

MFI of Tim-3 or PD-1 within CD4⁺ or CD8⁺ cells (data not shown). The percentage of infected CD4⁺ and CD8⁺ cells in asymptomatic carriers or tetramer⁺CD8⁺ cells in HAM/TSP patients was too small to assess Tim-3 or PD-1 expression.

CONCLUSIONS

We found that the proportion of Tim-3⁺ cells within CD4⁺ and CD8⁺ T cell populations of HTLV-I-infected individuals (both HAM/TSP patients and asymptomatic carriers) is significantly lower than in healthy controls (Figure 1). This reduction was much clearer in Tax-specific CTLs because the frequency of Tim-3-expressing cells in CTLs was lower than in the total CD8⁺ population of infected individuals (Figures 2B–D). In addition, Tim-3⁺ cell frequency in HTLV-I Tax-specific CTLs was significantly lower than in CMV-specific CTLs from HAM/TSP patients (Figure 2B). Interaction of Tim-3 with its ligand, galectin-9, regulates Th1 cell responses by promoting the death of IFN- γ -producing Th1 cells, suggesting that Tim-3 may play a role in suppressing Th1-mediated immune responses [18]. Our results showing that the frequency of Tim-3⁺ cells is reduced within CD4⁺ and CD8⁺ T cells in HTLV-I infection strongly suggest that the Th1/Tc1 immune response is not negatively regulated by Tim-3 in HTLV-I infection. Rather, immune cells such as HTLV-I-specific CTLs may be resistant to cell death through the Tim-3/galectin-9 pathway [18]. In this sense, the increased number of Tim-3⁺ HTLV-I Tax-specific CTLs may contribute to the control of viral replication. In the present study, we found that IFN- γ production was decreased in CD8⁺ cells and HTLV-I Tax-specific CTLs that expressed Tim-3 as compared with their Tim-3⁺ counterparts in HAM/TSP patients (Figure 4). In addition, CD107a expression was lower in Tim-3⁺ HTLV-I Tax-specific CTLs from HAM/TSP patients (Figure 5). These results indicate that Tim-3 identifies a subset of CTLs with impaired production of cytokines and cytolytic activity. The decreased expression of Tim-3 in HTLV-I infection is in marked contrast to other chronic viral infections such as HIV and HCV infections, where Tim-3 expression is increased in T cells, including the virus-specific CTLs [19, 20]. It would be of interest to determine whether Tim-3 expression is also reduced in other chronic viral infections and to clarify the mechanisms underlying Tim-3 down-regulation in HTLV-I infection.

Interestingly, our data demonstrated that Tim-3 and CD107a expression in HTLV-I Tax-specific CTLs was not significantly different between HAM/TSP patients and asymptomatic carriers (Figures 2F and 5D); however, Tim-3 MFI was higher in asymptomatic carriers than in HAM/TSP patients. Our data suggest that the killing activity of the CTLs is not different between the 2 groups. Controversially, others have reported that CD107a expression is lower in HTLV-I Tax-specific CTLs from HAM/TSP patients than from asymptomatic carriers, and that CTL function is impaired in HAM/TSP patients as compared with

asymptomatic carriers [24]. This controversy may result from differences in sample type and procedures, including the gating for tetramer⁺ cells after antigen stimulation. To address this issue, more detailed analyses of HTLV-I-specific CTL function in HAM/TSP patients and asymptomatic carriers would be necessary to ascertain whether differences could define the clinical condition.

In this study, we found that PD-1 expression levels on T cells of HAM/TSP patients and asymptomatic carriers were not different from those of healthy controls. However, we observed that PD-1 expression was significantly higher in HTLV-I Tax-specific CTLs than in CMV-specific CTLs (Figure 3E) and significantly higher in HTLV-I Tax-specific CTLs from asymptomatic carriers than from HAM/TSP patients. This result is in partial agreement with a previous study on HTLV-I infection, in which a marked increase of PD-1 expression was found in HTLV-I Tax-specific CTLs from both asymptomatic carriers and ATL patients as compared with CMV- and EBV-specific CTLs [31]. We found that IFN- γ production was higher in CD8⁺ cells and HTLV-I Tax-specific CTLs that expressed PD-1 as compared with their PD-1⁺ counterparts in HAM/TSP patients (Figures 4E and 4F). In addition, CD107a expression was higher in PD-1⁺ HTLV-I Tax-specific CTLs of HAM/TSP patients (Figure 5C). These results indicate that PD-1⁺ HTLV-I Tax-specific CTLs are capable of producing proinflammatory cytokines and have high cytolytic activity during HTLV-I infection. An increase in IFN- γ production by PD-1⁺ T cells has been recently shown in simian immunodeficiency virus (SIV) infection and in an animal model of autoimmune nephritis [32, 33]. Interestingly, PD-1⁺ cells were predominantly detected within CD107a⁺ antigen-specific T cells in SIV infection [34]. In this context, it is proposed that the primary mechanism by which PD-1 affects CD8⁺ T cell function involves regulation of cell proliferation and survival [32, 35]. Our results suggest that HTLV-I Tax-specific CTLs exhibit an increased expression of PD-1, albeit a reduced expression of Tim-3. This is in marked contrast to other chronic viral infections such as HIV and HCV infections, in which both PD-1 and Tim-3 are expressed at high levels in the virus-specific CTLs [19, 20]. Double staining for Tim-3 and PD-1 revealed that these are expressed by distinct populations of CD8⁺ T cells in HIV infection and that the predominance of either Tim-3⁺PD-1⁺ or Tim-3⁺PD-1⁺ cells in HIV-specific CTLs differs among individuals [19]. At the same time, CMV- and HCV-specific CTLs are predominantly Tim-3⁺PD-1⁺ and Tim-3⁺PD-1⁺, respectively [20]. In our study, the average percentage of PD-1⁺ cells in HTLV-I Tax-specific CTLs was 65.9% and 22.3% in carriers and HAM/TSP patients, respectively (Figure 3C); the average percentage of Tim-3⁺ cells was 3.5% and 3.2%, respectively (Figure 2F), suggesting that the majority of the CTLs expressing T cell exhaustion molecules has a Tim-3⁺PD-1⁺ phenotype. Taken together, these results suggest that PD-1 and Tim-3 may have a distinct function in regulating immune responses in HTLV-I infection.

We observed that HTLV-I Tax-expressing cells show a significant reduction in Tim-3 expression as compared with Tax⁻CD4⁺ cells and that Tim-3 expression in Tax⁺CD8⁺ cells tends to be lower than in Tax⁻CD8⁺ cells. Tax⁺CD8⁺ cells also showed significantly lower PD-1 expression (Figure 6). This suggests that HTLV-I-infected cells may be resistant to cell death through the Tim-3/galectin-9 pathway. HTLV-I Tax combines a positive effect on cell cycle with a negative effect on apoptosis through transactivation of several host genes [36]. It would be of interest to further investigate whether Tax might regulate Tim-3 expression.

In summary, we demonstrated that the expression of the negative immune regulator Tim-3, but not of PD-1, is reduced on HTLV-I Tax-specific CTLs, CD4⁺, and CD8⁺ T cells in both HAM/TSP patients and asymptomatic carriers. Moreover, we showed that Tim-3⁺, but not PD-1⁺, cells produce less IFN- γ and exhibit low cytolytic activity within the CTL population. Tim-3 expression and CTL cytolytic activity were not different between HAM/TSP patients and asymptomatic carriers. In addition, CD4⁺ HTLV-I Tax-expressing cells showed a significant reduction in Tim-3 expression as compared with Tax⁻CD4⁺ cells. These results suggest that HTLV-I Tax-specific CTLs preserve their cytolytic activity, thereby controlling viral replication.

Funding

Grant-in-Aid for Research on Brain Science from the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan, and Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Japan.

Acknowledgments

We thank Ms. Takako Inoue for the excellent technical assistance.

References

- Richardson JH, Edwards AJ, Cruickshank JK, Rudge P, Dalgleish AG. In vivo cellular tropism of human T-cell leukemia virus type 1. *J Virol* **1990**; *64*:5682–7.
- Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H. Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. *Blood* **1977**; *50*:481–92.
- Gessain A, Barin F, Vernant JC, et al. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet* **1985**; *2*:407–10.
- Osame M, Usuku K, Izumo S, et al. HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. *Lancet* **1986**; *1*:1031–2.
- Umehara F, Izumo S, Nakagawa M, et al. Immunocytochemical analysis of the cellular infiltrate in the spinal cord lesions in HTLV-I-associated myelopathy. *J Neuropathol Exp Neurol* **1993**; *52*:424–30.
- Osame M, Matsumoto M, Usuku K, et al. Chronic progressive myelopathy associated with elevated antibodies to human T-lymphotropic virus type I and adult T-cell leukemia-like cells. *Ann Neurol* **1987**; *21*:117–22.
- Nagai M, Usuku K, Matsumoto W, et al. Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. *J Neurovirol* **1998**; *4*:586–93.
- Jacobson S, Shida H, McFarlin DE, Fauci AS, Koenig S. Circulating CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes specific for HTLV-I pX in patients with HTLV-I associated neurological disease. *Nature* **1990**; *348*:245–8.
- Greten TF, Slansky JE, Kubota R, et al. Direct visualization of antigen-specific T cells: HTLV-1 Tax11-19-specific CD8(+) T cells are activated in peripheral blood and accumulate in cerebrospinal fluid from HAM/TSP patients. *Proc Natl Acad Sci USA* **1998**; *95*:7568–73.
- Bangham CR, Osame M. Cellular immune response to HTLV-1. *Oncogene* **2005**; *24*:6035–46.
- Blank C, Mackensen A. Contribution of the PD-L1/PD-1 pathway to T-cell exhaustion: an update on implications for chronic infections and tumor evasion. *Cancer Immunol Immunother* **2007**; *56*:739–45.
- Sharpe AH, Wherry EJ, Ahmed R, Freeman GJ. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nat Immunol* **2007**; *8*:239–45.
- Okazaki T, Honjo T. Rejuvenating exhausted T cells during chronic viral infection. *Cell* **2006**; *124*:459–61.
- Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature* **2006**; *439*:682–7.
- Trautmann L, Janbazian L, Chomont N, et al. Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8⁺ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nat Med* **2006**; *12*:1198–202.
- D'Souza M, Fontenot AP, Mack DG, et al. Programmed death 1 expression on HIV-specific CD4⁺ T cells is driven by viral replication and associated with T cell dysfunction. *J Immunol* **2007**; *179*:1979–87.
- Hafler DA, Kuchroo V. TIMs: central regulators of immune responses. *J Exp Med* **2008**; *205*:2699–701.
- Zhu C, Anderson AC, Schubart A, et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nat Immunol* **2005**; *6*:1245–52.
- Jones RB, Ndhlovu LC, Barbour JD, et al. Tim-3 expression defines a novel population of dysfunctional T cells with highly elevated frequencies in progressive HIV-1 infection. *J Exp Med* **2008**; *205*:2763–79.
- Golden-Mason L, Palmer BE, Kassam N, et al. Negative immune regulator Tim-3 is overexpressed on T cells in hepatitis C virus infection and its blockade rescues dysfunctional CD4⁺ and CD8⁺ T cells. *J Virol* **2009**; *83*:9122–30.
- Koguchi K, Anderson DE, Yang L, O'Connor KC, Kuchroo VK, Hafler DA. Dysregulated T cell expression of TIM3 in multiple sclerosis. *J Exp Med* **2006**; *203*:1413–8.
- Vine AM, Witkover AD, Lloyd AL, et al. Polygenic control of human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) provirus load and the risk of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis* **2002**; *186*:932–9.
- Kubota R, Kawanishi T, Matsubara H, Manns A, Jacobson S. Demonstration of human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) tax-specific CD8⁺ lymphocytes directly in peripheral blood of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis patients by intracellular cytokine detection. *J Immunol* **1998**; *161*:482–8.
- Sabouri AH, Usuku K, Hayashi D, et al. Impaired function of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-specific CD8⁺ T cells in HTLV-1-associated neurologic disease. *Blood* **2008**; *112*:2411–20.
- Yashiki S, Fujiyoshi T, Arima N, et al. HLA-A*26, HLA-B*4002, HLA-B*4006, and HLA-B*4801 alleles predispose to adult T cell leukemia: the limited recognition of HTLV type 1 tax peptide anchor motifs and epitopes to generate anti-HTLV type 1 tax CD8(+) cytotoxic T lymphocytes. *AIDS Res Hum Retroviruses* **2001**; *17*:1047–61.
- Kozako T, Arima N, Toji S, et al. Reduced frequency, diversity, and function of human T cell leukemia virus type 1-specific CD8⁺ T cell in adult T cell leukemia patients. *J Immunol* **2006**; *177*:5718–26.
- Bunce M, O'Neill CM, Barnardo MC, et al. Phototyping: comprehensive DNA typing for HLA-A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5 &

