障害の予防につながる。また、関節拘縮を予防すれば、関節拘縮により生じる歩行時の足底部の疼痛の回避にもつながる。

歩行訓練

歩行時に最も注意しなければならないことは転倒である。筋力低下に応じて後述する装具療法を行うことが歩行障害を軽減し転倒を予防する。また、杖などの歩行補助具は歩行の一助となる。CMTでは手内筋の萎縮があり、手で把持するT字杖などは使用しにくく、松葉杖やロフトランドクラッチ、プラットホーム型クラッチ（図2）の使用が勧められる。また、歩行器は杖よりも支持・基底面が大きく歩行は安定化するが、歩行時に持ち上げる必要のないキャスター付きの四輪型歩行器がよい（図3）。

4. 装具療法

リハビリ治療において装具は重要な役割を果たす。一般的に装具は①関節の保持、②変形の矯正・予防、③機能の代償、④歩行の介助、⑤免荷などの目的に使用される。装具の素材としては金属や皮革が古くから用いられているが、最近は軽量で衛生的かつ容易に修正でき低コストといった点から熱可塑性プラスチックが用いられる。特に末梢神経障害により筋力が低下するCMTでは、脳卒中などの中枢性運動麻痺とは異なり、重い装具は好ま

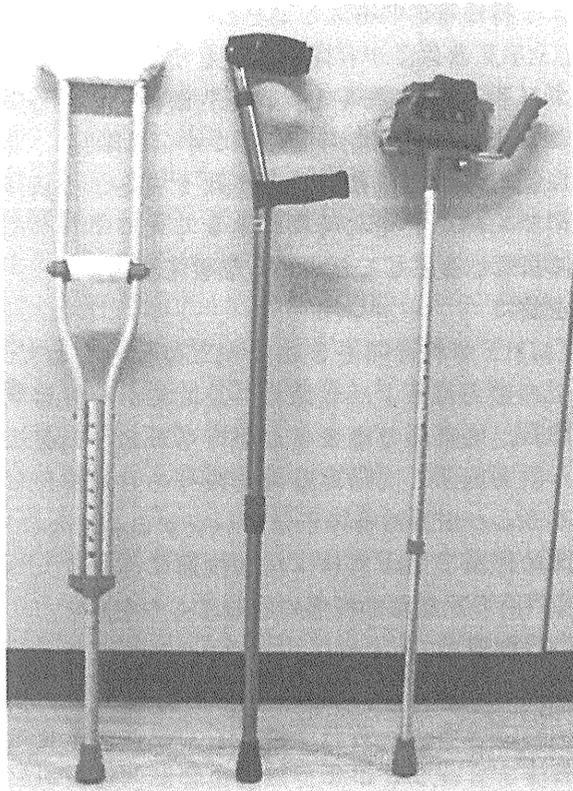


図2. 各種杖（左から腋窩支持型松葉杖、ロフストラ
ンドクラッチ、プラットホーム型クラッチ）



図3. 四輪型歩行器

れず、軽量であるプラスチック製装具が広く用いられる。障害が軽度の場合は伸縮性のある生地で作製した軟性装具も用いられる。装具の種類としては、下肢装具がしばしば用いられるが、上肢装具の使用は少ない。また、歩行が困難な患者には電動車椅子や電動補助車椅子も適応がある。

下肢装具

起立や歩行には、下肢を動かすと共に、関節を保持・固定する能力が必要である。CMT患者は筋力低下のために下肢の動きが悪くなるとともに、関節の不安定性も生じる。不安定になった関節の過剰な動きを制動することで安定性を高め、一定の動きを補助できれば歩行能力を高めることができる。下肢装具は素材や制動する部位により分類されるが、軟性装具、短下肢装具、長下肢装具などが代表的である。

①軟性装具

軟性装具とは柔らかい素材を用いた装具のことであり、伸縮性素材で作製した足や膝のサポーターが用いられる。足サポーター（図4）は下垂足を軽減し、膝サポーターは膝を安定化させるが、固定性は不十分である。しかし、座位や蹲踞の姿勢をとっても関節の違和感が少ないので、軽症例に限り処方される。

②短下肢装具

短下肢装具は足関節および足部を制動する装具で、下垂足に適応がある。また、立脚期の膝折れをある程度減少させ、素材や足継手を選択すると足関節の背屈補助をすることもできる。特にプラスチック製短下肢装具（図5）は軽くて弾力性もあるのでCMTに適しており、プラスチックの種類やデザインを工夫することにより可撓性を調