- DQB1 by PCR with 144 primer mixes utilizing sequence-specific primers (PCR-SSP). *Tissue Antigens* **1995**; 46:355–67.
28. Betts MR, Brenchley JM, Price DA, et al. Sensitive and viable identification of antigen-specific CD8+ T cells by a flow cytometric assay for degranulation. *J Immunol Methods* **2003**; 281:65–78.
 29. Lee B, Tanaka Y, Tozawa H. Monoclonal antibody defining tax protein of human T-cell leukemia virus type-I. *Tohoku J Exp Med* **1989**; 157:1–11.
 30. Hanon E, Hall S, Taylor GP, et al. Abundant tax protein expression in CD4+ T cells infected with human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) is prevented by cytotoxic T lymphocytes. *Blood* **2000**; 95:1386–92.
 31. Kozako T, Yoshimitsu M, Fujiwara H, et al. PD-1/PD-L1 expression in human T-cell leukemia virus type 1 carriers and adult T-cell leukemia/lymphoma patients. *Leukemia* **2009**; 23: 375–82.
 32. Petrovas C, Price DA, Mattapallil J, et al. SIV-specific CD8+ T cells express high levels of PD1 and cytokines but have impaired proliferative capacity in acute and chronic SIVmac251 infection. *Blood* **2007**; 110:928–36.
 33. Kasagi S, Kawano S, Okazaki T, et al. Anti-programmed cell death 1 antibody reduces CD4+PD-1+ T cells and relieves the lupus-like nephritis of NZB/W F1 mice. *J Immunol* **2010**; 184:2337–47.
 34. Hokey DA, Johnson FB, Smith J, et al. Activation drives PD-1 expression during vaccine-specific proliferation and following lentiviral infection in macaques. *Eur J Immunol* **2008**; 38:1435–45.
 35. Petrovas C, Casazza JP, Brenchley JM, et al. PD-1 is a regulator of virus-specific CD8+ T cell survival in HIV infection. *J Exp Med* **2006**; 203:2281–92.
 36. Sieburg M, Tripp A, Ma JW, Feuer G. Human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2 tax oncoproteins modulate cell cycle progression and apoptosis. *J Virol* **2004**; 78:10399–409.

Charcot-Marie-Tooth病の治療*

中川 正法**

滋賀 健介**

Key Words : hereditary neuropathies, ascorbic acid, curcumin, rehabilitation, mechanism-based therapeutic strategies

はじめに

Charcot-Marie-Tooth病 (CMT) の治療には、理学療法、手術療法、薬物治療があり、治療薬の開発研究が最近進められている。今後はCMTの原因遺伝子の解明とその分子病態の解明に伴って、新たな治療法が開発が期待される^{1,2)}。本稿では、CMT治療の最近の研究とCMTの患者が手術のため麻酔を受ける際の注意点およびロボットスーツ「HAL®」の利用などについて述べる。

I. CMTに対する薬物治療研究

遺伝子診断が不十分な時代のCMT治療研究として、Cronassial筋注(ガングリオシド製剤)、linoleic/γ-linoleic essential fatty acids, vitamin E, coenzyme Q10などが試みられている。CMT 46例に対するcoenzyme Q10投与試験が行われているが、MFN2異常などのミトコンドリア機能に関連したCMTを対象を絞った試験ではない。ナルコレプシーに使用されるmodafinilを4例のCMT1A患者に投与し、昼間の疲労感が改善したとの報告もある³⁾。いずれの研究も十分な規模の無作為化比較対照試験 randomized controlled trial (RCT) ではない。

1. CMT1Aの薬物治療

CMT1AはPMP22の重複によって引き起こされる病態であり、PMP22はミエリン形成におけるSchwann細胞の分化制御に重要であり、その軸索-髄鞘相互作用に関与している。動物モデルでは、PMP22の過剰発現はユビキチン化PMP22凝集体を形成し、その蛋白分解系を障害することが示唆されている。したがって、Schwann細胞におけるPMP22発現レベルの是正がCMT1Aの末梢神経障害の改善につながる合理的な治療戦略と考えられる。

的な治療戦略と考えられる。

2. アスコルビン酸臨床試験

アスコルビン酸は、後根神経節-Schwann細胞の培養系におけるmyelinationに必須であり、アスコルビン酸欠乏が大腿神経障害を引き起こすことが報告されている⁴⁾。cAMPはCREBによるPMP22プロモーターへの結合を促進し、PMP22の発現を増加させるが、アスコルビン酸はこの結合を競合的に阻害することによって、PMP22 mRNA発現量を低下させる可能性がある。また、アスコルビン酸はadenylate cyclase活性の減少を介して細胞内cAMPレベルを低下させ、PMP22 mRNAの発現を用量依存的に抑制することが報告されている⁵⁾。アスコルビン酸がCMT1Aモデルマウスに有効であるとの報告があり⁶⁾、国内外で臨床試験が行われた。

厚生労働省精神神経疾患研究委託費「難治性ニューロパチーの病態に基づく新規治療法の開発」研究班のもとで、「Charcot-Marie-Tooth病1Aに対するアスコルビン酸の安全性・有効性に関する臨床試験」(UMIN試験ID: UMIN000001535)が行われた⁷⁾。臨床試験プロトコルに従い、投与群にはアスコルビン酸20mg/kg/日を12週間経口投与し、非投与群との比較検討を行った。CMT患者会 (<http://j-cmt.org/>) の協力も得て2009年11月30日時点で、40例が本試験に登録された。残念ながら、プライマリーエンドポイントであるCharcot-Marie-Tooth Neuropathy Score (CMT-NS) に有意な改善はなくアスコルビン酸の有効性は確認できなかった (Fig. 1)。海外でのアスコルビン酸投与試験でもアスコルビン酸の有効性は証明されなかった (Table 1)⁸⁾。アスコルビン酸がCMT1Aに無効なのか、アスコルビン酸の

* Therapies for Charcot-Marie-Tooth Diseases.

** 京都府立医科大学大学院神経内科学 Masanori NAKAGAWA, Kensuke SHIGA : Department of Neurology, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine

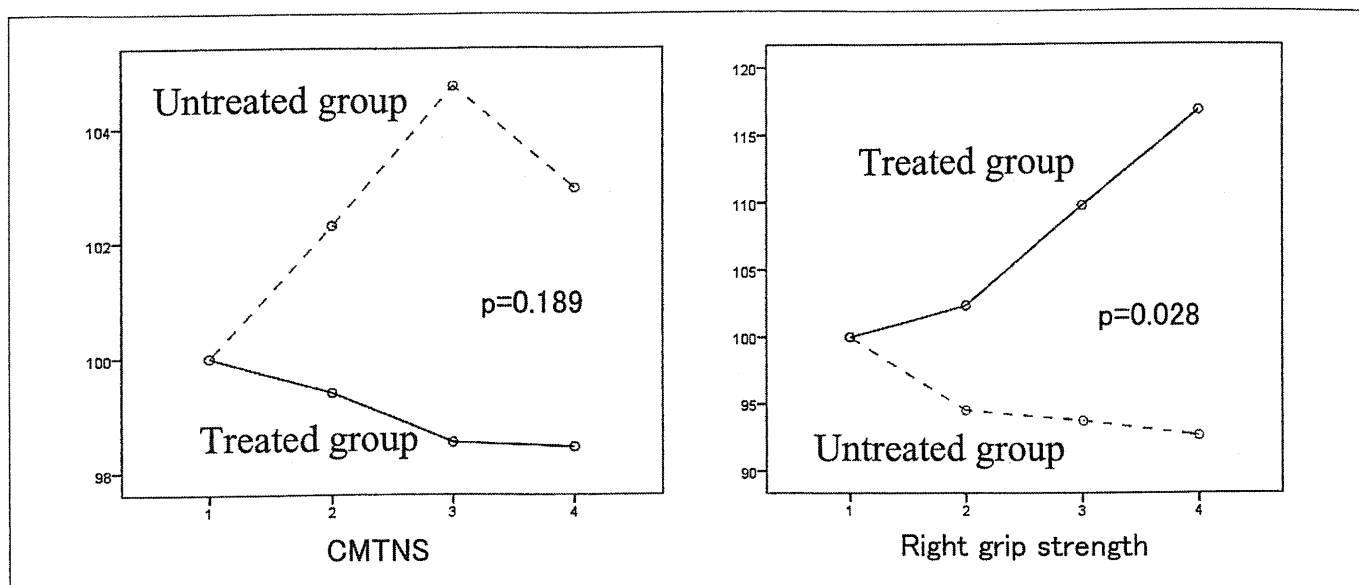


Fig. 1 Results of the clinical trial of ascorbic acid for 40 patients with CMT1A.

The vertical line is indicating the relative value of CMT neuropathy score (CMTNS) compared to the starting point of the trial. The lowering of CMTNS indicates clinical improvements. Solid line : treated group, Dotted line : untreated group. CMTNS : Charcot-Marie-Tooth neuropathy score.

Table 1 Results of clinical trials of ascorbic acid for CMT1A patients.

Authors	Micallef J et al.	Verhamme C et al.	Burns J et al.	Toth C.	Research group study in Japan
Nation	France	Netherlands	Australia	Canada	Japan
References	Lancet Neurol 8 : 1103-1110, 2009	BMC Med 7 : 70, 2009	Lancet Neurol. 8 : 537-544, 2009	Acta Neurol Scand 120 : 134-138, 2009	in preparation
Methods	a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial	a randomised, double-blind, placebo-controlled phase II trial	a randomised, double-blind, placebo-controlled, safety and efficacy trial	An open-label cohort-controlled pilot study	An open-label cohort-controlled pilot study
Primary outcome measure	CMTNS	Motor nerve conduction velocity of median nerve	Motor nerve conduction velocity of median nerve	tolerability	CMTNS
Results	Not effective/safe	Not effective/safe	Not effective/safe	Intolerable	Not effective/safe
Ascorbic acid / day	1g/3g/placebo	Adults : 2 g/day, children (14 to 18 years) : 1.8 g/day, Children (9 to 13 Years) : 1.2 g/day	30mg/kg	5g/2.5g	20mg/kg/day
Number of patients	Ascorbic acid 3g for 61, 1g for 56	Ascorbic acid 6	Ascorbic acid 42	Ascorbic acid 12	Ascorbic acid 21
	Placebo 62	Placebo 7	Placebo 39	No treatment 10	No treatment 19
Dropout cases	16	2	1	5	1
Age (year) (range)	38 (36-56)	< 25	2-16	36 ± 5	51 ± 15
Duration of therapy (month)	12	12	12	24	3

CMTNS : Charcot-Marie-Tooth Neuropathy Score

投与期間・量の問題なのに関する検討が必要である。わが国の研究班で行った臨床試験では、右握力は有意に改善しており、ある程度の効果はあるのではないかと考えられる。現在、軸索興奮性を測定するQtracプログラム（ミュキ技研）を用いて非利き手正中神経において運動神経の軸索興奮性を測定し、アスコルビン酸（20mg/kg/日）投与前後での変化を検討中である。

3. Neurotrophin-3 (NT-3)

Sahenkらは、CMT1A患者末梢神経をヌードマウスに直接異種移植し、神経栄養因子であるNT-3を皮下注射し、Schwann細胞増加と軸索再生が観察されることに基づいて、NT-3を4例のCMT患者に150 μ g/kg/週3回、24週またはプラセボ投与を行った。その結果、NT-3投与群では末梢神経障害スコア（NIS）が改善し、再生軸索が増加したことを報告した⁹⁾。この研究は、RCTで効果が示されている現時点で唯一の臨床研究であるが、CMT1A症例4例、対照例4例と少数例の検討であること、その後この結果を再現する報告がなく、エビデンスレベルとしてはIbに留まっていること、NT-3の改善効果は、感覚スコアの改善が主体であって運動機能の改善はなかったことなどの問題点がある。

4. プロゲステロン拮抗薬

プロゲステロンはSchwann細胞や神経細胞で産生され、PMP22、MPZなどの発現を促進し、CMT1A動物モデルの症状を悪化させること、プロゲステロン拮抗薬であるonapristoneがCMT1A動物モデルに有効であることが報告されている¹⁰⁾。しかし、onapristoneは肝毒性のためヒトに使用することは出来ない。ミフェプリストンはプロゲステロン拮抗作用と部分的な刺激作用を持っているが、その安全性は確立されており、髄膜腫、子宮筋腫などの治療やAlzheimer病の治療に使用されている。今後、CMT1A動物モデルを用いたmifepristoneの検討も含めて、安全なプロゲステロン拮抗薬の開発が望まれる。一方、プロゲステロン受容体作動薬はPMP22、MPZのmRNA発現を増加させる作用があり、ハプロ不全を示すhereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP) やnonsense-mediated mRNA decay関連MPZ変異CMTに有効であるかもしれない。この点に関する細胞レベルでの研究が必要である。

5. 点変異によるCMTの薬物療法

a. クルクミン

クルクミンは秋ウコンやカレー粉に多く含まれている自然の黄色色素である。PMP22点変異によるDejerine-Sottas syndromeやcongenital hypomyelinating neuropathyなどでは、dominant negative effectが推定されている。その分子病態として、変異pmp22をもつtrembler Jマウスの研究から、変異PMP22蛋白が小胞体（endoplasmic reticulum：ER）に停滞し細胞膜に局在できず、ERストレス誘発性アポトーシスを来すと考えられている。Khajaviらは、クルクミンが変異PMP22蛋白を細胞膜へ解放し、変異PMP22発現

によるアポトーシスを減少させることを報告した¹¹⁾。動物レベルにおいてもクルクミンは用量依存的に運動機能を改善させている。病理学的にも、クルクミンは坐骨神経の軸索径を増加させ、Schwann細胞におけるアポトーシスを減少させている。以上の検討からクルクミンがpmp22点変異マウスに有効であることが示された¹²⁾。同様の病態がMPZ点変異によるCMTの場合にも指摘されており、ヒトのPMP22点変異やMPZ点変異によるCMTにもクルクミンの有効性が期待される。

6. 期待されるCMT治療戦略

RNA干渉やdeoxyribozymesなどは変異アレルの発現を抑制する機序があり、toxic gain of functionを示すCMTの治療に有効性が期待される。Antisense oligonucleotides (ASO)は、短い一本鎖RNAまたはDNA配列であり、ターゲット配列を抑制する。そのひとつであるMorpholino phosphorodiamidate ASOs (morpholinos)は、筋強直性ジストロフィー、Duchenne型筋ジストロフィーにて有用性が示唆されている¹³⁾。RNA trans-splicingアプローチは、pre-mRNAの段階で変異配列を取り除き導入した正常な配列に置き換えることが可能であり、CMTにおいても試みられるべき方法であろう。PMP22変異やMPZ変異の中で凝集体を形成するCMTでは、Alzheimer病と同様に凝集体形成や蛋白折りたたみ異常機序の解明とその阻害が治療法になる可能性もある。

患者数が少ないCMTの場合、臨床試験デザインについても検討する必要がある。最近のRCTでは、皮膚生検による末梢神経の形態およびmRNA発現の評価が行われているが、今後、新しいサロゲートマーカーの開発も必要である。

II. 装具、外科治療、リハビリテーション、生活上の工夫

1. 装具・ロボットスーツ「HAL®」

肢位の改善、関節の変形防止、疼痛改善などの目的で下肢装具が有効なことが多い。初期の段階では、ブーツやハイカット靴、足アーチサポートをつけた特注靴、中敷き（足底板）などで歩行の安定性が増加する。進行に応じて、足関節サポーター、短下肢装具、長下肢装具、ロフトランド杖の使用を検討する。ある程度長い距離を移動するには車椅子も考慮する方が関節の負担や筋疲労の軽減のためにより場合もある。骨折による廃用性障害が筋力低下を進めることになるので、転倒への注意と安定したフットウェアや装具を選ぶことが日常生活上重要である。

上肢装具では、屈筋群の緊張が高まり指の変形が進行することを予防し、残っている指運動の実用上の巧緻性を維持するために手関節装具を装着することが有効な場合がある。

最近、ロボットスーツ「HAL®」の利用が可能になった。数名のCMT患者に「HAL®」を装着し、その有用性の検討をはじめている。今後、「HAL®」のプログラム改良などを行いCMT患者に適応したロボットスーツを作成し、CMT

患者の quality of life (QOL) の改善と就労能力の向上を図りたい。

2. 外科治療

関節変形が進行し、装具を用いても足を適切な位置に保てず歩行に支障が出てきた場合、関節の安定性を図るために腱延長術や骨切り術などの整形外科手術が適応となる場合がある。外科治療が一般的に長期的な効果を有するかどうかについては現時点では十分なエビデンスはない。外科手術の長所と短所をCMT患者、家族と十分に検討した上で施行することが重要である。

3. ダイエット

CMTに特異的に効果的なダイエットとして科学的に証明されたものはないが、大切なことは「現在の体重を維持する」よう心がけられることである。体重増加はすでに負担がかかっている足・膝関節や筋肉に対して、さらに負担をかけ、疼痛、疲労の増加に加えて、転倒や骨折のリスクが高まるからである。更に、CMTでは筋力低下から運動量が限られているため、一旦増えてしまった体重を運動により減量することが極めて困難である。

4. リハビリテーション

CMTのリハビリテーションに関する研究はRCTレベルでは不十分である。一般的に、翌日に疲労を残さない程度の軽い運動療法は、筋力維持に役立つ可能性がある。週3回24週のリハビリテーションプログラムに参加することにより、膝関節伸展筋力の改善と大腿筋力の自覚症状の改善がみとめられたとの報告がある¹⁴⁾。日々の生活に運動療法を組み込むことで、疾患の自然経過による進行以上の悪化を抑える効果が期待できる。

5. 投与に注意した方がよい薬物

CMT患者が他の内科疾患等に罹患した場合、必要に応じて使用される薬剤が末梢神経障害を悪化させる場合がある。特に抗腫瘍薬である vincristine や cisplatin・taxol・thalidomide・bortezomib、抗不整脈薬の amiodarone、HIV治療薬の didanosine・zalcitabine・sanilvudin、Hansen病治療薬 dapsone などがCMTの症状を悪化させる可能性のある薬剤として有名である (http://www.charcot-marie-tooth.org/med_alert.php)。このデータベースに記載されていない薬剤でもCMTの症状を悪化させる可能性はあり、CMT患者に投薬を行う際には「何らかの異常を自覚した場合は直ちに連絡するように」注意を喚起する必要がある。