図4. 足関節サポーター



図6. カーボン製長下肢装具

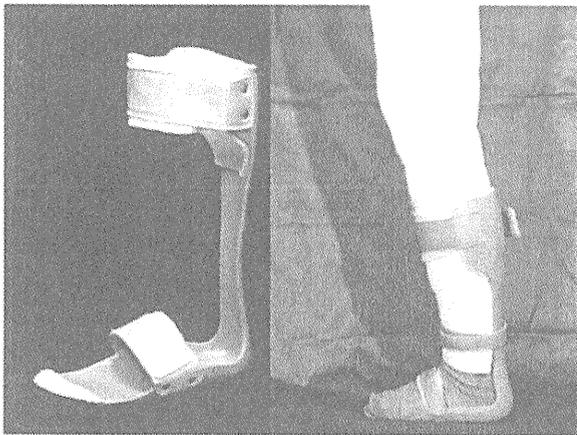


図5. プラスチック製短下肢装具

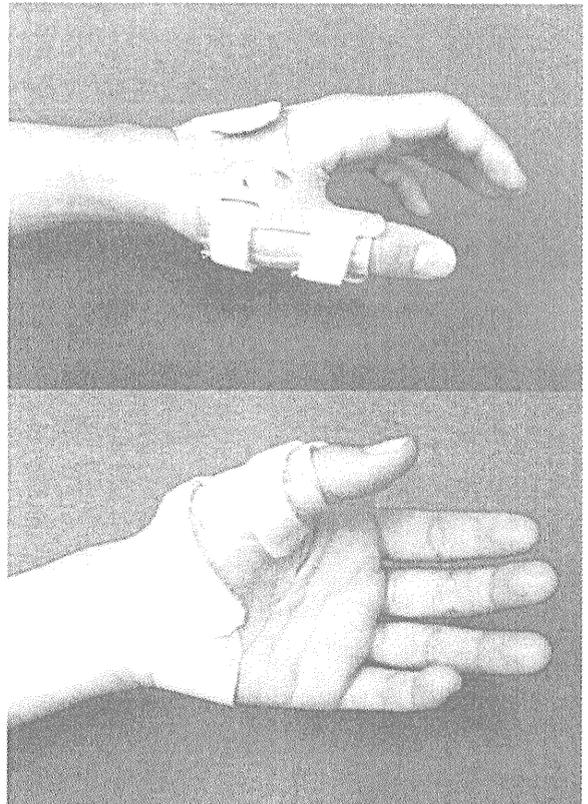


図7. 短対立装具

節することができる。

③長下肢装具

長下肢装具は膝関節、足関節および足部を制動する装具で、膝折れを生じる患者に適応がある。膝関節を伸展位で固定するので膝折れは生じないが、下肢の振りだしがやや困難となり、装具も重くなる欠点がある。最近ではチタンやカーボン素材を用いた軽量化装具も考案されてきた¹²⁾(図6)。

上肢装具

主に手指・前腕の筋力低下や変形に対して、機能的な肢位を保つためにプラスチック素材を用いた上肢装具が処方される。

①短対立装具(図7)

短対立装具は母指を対立位に保持する目的で手指に装着する装具である。CMTでは、指の屈伸は可能であるが対立運動は困

難なので、対立運動を補助する装具が必要である。短対立装具で母指を対立位に保持すると、つまみ動作が可能になる。

②コックアップ装具

コックアップ装具は前腕から手掌にかけて装着し、手関節を軽度背屈した位置に保持する装具であり、母指対立位保持の機能

を併せ持つものもある。

5. ロボット機器の活用

医療福祉分野の中でも、リハビリ領域では様々なロボットが考案され、一部は市販されている。CMTでは、歩行や移乗などの下肢機能を代償して日常生活の自立を助ける「下肢自立支援ロボット」、下肢機能の訓練、特に歩行訓練を補助する「下肢訓練支援ロボット」の適応がある。

下肢自立支援ロボット

入浴や移乗の支援をするロボットにレジーナ[®]（日本ロジックマシン）があり、既に市販されている。ウェアラブル・ロボットであるロボットスーツHAL[®]（筑波大学）は両下肢に装着し、障害者の歩行や階段昇降を支援する。現在、CYBERDYNE株式会社が製造販売を行っている（図8）。HAL[®]は下肢の動きを表面筋電図で感知し体の上に装着しているサーボモーターで股関節や膝関節の動きを補

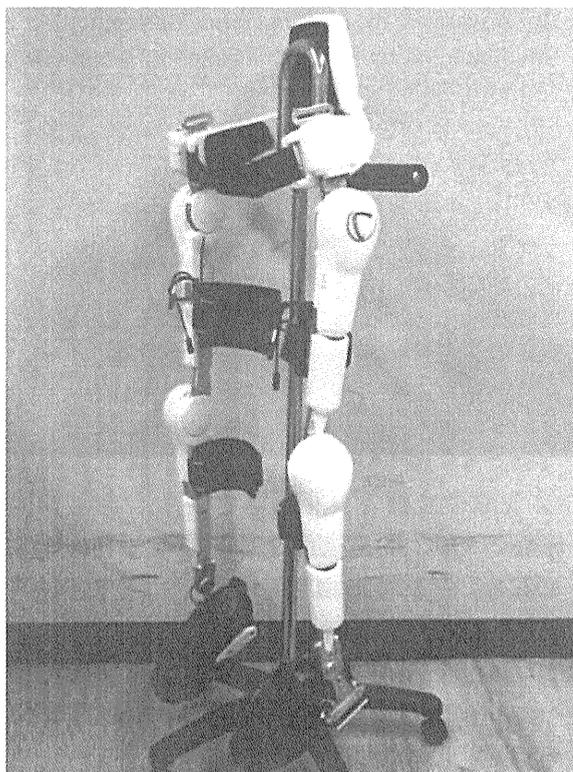


図8. ロボットスーツHAL[®]