6. CMTと麻酔

CMT患者が手術や出産などのために麻酔を受ける際にも注意が必要である。一般的に、末梢神経障害を増悪させないために脊髄麻酔(脊髄くも膜下麻酔)や硬膜外麻酔は避けるべきであると言われている。高カリウム血症をおこす可能性があるため脱分極性筋弛緩薬(suxamethonium chloride)は避けた方がよい。全身麻酔時の入眠剤、静脈麻酔薬、非脱分極性筋弛緩薬(例、vecronium)に対する感受性が高い場

合があるので尺骨神経刺激による母指内転筋の反応をモニターしながら用いた方よいとする報告もある。CMTの重症例では、脳神経障害による嚥下反射の減弱・声帯麻痺・胸鎖乳突筋の筋力低下、自律神経障害による不整脈・低血圧、側彎症による拘束性換気障害、悪性高熱症、術後呼吸不全などの合併に注意すべきである。

一方、脊髄くも膜下麻酔や硬膜外麻酔で良好な結果が得られた帝王切開の例、吸入麻酔のみで骨折の観血的整復固定術を行った例、全静脈麻酔と閉鎖神経ブロックを併用した膀胱腫瘍手術例なども報告されている。局所麻酔薬による神経毒の問題もあり出来るだけ低濃度の局所麻酔薬を使用した方がよいと考えられる。今後、CMTに対する適切な麻酔法に關する再検討・再評価が必要である。

おわりに

CMTの早期診断、早期治療を考える場合、着床前診断、発症前診断などの遺伝子診断の倫理的問題は避けられない。CMTに関する遺伝カウンセリングの充実も必要である。欧米に比べるとわが国では、CMTに対する医療従事者および一般社会の認知が十分ではないと考えられる。平成21年度から厚生労働省科学研究費難治性疾患克服事業として「シャルコー・マリー・トゥース病の診断、治療、ケアに関する研究」班(研究代表者中川正法)が編成され、「シャルコー・マリー・トゥース病診療マニュアル」の発刊¹⁵⁾、ホームページの開設(<http://www.cmt-japan.com/index.html>)、CMTに関する市民公開講座の開催などが行われている。今後、CMT患者会とも協力して新たな治療法の開発に取り組んでいきたい。

謝辞：本稿で紹介したわが国のアスコルビン酸投与試験は、厚生労働省精神神経疾患研究委託費「難治性ニューロパチーの病態に基づく新規治療法の開発」研究班(研究代表者有村公良先生)および愛媛大学医学部臨床薬理学 野元正弘先生との共同研究であり、ここに深謝いたします。

文 献

- 1) Pareyson D, Marchesi C: Diagnosis, natural history, and management of Charcot-Marie-Tooth disease. *Lancet Neurol* 8: 654-667, 2009
- 2) Herrmann DN: Experimental therapeutics in hereditary neuropathies: The past, the present, and the future. *Neurotherapeutics* 5: 507-515, 2008
- 3) Carter GT, Han JJ, Mayadev A et al: Modafinil reduces fatigue in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: a case series. *Am J Hosp Palliat Care* 23: 412-416, 2006
- 4) Hood J: Femoral neuropathy in scurvy. *N Engl J Med* 281: 1292-1293, 1969
- 5) Kaya F, Belin S, Bourgeois P et al: Ascorbic acid inhibits PMP22 expression by reducing cAMP levels. *Neuromuscul Disord* 17: 248-253, 2007

- 6) Passage E, Norreel JC, Noack-Fraissignes P et al : Ascorbic acid treatment corrects the phenotype of a mouse model of Charcot-Marie-Tooth disease. *Nat Med* 10 : 396-401, 2004
- 7) 中川正法, 野寺裕之, 服部直樹ほか : Charcot-Marie-Tooth 病 1A に対するアスコルビン酸投与の有効性の検討. *Peripheral Nerve* 18 : 210-212, 2007
- 8) Shy M : Ascorbic acid for treatment of CMT1A : the jury is still out. *Lancet Neurol* 8 : 505-507, 2009
- 9) Sahenk Z, Nagaraja HN, McCracken BS et al : NT-3 promotes nerve regeneration and sensory improvement in CMT1A mouse models and in patients. *Neurology* 65 : 681-689, 2005
- 10) Sereda MW, Meyer zu Hörste G, Suter U et al : Therapeutic administration of progesterone antagonist in a model of Charcot-Marie-Tooth disease (CMT-1A). *Nat Med* 9 : 1533-1537, 2003
- 11) Khajavi M, Inoue K, Wiszniewski W et al : Curcumin treatment abrogates endoplasmic reticulum retention and aggregation-induced apoptosis associated with neuropathy-causing myelin protein zero-truncating mutants. *Am J Hum Genet* 77 : 841-850, 2005
- 12) Khajavi M, Shiga K, Wiszniewski W et al : Oran curcumin mitigates the clinical and neuropathologic phenotype of the Trembler-J mouse : a potential therapy for inherited neuropathy. *Am J Hum Genet* 81 : 438-453, 2007
- 13) Hoffman EP : Skipping toward personalized molecular medicine. *N Engl J Med* 357 : 2719-2722, 2007
- 14) 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* 76 : 612-620, 1995
- 15) シャルコー・マリー・トゥース病診療マニュアル. CMT 診療マニュアル編集委員会編, 金芳堂, 京都, 2010

Therapies for Charcot-Marie-Tooth Disease

Masanori NAKAGAWA, Kensuke SHIGA

Department of Neurology, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine

Charcot-Marie-Tooth disease (CMT) is the most common inherited neuropathy. There have been substantial advances in elucidating the molecular bases of this genetically heterogeneous neuropathy and molecular diagnosis is now possible in most cases. In the pre-molecular era, Linoleic/ γ -linoleic essential fatty acids, vitamin E and coenzyme Q10 were evaluated by non-randomized controlled trials for patients with CMT without genetic diagnosis. For the last decade, neurotrophic factors, progesterone antagonists, ascorbic acid, and curcumin have been shown to be promising in experimental models of CMT, leading to several pilot trials in human. However, randomized controlled trials of ascorbic acid for CMT1A unfortunately did not prove clinical benefit. In an open-label clinical trial of ascorbic acid for CMT1A conducted by Japanese researchers, the right hand grip strength was increased in the group treated with ascorbic acid (20mg/kg/day for 12 weeks), while CMT neuropathy score, the primary outcome measure in the trial, did not improve. It needs to be elucidated whether these negative results in human are due to the lack of efficacy of ascorbic acid or to the lack of statistical power in those studies which had been conducted for a relatively shorter

period of time with a smaller number of patients.

Rehabilitation and surgical therapies are currently available treatments for CMT. Recently, robot suit HAL (Hybrid Assistive Limb[®]) has been developed and a pilot study for patients with CMT using HAL has been started by the Research Committee of CMT Disease supported by Grants-in-Aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. As the best approaches to rehabilitative therapy and foot surgery still have to be defined, prospective studies will be important.

Patients with CMT should avoid taking drugs that can cause peripheral nerve toxicity. In the case of surgery and delivery, best practice of local and general anesthesia for patients with CMT has not been defined. Proper information and genetic counseling is also important for patients with CMT and their families. Careful discussion for prenatal and preimplantation genetic diagnosis should be needed, taking ethical concerns and the national regulations and laws into account. The advances in mechanism-based strategies will provide realistic hope that therapies will emerge to slow or partly reverse several forms of CMT.

Charcot-Marie-Tooth病の診断と治療・ケア*

中川 正法

要旨 シャルコー・マリー・トゥース (Charcot-Marie-Tooth: CMT) 病は、1886年に Charcot, Marie, Toothによって報告された遺伝性ニューロパチーである。その有病率は1/2500人とも言われて、世界中に約260万人のCMT患者がいると推定されている。CMTの原因遺伝子は40種類以上が特定され、わが国においてもCMTの遺伝子診断に関しては大きな進展が見られている。しかし、CMTの遺伝子診断の情報や治療法の開発状況、外科療法やリハビリテーション等に関する情報が医療関係者、CMT患者に広く知られているとは言い難く、単純に「CMTの治療法はない」と考えている医療関係者、CMT患者が多いのではないかとと思われる。今回のシンポジウムでは、平成21~23年度厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「シャルコー・マリー・トゥース病の診断・治療・ケアに関する研究」班(研究代表者中川正法)(<http://www.cmt-japan.com/index.html>)で行っている研究を中心に、CMTの遺伝子診断、内科的治療、外科的治療、リハビリテーション、日常生活上の工夫・社会資源の利用について概説する¹⁾。

Key Words: diagnosis of CMT (CMTの診断), medicinal therapy (内科的治療), surgical therapy (外科的治療), rehabilitation (リハビリテーション), social welfare (社会福祉)

Peripheral Nerve 2011; 22(2): 125-131

CMTの症状と遺伝子診断

CMTは一般的に0歳~20歳頃までに発症する緩徐進行性の疾患である。典型的症状として、凹足(時に扁平足)、ハンマー趾、足関節の変形、歩行・走行困難、たれ足・鶏歩、筋萎縮・筋力低下、下肢優位の感覚障害、腱反射の消失、手指振戦、筋けいれん、疼痛、下肢皮膚温低下(cold feet)、先端チアノーゼを認める。非典型的な症状として、脳神経障害、声帯麻痺、緑内障、視神経乳頭萎縮、錐体路障害、上肢優位障害、感覚または運動神経優位障害、近位筋優位障害などを示す例もある。

CMTは電気生理学的検査所見に基づいて、脱髄型、軸索型、中間型に大別される。脱髄型CMTでは、一般的に正中神経の運動神経伝

導速度は38m/s以下、活動電位はほぼ正常または軽度低下を示し、腓腹神経所見では節性脱髄、onion bulbの形成を認める。軸索型CMTでは、正中神経の運動神経伝導速度は正常または軽度低下を示すが活動電位は明らかに低下し、腓腹神経所見では有髄線維の著明な減少を示す。しかし、いずれとも分けられない中間型CMTも存在する(図)。CMTの場合、各病型である程度の臨床的特徴はあるものも臨床所見のみで確定診断を行うことが困難なことも多い²⁾。末梢神経障害をしめす例では、家族歴の有無に関わらず孤発例であっても、疾患の鑑別のために遺伝子学的検討を行う必要がある。鹿児島大学の高嶋らは遺伝性ニューロパチー遺伝子診断チップを開発し、全国的な遺

* Diagnosis, therapy and care for Charcot-Marie-Tooth disease

Masanori NAKAGAWA, M.D.: 京都府立医科大学大学院神経内科学 [〒602-0841 京都市上京区河原町通広小路 上ル梶井町465]: Department of Neurology, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto

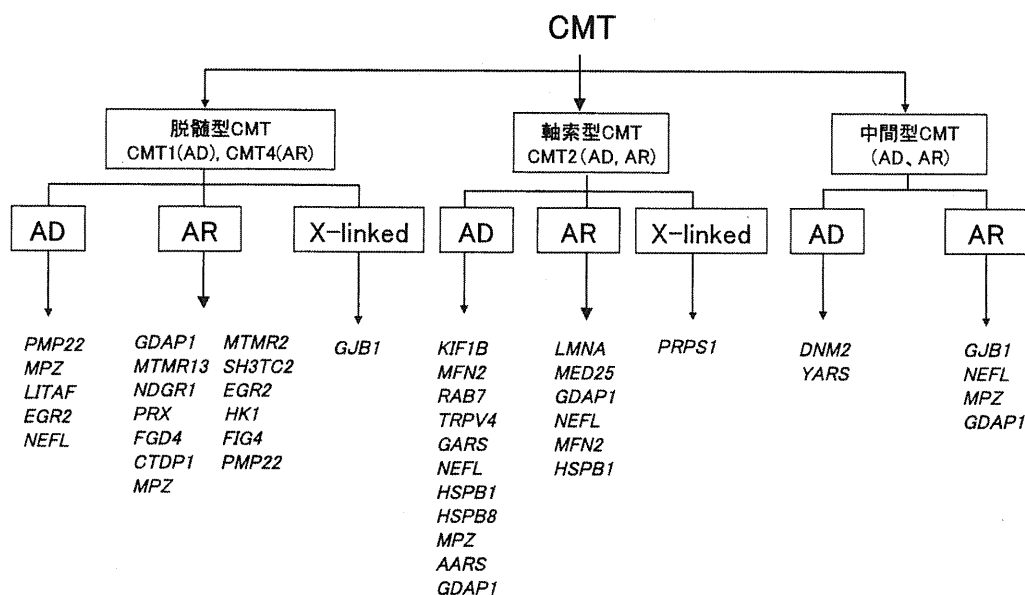


図. Charcot-Marie-Tooth病 (CMT) 型と遺伝子異常
 中間型 CMT：正中神経の運動神経伝導速度38m/sceでは分類不可の家系。AD：常染色体優性遺伝、AR：常染色体劣性遺伝。
 J Peripheral Nervous System 2011; 16: 1-14から引用改変

伝性ニューロパチーデータベースを構築しつつある。

CMTの内科的治療

最も頻度が高いCMT1AはPMP22の重複によって引き起こされる病態であり、アスコルビン酸がCMT1Aモデルマウスに有効であると報告されて以降³⁾、国内外で臨床試験が行われた。わが国でも厚生労働省精神神経疾患研究委託費「難治性ニューロパチーの病態に基づく新規治療法の開発」研究班のもとで、「Charcot-Marie-Tooth病1Aに対するアスコルビン酸の安全性・有効性に関する臨床試験」(UMIN試験ID: UMIN000001535)が行われた。残念ながら、プライマリーエンドポイントであるCharcot-Marie-Tooth Neuropathy Score (CMTNS)に有意な改善はなくアスコルビン酸の有効性は確認できなかった。海外でのアスコルビン酸投与試験でもアスコルビン酸の有効性は証明されなかった。アルコルビン酸が

CMT1Aに無効なのか、アスコルビン酸の投与期間・量の問題なのか、今後の検討が必要である。わが国で行った臨床試験では、右握力は有意に改善しており、ある程度の効果はあるのではかと思える。現在、軸索興奮性を測定するQtracプログラム(ミユキ技研)を用いて非利き手正中神経において運動神経の軸索興奮性を測定し、アスコルビン酸(20mg/kg/日)投与前後での変化を検討中である。

その他、Neurotrophin-3 (NT-3)⁴⁾、プロゲステロン拮抗薬⁵⁾、クルクミン⁶⁾などがCMTに試みられている。

患者数が少ないCMTの場合、臨床試験デザインについても検討する必要がある。最近の無作為化臨床試験では、皮膚生検による末梢神経の形態およびmRNA発現の評価が行われているが、今後、新しいサロゲートマーカーの開発も必要である。

遺伝子治療を含む新規治療法として、各病型の分子病態の解明に基づいて、1) 蛋白発現の

コントロール：PMP22発現抑制物質のスクリーニングなど、2) 変異アレルの発現抑制：siRNA、deoxyribozymes、Antisense oligonucleotides (ASO)、RNA trans-splicingアプローチなど、3) 欠損遺伝子・蛋白の補充：欠失している遺伝子の導入、既存薬の応用、4) 凝集体形成抑制：凝集体形成や蛋白折りたたみ異常の阻害物質の探索などが期待される⁷⁾(表)。

CMT患者が他の内科疾患等に罹患した場合に使用される薬剤が末梢神経障害を悪化させる場合がある。特にビンクリスチンなどがCMTの症状を悪化させる薬剤として有名である(http://www.charcot-marie-tooth.org/med_alert.php)。最近、癌化学治療薬の投与により末梢神経障害が顕在化し、CMTの遺伝子変異が明らかとなった例が報告されている。CMTの臨床症状を示さない潜在的なCMT患者がいる可能性があり、抗腫瘍薬(ビンクリスチンなど)投与前の神経伝導検査の実施は、末梢神経障害の重症化を防ぐ点で可能な限り推奨される。神経伝導検査と遺伝子検査を組み合わせることで、より安全・安心な癌化学療法が可能となりうる。

CMTの外科的治療

関節変形が進行し、装具を用いても足を適切な位置に保てず歩行に支障が出てきた場合、関節の安定性を図るために腱延長術や骨切り術などの整形外科手術が適応となる場合がある。外科治療が一般的に長期的な効果を有するかどうかについては現時点では十分なエビデンスはない。外科手術の長所と短所をCMT患者、家族と十分に検討した上で施行することが重要である。

手術適応：骨・関節の変形による痛みが強い場合、変形や筋力低下により歩行障害や日常生活での支障が著しい場合、変形により皮膚に潰瘍ができた場合などがCMTに対する手術適応となる。

手術方法：足に対する手術が最も多い。尖足・下垂足に対して、アキレス腱延長術、筋腱移行術が行われる。アキレス腱延長術(Sliding lengthening法)では、3か所でアキレス腱を横切し、足関節を背屈強制することでアキレス腱を延長する。この方法では腱縫合は不要である。後脛骨筋腱移行術は後脛骨筋腱を前方へ移行することで下垂した足をつり上げる。

表. Charcot-Marie-Tooth病(CMT)の治療法の開発

CMTの遺伝子診断を踏まえて以下のような事項がCMTの治療法開発に必要な事項である。

-
- 1) CMTの病型別自然経過の解明
疾患頻度が低いCMT病型も多く、その自然経過を明きからにするためには国際共同研究が必要
 - 2) 臨床試験デザインの検討
少数例で有効性を検証する臨床試験方法の開発
 - 3) サロゲートマーカーの開発
皮膚生検による末梢神経の形態およびmRNA発現による評価法の開発・改良
 - 4) 遺伝子治療を含む新規治療法の開発
 - ・蛋白発現のコントロール：PMP22発現抑制物質のスクリーニング
 - ・変異アレルの発現抑制：siRNA、deoxyribozymes、Antisense oligonucleotides (ASO)、RNA trans-splicingアプローチなど
 - ・欠損遺伝子・蛋白の補充：欠失している遺伝子の導入、既存薬の応用
 - ・凝集体形成抑制：凝集体形成や蛋白折りたたみ異常機序の解明とその阻害物質の探索
 - 5) リハビリテーションの有効性に関するエビデンスの蓄積
 - ・病型別リハビリテーションプログラムの開発
 - ・ロボット工学の活用：歩行サポートロボット装具などの改良・活用
 - 6) 外科治療、装具療法の開発・改良とエビデンスの蓄積
 - 7) CMTに対する医療・福祉サービスの充実
 - 8) CMTに関する啓発活動の充実
-

内反凹足に対して、足底解離術、筋腱移行術、骨切り術（中足骨骨切り術、踵骨骨切術）、三関節固定術（変形が高度で軟部組織手術や骨切術によって十分な矯正が得られない場合に適応）、創外固定術（イリザロフ法）などがある。鉤爪変形に対する手術には、長母趾伸筋腱を切離し、中足骨頭に作製した骨孔を通して固定する方法や長趾伸筋腱を切離し、第3楔状骨に固定する方法がある。鷲手（鉤爪手）変形に対して、腱移行術、関節固定術、軟部組織解離術が行われる。CMTでは、臼蓋形成不全を合併することがある。臼蓋形成不全に対して、骨盤骨切り術、大腿骨骨切り術が行われる。高度の脊柱側弯・後弯に対して脊椎固定術が行われることがある。

術後療法：筋腱移行術の場合は、約6週間のギプス固定後に歩行訓練、筋力訓練などのリハビリを行う。骨切り術・関節固定術の場合は5～6週間のギプス固定後に、歩行用ギプスを装着し歩行訓練を開始する。約10週後に骨癒合を確認しギプスを除去する。内反尖足の外科治療はCMT患者により安定した歩行をもたらすと考えられるが、その手術適応や外科的治療施行時期についてのより明確の基準作成が必要とされている⁸⁾。

CMT患者が手術や出産などのために麻酔を受ける際にも注意が必要である。一般的に、脊髄くも膜下麻酔や硬膜外麻酔は避ける方がよいと言われている。全身麻酔時の入眠剤、静脈麻酔薬、筋弛緩薬に対する感受性が高いCMT患者がいる場合があるので注意が必要である。嚥下反射の減弱・声帯麻痺・胸鎖乳突筋の筋力低下、自律神経障害による不整脈・低血圧、側彎症による拘束性換気障害、悪性高熱症、術後呼吸不全などに注意が必要である。しかし、脊髄くも膜下麻酔、硬膜外麻酔、吸入麻酔のみ、全静脈麻酔+神経ブロックなどで安全に手術が行われた例も報告されている。今後、CMTに対する適切な麻酔法に関する再検討・再評価が必要である。