助する。CMT患者では歩行障害が重度の者に適応がある。

下肢訓練支援ロボット

下肢訓練支援ロボットには、ロボット・アームが大腿と下腿を精密に制御して機能訓練を行うTEM（安川電機）、体幹を上方に吊り上げ、装置の周囲を円を描くように歩行させるリハボット（山梨大学）、体幹を上方に吊り上げ、足にスキー板の様な足板を装着し、足板を前後に動かすことにより歩行に類似した運動を反復訓練することができるGait trainer（Free University）、体幹を上方に吊り上げ、体の外側に駆動装置を装着してトレッドミル上を歩行させるLocomat（Hocoma）、全荷重の状態でもロボット・アームが両側の大腿および下腿をそれぞれ制御してトレッドミル上を歩行させる歩行支援ロボット（安川電機・産業医科大学、図9）などがある¹³⁾。これらの下肢訓練支援ロボットはCMT患者の歩行訓練の一部として有用と考えられる。今後、CMT症例にもロボット訓練機器や支援機器が活用されることを期待する。

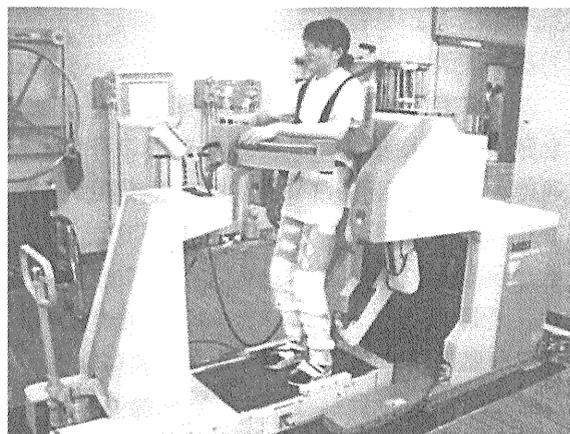


図9. 歩行支援ロボット

謝辞：執筆に協力いただいた産業医科大学リハビリテーション医学講座 岩永勝氏、小田太士氏、高橋真紀氏、産業医科大学病院リハビリテーション部 舌間秀雄氏、相生リハビリテーションクリニック 牧野健一郎氏に

深謝する。

文 献

- 1) 世界保健機関. 国際生活機能分類—国際障害分類改定版一. 中央法規, 東京, 2002.
- 2) 蜂須賀研二. 障害の捉え方. 実地医家に役立つリハビリテーションの知識と技術. 医歯薬出版, 東京, 2009, pp8-18.
- 3) 松嶋康之、奈良聡一郎、蜂須賀研二. 廃用症候群. *総合リハ* 2007; 35: 1145-1151.
- 4) Pareyson D, Marchesi C. Diagnosis, natural history, and management of Charcot-Marie-Tooth disease. *Lancet Neurol*. 2009; 8: 654-667.
- 5) Sackley C, Disler PB, Turner-Stokes L, *et al*. Rehabilitation interventions for foot drop in neuromuscular disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; 8: CD003908.
- 6) Aitkens SG, McCrory MA, Kilmer DD, *et al*. Moderate resistance exercise program: its effect in slowly progressive neuromuscular disease. *Arch Phys Med Rehabil* 1993; 74: 711-715.
- 7) Kilmer DD, McCrory MA, Wright NC, *et al*. The effect of a high resistance exercise program in slowly progressive neuromuscular disease. *Arch Phys Med Rehabil* 1994; 75: 560-563.
- 8) Lindeman E, Leffers P, Spaans F, *et al*. Strength training in patients with myotonic dystrophy and hereditary motor and sensory neuropathy: a randomized clinical trial. *Arch Phys Med Rehabil* 1995; 76: 612-620.
- 9) Chetlin RD, Gutmann L, Tarnopolsky M, *et al*. Resistance training effectiveness in patients with Charcot-Marie-Tooth disease: recommendations for exercise prescription. *Arch Phys Med Rehabil* 2004; 85: 1217-1223.
- 10) Pate RR, Pratt M, Blair SN, *et al*. Physical activity and public health: a recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA* 1995; 273: 402-407.
- 11) Vinci P, Esposito C, Perelli SL, *et al*. Overwork weakness in Charcot-Marie-Tooth disease. *Arch Phys Med Rehabil* 2003; 84: 825-827.
- 12) Hachisuka K, Makino K, Wada F, *et al*. Oxygen consumption, oxygen cost and physiological cost index in polio survivors: a comparison of walking without orthosis, with an ordinary or a carbon-fibre reinforced plastic knee-ankle-foot orthosis. *J Rehabil Med* 2007; 39: 646-650.
- 13) Hachisuka K, Saeki S, Wada F, *et al*. A prototype walking assist robot and its clinical application for stroke patients with severe gait disturbance. In *Advances in Physical and Rehabilitation Medicine*, ed by Ring H, Soroker N. Monduzzi Editore, Bologna, 2003, pp23-26.