CMTのリハビリテーション

CMTの筋力低下の特徴は、大腿部下1/3以下の筋萎縮・筋力低下、筋萎縮と筋力の不均衡により生じる凹足・内反、下垂足による鶏歩であり、それに廃用症候群が加わることが多い。CMTのリハビリテーションに関する研究はRCTレベルでは不十分であるが、週3回24週のリハビリテーションプログラムに参加することにより、膝関節伸筋力の改善と大腿筋力の自覚症状の改善がみとめられたとの報告がある⁹⁾。

CMTの筋力強化訓練は、低負荷・高頻度が基本である。軽度の障害の場合は、仕事や学業を積極的に行うことで筋力は維持されることが多い。一般的に、翌日に疲労を残さない程度の軽い運動療法は、筋力維持に役立つ可能性がある。可能な範囲は自分で歩くこと、自分のことは自分で行う、毎日一定時間散歩、固定自転車こぎなどの定期的な運動などがよいとされる。進行例では廃用症候群を避け筋萎縮・筋力低下を防止することが重要となる。廃用症候群の予防目的に、椅子からの立ち上がり訓練を行い臀筋・大腿四頭筋を強化する。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訓練が有効である。一方、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。最大酸素摂取量の50%程度の運動負荷強度が最適な有酸素運動とされている。翌日に疲労が残らない程度の負荷強度で10～30分間行う。この際に個人の能力に合わせた時間の設定が重要である。過用性筋力低下にも注意が必要である。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や血液中CK値が普段よりも急に高くなった場合には、運動や生活強度が過剰であると判断し運動量を減らす必要がある。

CMTの関節可動域制限の予防のために、発症早期から下腿三頭筋の持続伸張訓練を行う必要がある。また、踵の高い靴を履かないよ

うにすることも重要である。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などが推奨される。関節可動域訓練に先行して温熱療法を行くことで組織の伸張性を増すことができる。ホットパック、極超短波、パラフィン浴を下腿や大腿の後部に15～20分間行う。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。

歩行時の転倒に対しては、装具療法、杖などの歩行補助具の適切な使用が転倒予防に有効である。CMTでは手内筋の萎縮があるので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が推奨される。歩行器はキャスター付きの四輪型歩行器がよい。肢位の改善、関節の変形防止、疼痛改善などの目的で下肢装具が有効なことが多い。初期の段階では、ブーツやハイカット靴、足アーチサポートをつけた特注靴、中敷き（足底板）などで歩行の安定性が増加する。進行に応じて、足関節サポーター、短下肢装具、長下肢装具、ロフトランド杖の使用を検討する。ある程度長い距離を移動するには車椅子も考慮する方が関節の負担や筋疲労の軽減のためによい場合もある。骨折による廃用性障害が筋力低下を進めることになるので、転倒の注意と安定したフットウェアや装具を選ぶことが日常生活上重要である。

上肢装具では、屈筋群の緊張が高まり指の変形が進行することを予防し、残っている指運動の実用上の巧緻性を維持するために手関節装具を装着することが有効な場合がある。

CMTに対するロボット技術の応用

CMTには、「下肢自立支援ロボット」、「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では、入浴や移乗の支援をするロ

ボット：レジーナ[®]（日本ロジックマシン）、ロボットスーツHAL[®]（筑波大学）：Hybrid Assistive Limb (HAL) がある。HAL[®]は、近位筋の障害もある重度障害のCMT患者に適応があることが報告された¹⁰⁾。下肢訓練支援ロボットでは、TEM（安川電機）、リハボット（山梨大学）、Gait trainer（Free University）、Locomat（Hocoma）、歩行支援ロボット（安川電機・産業医科大学）などが開発されている。平成23年度に厚生労働省難治性疾患克服研究事業として、「神経・筋難病疾患の進行抑制治療効果を得るための新規医療機器、生体電位等で随意コントロールされた下肢装着型補助ロボットに関する治験準備研究」班（研究代表者 中島 孝先生）が組織され、補助ロボット技術の神経筋疾患への適応が検討されつつある。

CMT患者の日常生活の工夫、社会資源の利用

CMTに対する有効な薬物療法は未だ開発されていないが、少しでもよい健康状態を維持することは重要である。適切な運動負荷が症状を改善する可能性があり、日常的な運動の習慣を持つことは重要であると考えられる。食事療法では、CMT患者は消費カロリー/日が健常者より有意に少なく、メタボリック症候群が多い傾向がみられる。「現在の体重を維持する」ことが重要である。体重増加はすでに負担がかかっている足・膝関節や筋肉に対して、さらに負担をかけ、疼痛、疲労の増加に加えて、転倒や骨折のリスクを高める。CMTでは筋力低下から運動量が限られているため、一旦増加した体重を運動により減量することが極めて困難である。手足のケアでは、四肢遠位の冷感・浮腫、外傷、胼胝や潰瘍の形成に注意する。深部静脈血栓症とそれに関連する肺塞栓症にも注意が必要である。CMTでは、拘束性換気障害や中枢性睡眠時無呼吸症候群を来し、パルスオキシメーター、非侵襲的換気療法が必要となる場合もある。

社会資源の有効な利用法の一例を以下に示す。身体障害者手帳の制度：携帯電話の基本使用料などの割引、鉄道やバス、飛行機の運賃割引など。障害者自立支援制度：介護給付、訓練等給付、補装具費や自立支援医療費支給、訪問サービス、通所サービスなど。身体障害者手帳、医師の意見書、106項目のアセスメント調査が必要である。医療費補助：CMTは特定疾患の指定を受けていない。例外として、東京都では「遺伝性ニューロパチー」として難病医療費助成の制度がある。身障手帳1・2級で「重度心身障害者」手続きを行うと医療費の助成が受けられる。福祉用具：治療用（訓練用）装具、更生用装具がある。T字杖は「日常生活用具」、多点杖・ロフトランド杖・松葉杖などは「補装具」に分類される。電動車椅子と手動車椅子はいずれも「補装具」である。自動車の改造費の一部に対して自治体の助成を受けられることがある

わが国におけるCMT患者会である「CMT友の会」は2008年6月に設立され、現在の会員数は約200名である。「CMT友の会」の主な目的は、「患者のQOL向上」、「医療の発展」、「社会認知の向上」であり、具体的には『交流』と『情報発信』を中心に活動している (<http://www.j-cmt.org.jp>)。医療・研究機関との相互協力にも積極的に取り組んでいる。英国のCMT患者会は25年前に7名の会員で設立され、現在、1500名以上の会員を有している。毎年、神経内科医、整形外科医、小児科医、リハビリテーション医、理学・作業療法士、装具士、心理士などによる講演を含む総会を行っている。米国のCMT患者会は、約15000名の会員を有し、英国のCMT患者会同様に活発な活動を行っている。

CMTと遺伝カウンセリング

CMT患者会の調査では、遺伝子検査を受けている患者はわずかに26.7%であった。遺伝に関する適切な理解が得られていない場合が多

く、生涯独身を貫くなど結婚・出産に否定的に考える傾向がうかがえる。また、自分を産んだ親を受け入れられないなどの反応がみられる。CMTの早期診断、早期治療を考える場合、着床前診断、発症前診断などの遺伝子診断の倫理的問題は避けられず、遺伝カウンセリングの充実が必要である。

欧米に比べるとわが国では、CMTに対する医療従事者および一般社会の認知が十分ではないと思われる。最近、厚生省研究班から「シャルコー・マリー・トゥース病診療マニュアル」¹⁾が発刊されたが、今後、その普及が期待される。

CMTの治療とケアには、神経内科医、整形外科医、リハビリテーション医、そして基礎研究者の協力が必要であり、まさしく本学会の目指すものと一致している。本学会員がCMTの治療とケアに大いに貢献して頂くことを期待するものである。

文 献

- 1) シャルコー・マリー・トゥース病診療マニュアル。CMT診療マニュアル編集委員会編，2010，京都，金芳堂，京都，2010。
- 2) Saporta AS, Sottile SL, Miller LJ, Feely SM, Siskind CE, Shy ME. Charcot-Marie-Tooth disease subtypes and genetic testing strategies. *Ann Neurol* 2011; 69: 22-33.
- 3) Passage E, Norreel JC, Noack-Fraissignes P, et al. Ascorbic acid treatment corrects the phenotype of a mouse model of Charcot-Marie-Tooth disease. *Nat Med* 2044; 10: 396-401.
- 4) Sahenk Z, Nagaraja HN, McCracken BS, et al. NT-3 promotes nerve regeneration and sensory improvement in CMT1A mouse models and in patients. *Neurology* 2005; 65: 681-689.
- 5) Sereda MW, Meyer zu Hörste G, Suter U, et al. Therapeutic administration of progesterone antagonist in a model of Charcot-Marie-Tooth disease (CMT-1A). *Nat Med* 2003; 9: 1533-1537.

- 6) Khajavi M, Shiga K, Wiszniewski W, *et al.* Oran curcumin mitigates the clinical and neuropathologic phenotype of the Trembler-J mouse: a potential therapy for inherited neuropathy. *Am J Hum Genet* 2007; 81: 438-453.
- 7) Schenone A, Nobbio L, Monti Bragadin M, Ursino G, Grandis M. Inherited neuropathies. *Curr Treat Options Neurol* 2011; 13: 160-179.
- 8) 渡邊耕太, 山下敏彦. シャルコー・マリー・トウス病の外科的治療. *Peripheral Nerve* 2011; 22(1): 22-30.
- 9) Lindeman E, Leffers P, Spaans F, *et al.* Strength training in patients with Myotonic Dystrophy & Hereditary Motor & Sensory Neuropathy: A randomized clinical trial. *Arch Phys Med Rehabil* 1995; 76: 612-620.
- 10) 松嶋康之, 蜂須賀研二. シャルコー・マリー・トウス病のリハビリテーション. *Peripheral Nerve* 2011; 22: 31-38.

談 話 室

難聴と視神経萎縮

愛知淑徳大学クリニックでは言語聴覚士による言語聴覚療法を実施している。先天難聴で人工内耳移植術を受けた幼児の聴覚開発、発達障害児の言語訓練、脳梗塞後遺症による構語障害のリハビリテーションなど、さまざまなコミュニケーション障害を対象とする。言語聴覚療法の対象者にはしばしば眼科的症状がある。

1. 難聴と遺伝性眼疾患

聴覚も視覚も脳神経を介した重要な感覚系である。眼科サイドで難聴と視覚障害との合併といえば、まず Usher 症候群がイメージされるかもしれない。Usher 症候群にみる難聴はしばしば重度である。手話や読唇などで意思疎通を得るために頼りにしてきた視覚が網膜変性によって不自由になり、強い不安を訴える症例に遭遇したことがある。[eye, hearing loss], [ocular, deafness] といったキーワードで、Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) を検索すると、先天代謝異常、遺伝性筋疾患、ミトコンドリア病、神経変性疾患など約 150 の項目が抽出される¹⁾。眼徴候として網膜や視神経の病変が記載されてあるものが多い。

耳科サイドでの review によると、本邦における遺伝性難聴の 70% は非症候性 (non-syndromic) で、そのうち常染色体優性遺伝が 20%、常染色体劣性遺伝が 75%、X-連鎖性遺伝が 1% とされる。十数種の疾病遺伝子が同定され、なかでもコネキシン遺伝子変異の頻度が高い²⁾。コネキシンは小さな分子を細胞間で輸送するためのチャンネルを構成する蛋白質である。その一つであるコネキシン 26 (gap junction protein beta 2: GJB 2) は先天難聴の主な疾病遺伝子である。欧米人では 35 delG 変異が、アジア人では 235 delC 変異が高頻度に検出される。このような 1 塩基欠損の正常集団におけるヘテロ接合体頻度は約 1% であるとされ、言語習得期前難聴者のうちの 20%~30% がコネキシン 26 遺伝子異常によると報告されている。眼科的徴候を示すコネキシン異常として、Keratitis, ichthyosis, and deafness (KID) syndrome がある。KID 症候群は脱毛を伴う皮膚の過剰角化、両側性感音性難聴および進行性の角膜血管新生を主な徴候とする症候性 (syndromic) の難聴で、コネキシン 26 遺伝子のミス

センス変異が検出される³⁾。

2. ミトコンドリア遺伝子と難聴

ミトコンドリア病の一つである mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS) ではミトコンドリア遺伝子 (mtDNA)/A3243G 変異が高頻度に検出される。糖尿病および難聴を主病像とする母系遺伝家系に mtDNA/A3243G 変異が検出されることがあり、maternal inherited diabetes and deafness (MIDD) と呼ばれる。MIDD は全糖尿病患者の 0.5%~3.0% を占めるとされる。難聴の発症時期や程度や経過はさまざまであるが、内耳の障害による感音性難聴である。この他、myoclonic epilepsy and ragged red fibers (MERRF) でも難聴を伴うことがあり、mtDNA/A8344G 変異が高頻度に検出される。A3243G 変異および A8344G 変異は tRNA 翻訳領域にある。MELAS にせよ MERRF にせよ、網膜変性や視神経萎縮あるいは難聴を臨床表現として示すことがあるので、感音性難聴もミトコンドリア病の key sign と考えられている。

また、アミノ配糖体の投与による難聴 (いわゆるストマイ難聴) では、mtDNA/12S rRNA コード領域の A1555G 変異が高頻度に検出される。A1555G 変異陽性者では、必ずしも薬剤の曝露がなくても難聴が起こる。A1555G 変異陽性家系 (漢民族) における難聴発病の浸透率 (penetrance) を検討すると、アミノ配糖体投与で誘発されたものを含めると 8%~13.6% であるが、アミノ配糖体投与で誘発されたものを除外した特発性では平均 5.3% であった。A1555G 変異が陽性であっても感音性難聴が起こる頻度は高くない⁴⁾⁵⁾。

視神経症を主病像とする Leber 病に感音性難聴が合併するのだろうか? Leber 病ではアミノ酸置換を起こす mtDNA 変異が検出される。なかでも G11778A 変異の頻度が高い。G11778A 変異陽性の Leber 病に両側性の感音性難聴が併発した症例の報告がある。1 例は女性で視神経症の他に神経学的徴候があり、両側性の高音部難聴が 40 歳前後で発病した。他の 1 例は定型的な Leber 病の男性症例で、40 歳前後で感音性難聴が発病した⁶⁾。図 1 は G11778A 変異陽性の Leber 病症例にみられた両側性の感音性難聴である。この症例の視神経症は思春期発病であるが、難聴は 50 歳頃

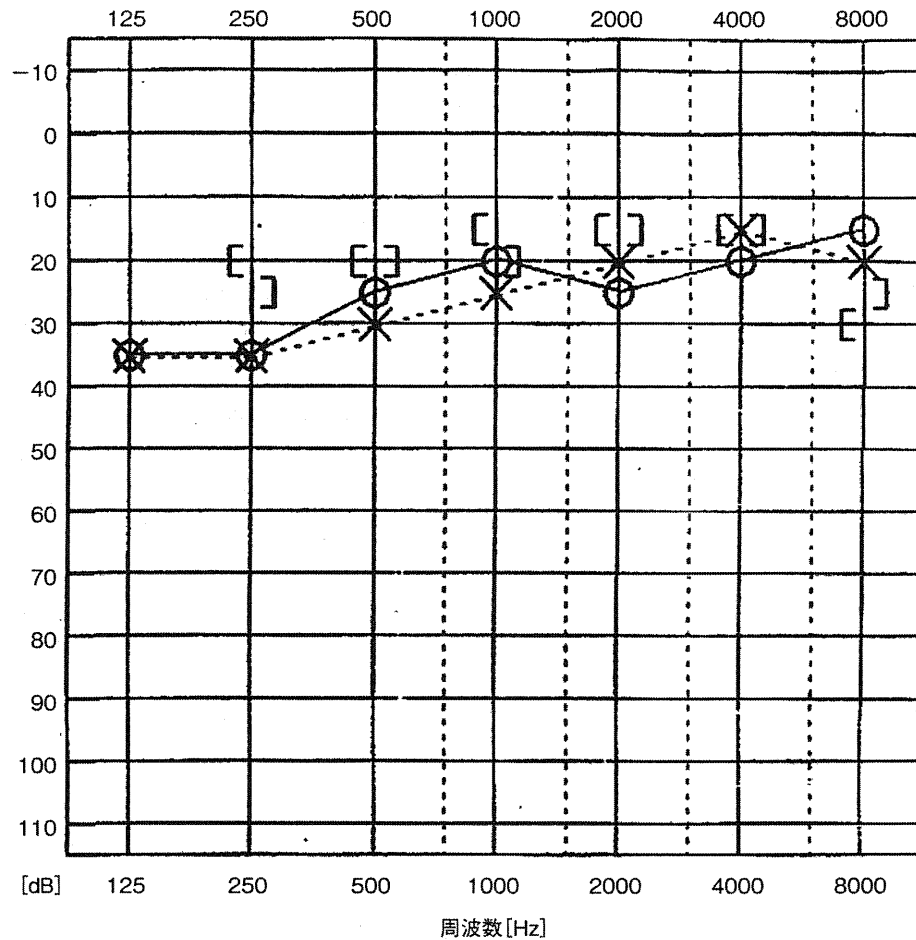


図1 Leber 病症例(53 歳, 女性, mtDNA/G11778A 変異陽性)のオーディオグラム。
気導(○, ×)・骨導([,])ともに左右の聴力が低下している。軽度の低音障害型感音性難聴である。

に起こった。感音性難聴が一般集団で発症することはまれではないので、G11778A 変異に難聴の一次的意義を求めるのは無理があるかもしれない。mtDNA 一次の変異陽性の Leber 病症例 10 例について聴覚障害の有無を検討した報告がある。対象は英国人で、G3460A 変異 3 例、G11778A 変異 5 例および T14484C 変異 2 例である。外傷や炎症に続発した軽度の伝音性難聴以外には異常なかった⁷⁾。一方、高い視神経症発病率を示す Leber 病の 1 家系 3 世代の発端者について、mtDNA の全塩基配列を決定したところ、G11778A 変異に加えて、前述した A1555G 変異が検出された。この中国人家系では mtDNA 変異が母系遺伝しているとみなされるメンバーのうち 78.6% が視神経症を発病しているが、感音性難聴はなかった。この場合、A1555G 変異は G11778A 変異による視神経症発病に協動的に作用するのかもしれないと考察されている⁸⁾。同様に Leber 病の 1 家系 3 世代(漢民族)の発端者について、Leber 病の一次変異 T14484C 変異に加えて A1555G 変異が検出された。14 名の保因者のうち 4

例に中等度の視神経症があり、そのうち 1 例に軽度の感音性難聴があった。このように、同じ mtDNA ハプロタイプでも表現型にばらつきがあることは核遺伝子や環境要因による修飾を思わせる⁹⁾。

3. Wolfram (WFS 1) 遺伝子と視神経萎縮

Wolfram 症候群 (diabetes insipidus and diabetes mellitus with optic atrophy and deafness : DIDMOAD) は常染色体劣性遺伝の神経変性疾患で、尿崩症、糖尿病、視神経萎縮および難聴を主病像とする。さらに、腎機能障害、精神神経疾患、小脳失調、末梢神経障害などの多彩な徴候をみることがある。ミトコンドリア異常の臨床徴候と類似することから、疾病遺伝子が同定される以前に mtDNA のハプロタイプと Wolfram 症候群の発病リスクとの関連が想定された時期がある。例えば、Wolfram 症候群 8 例、一次的 mtDNA 変異陽性の Leber 病 17 例、正常対照 67 例について、mtDNA の遺伝子多型所見から求めたハプロタイプを比較すると、Wolfram 症候群のうち 5 例に特有のタイプがあることが報告された¹⁰⁾。

染色体 4p16.1 に位置する疾病遺伝子(WFS1)が 1998 年に同定された¹¹⁾。スペイン人の Wolfram 症候群について WFS1 遺伝子変異の有無を検索すると、16 家系のうち 12 家系(75%)にホモ接合の WFS1 遺伝子変異が検出された。エキソン 4 の 16 塩基挿入変異が高頻度にみられ、他にミスセンス変異、欠失、ナンセンス変異が検出された。常染色体劣性遺伝に一致する変異の集積が確認された。mtDNA の異常を示す症例もあったが、WFS1 遺伝子変異との関連はなかった¹²⁾。一方、常染色体優性遺伝の非症候性難聴あるいは視神経萎縮を合併した難聴の症例に WFS1 遺伝子変異が検出されることがある。例えば、視神経萎縮および低音障害型感音性難聴を示すオランダ人 1 家系の発病者にヘテロ接合のミスセンス変異(Lys836Asn)が検出された。発病者 3 例の視神経病変は左右対称性で、矯正視力は 0.05~0.4 であった。周辺視野は保たれているが、Mariotte 盲点拡大がみられ、色覚や視覚誘発電位に異常がみられた。これらは mtDNA/G3460A 変異や mtDNA/T14484C 変異が陽性の Leber 病症例の症状固定期の所見と類似している。耐糖能の異常はなかった¹³⁾。本邦の報告例でも同様の所見が観察されている¹⁴⁾。

上記のように、常染色体劣性遺伝の定型的な Wolfram 症候群では塩基挿入や欠失などの強い病的効果を持つ変異がホモ接合で検出されることが多く、常染色体優性遺伝の非症候性難聴では同じ遺伝子のミスセンス変異がヘテロ接合体として検出される。後者は Wolfram-like syndrome として、Wolfram 症候群とともに OMIM の同じ項目(MIM #222300)に記載されている。定型的な Wolfram 症候群がまれな疾患であるためか、WFS1 遺伝子と関連する眼科サイドでの詳しい報告はほとんどない。常染色体優性遺伝あるいは孤発例の視神経萎縮で難聴を合併している症例の一部では WFS1 遺伝子異常が関与している可能性があるだろう。

4. OPA1 遺伝子と難聴

常染色体優性視神経萎縮(autosomal dominant optic atrophy: ADOA)では 1 型(optic atrophy type 1: OPA1, Kjer type optic atrophy, MIM #165500)の頻度が高い。就学前に発病することが多く、両眼対称性で中等度の視力低下、中心視野異常、色覚異常および単性視神経萎縮を示す。OPA1 ではさまざまな程度の感音性難聴を合併する症例があり、人工内耳移植術の適応になるような重度の場合がある。また、視神経萎縮や難聴に加えて、失調、骨格筋のミオパシー、末梢神経障害、進行性外眼筋麻痺、糖尿病などの多彩な臨床徴候を表現するサブグループがあり、autosomal

dominant optic atrophy plus(DOA plus)と呼ばれる¹⁵⁾。

OPA1 の疾病遺伝子は GTP 合成酵素ファミリーの蛋白質をコードする。これまでに確認された遺伝子変異のほとんどがミスセンス変異である。病理組織学的検索や OPA1 遺伝子ノックアウト動物での検討によると、網膜神経節細胞の変性、神経線維軸索の脱落、OPA1 蛋白質の発現抑制などがみられる¹⁶⁾。ごく最近の話題として、核遺伝子である OPA1 の変異によって元来正常の mtDNA の維持機能(maintenance of wild-type mtDNA)が障害されて正常の mtDNA コピー数が減少することが示唆されている¹⁷⁾。DOA plus 症例の骨格筋生検試料では、病理組織学的検索による ragged-red fiber の存在やシトクロム酸化酵素など呼吸鎖酵素群の活性低下がみられる。これらはまさにミトコンドリア病にみられる所見であり、OPA1 遺伝子変異との関連について実験系などを用いた検証がなされることが期待される。さらに、OPA1 は末梢神経障害の病態にも関連する可能性がある。Charcot-Marie-Tooth 病は遺伝性末梢神経障害の代表的な疾患であるが、その一部はミトコンドリア外膜に局在しミトコンドリアの融合(fusion)と分裂(fission)に関与する 2 種類の蛋白質の異常によって発病する¹⁸⁾。ミトコンドリア内膜に局在する OPA1 蛋白質がこれらの蛋白質と関連することが示唆されているのである。

難聴とともに視神経萎縮を臨床表現する 3 つの遺伝病について review してみた。Leber 病ではミトコンドリア機能に異常が生じて、網膜神経節細胞が変性する¹⁹⁾。Wolframin 蛋白質は網膜神経節細胞や網膜神経線維の無髓軸索に強く発現することが報告されている²⁰⁾。そして、OPA1 では核遺伝子変異によるミトコンドリア異常が示唆されている。ミトコンドリア病、Wolfram 症候群あるいは OPA1 にみられる視神経萎縮の病像には類似点が多く、それぞれの病態にも共通点がある。これらの疾患は単一遺伝子病である。その疾患概念が変わるわけではないが、異なる分子の相互作用がさまざまな病態に関与するという意味で生命現象の複雑さをあらためて感じさせる。

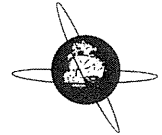
文 献

- 1) Online Mendelian Inheritance in Man. www.ncbi.nlm.nih.gov/omim
- 2) Ito T, Noguchi Y, Yashima T, Ohno K, Kitamura K: Hereditary hearing loss and deafness genes in Japan. *J Med Dent Sci* 57: 1-10, 2010.
- 3) Richard G, Rouan F, Willoughby CE, Brown N, Chung P, Ryyanen M, et al: Missense mutations in GJB2 encoding connexin-26 cause the

- ectodermal dysplasia keratitis-ichthyosis-deafness syndrome. *Am J Hum Genet* 70 : 1341—1348, 2002.
- 4) **Young WY, Zhao L, Qian Y, Wang Q, Li N, Greinwald JH Jr, et al** : Extremely low penetrance of hearing loss in four Chinese families with the mitochondrial 12S rRNA A1555G mutation. *Biochem Biophys Res Commun* 328 : 1244—1251, 2005.
 - 5) **Tang X, Yang L, Zhu Y, Liao Z, Wang J, Qian Y, et al** : Very low penetrance of hearing loss in seven Han Chinese pedigrees carrying the deafness-associated 12S rRNA A1555G mutation. *Gene* 393 : 11—19, 2007.
 - 6) **Ceranić B, Luxon LM** : Progressive auditory neuropathy in patients with Leber's hereditary optic neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75 : 626—630, 2004.
 - 7) **Yu-Wai-Man P, Elliott C, Griffiths PG, Johnson IJ, Chinnery PF** : Investigation of auditory dysfunction in Leber hereditary optic neuropathy. *Acta Ophthalmol* 86 : 630—633, 2008.
 - 8) **Zhang AM, Jia X, Yao YG, Zhang Q** : Co-occurrence of A1555G and G11778A in a Chinese family with high penetrance of Leber's hereditary optic neuropathy. *Biochem Biophys Res Commun* 376 : 221—224, 2008.
 - 9) **Wei QP, Zhou X, Yang L, Sun YH, Zhou J, Li G, et al** : The coexistence of mitochondrial ND6 T14484C and 12S rRNA A1555G mutations in a Chinese family with Leber's hereditary optic neuropathy and hearing loss. *Biochem Biophys Res Commun* 357 : 910—916, 2007.
 - 10) **Hofmann S, Bezold R, Jaksch M, Kaufhold P, Obermaier-Kusser B, Gerbitz KD** : Analysis of the mitochondrial DNA from patients with Wolfram (DIDMOAD) syndrome. *Mol Cell Biochem* 174 : 209—213, 1997.
 - 11) **Inoue H, Tanizawa Y, Wasson J, Behn P, Kalidas K, Bernal-Mizrachi E, et al** : A gene encoding a transmembrane protein is mutated in patients with diabetes mellitus and optic atrophy (Wolfram syndrome). *Nat Genet* 20 : 143—148, 1998.
 - 12) **Gómez-Zaera M, Strom TM, Rodríguez B, Estivill X, Meitinger T, Nunes V** : Presence of a major WFS1 mutation in Spanish Wolfram syndrome pedigrees. *Mol Genet Metab* 72 : 72—81, 2001.
 - 13) **Hogewind BF, Pennings RJ, Hol FA, Kunst HP, Hoefsloot EH, Cruysberg JR, et al** : Autosomal dominant optic neuropathy and sensorineural hearing loss associated with a novel mutation of WFS1. *Mol Vis* 16 : 26—35, 2010.
 - 14) **Fukuoka H, Kanda Y, Ohta S, Usami S** : Mutations in the WFS1 gene are a frequent cause of autosomal dominant nonsyndromic low-frequency hearing loss in Japanese. *J Hum Genet* 52 : 510—515, 2007.
 - 15) **Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Gorman GS, Lourenco CM, Wright AF, Auer-Grumbach M, et al** : Multi-system neurological disease is common in patients with OPA1 mutations. *Brain* 133 : 771—786, 2010.
 - 16) **Alavi MV, Bette S, Schimpf S, Schuettauf F, Schraermeyer U, Wehrl HF, et al** : A splice site mutation in the murine Opa1 gene features pathology of autosomal dominant optic atrophy. *Brain* 130 : 1029—1042, 2007.
 - 17) **Yu-Wai-Man P, Sitarz KS, Samuels DC, Griffiths PG, Reeve AK, Bindoff LA, et al** : OPA1 mutations cause cytochrome c oxidase deficiency due to loss of wild-type mtDNA molecules. *Hum Mol Genet* 19 : 3043—3052, 2010.
 - 18) **Niemann A, Ruegg M, La Padula V, Schenone A, Suter U** : Ganglioside-induced differentiation associated protein 1 is a regulator of the mitochondrial network : new implications for Charcot-Marie-Tooth disease. *J Cell Biol* 170 : 1067—1078, 2005.
 - 19) **Carelli V, La Morgia C, Valentino ML, Barboni P, Ross-Cisneros FN, Sadun AA** : Retinal ganglion cell neurodegeneration in mitochondrial inherited disorders. *Biochim Biophys Acta* 1787 : 518—528, 2009.
 - 20) **Kawano J, Tanizawa Y, Shinoda K** : Wolfram syndrome 1 (Wfs1) gene expression in the normal mouse visual system. *J Comp Neurol* 510 : 1—23, 2008.

伊佐敷 靖¹⁾, 中川 正法²⁾

¹⁾愛知淑徳大学クリニック眼科, ²⁾京都府立医科大学大学院医学研究科神経内科学)



Activity-dependent changes in impulse conduction of single human motor axons: A stimulated single fiber electromyography study

Yu-ichi Noto^{a,b,*}, Sonoko Misawa^a, Kazuaki Kanai^a, Yasunori Sato^c, Kazumoto Shibuya^a, Sagiri Iose^a, Saiko Nasu^a, Yukari Sekiguchi^a, Yumi Fujimaki^{a,d}, Shigeki Ohmori^a, Masanori Nakagawa^b, Satoshi Kuwabara^a

^a Department of Neurology, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan

^b Department of Neurology, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan

^c Clinical Research Center, Chiba University Hospital, Chiba, Japan

^d Department of Neurology, Tokyo Metropolitan Neurological Hospital, Tokyo, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Accepted 4 May 2011

Available online 12 June 2011

Keywords:

Activity-dependent hyperpolarization

Activity-dependent conduction block

Single fiber electromyography

Single motor axon

HIGHLIGHTS

- In myelinated axons, trains of impulses activate electrogenic Na^+/K^+ pump and thereby axonal hyperpolarization.
- We developed a novel method to assess activity-dependent hyperpolarization in normal human motor axons.
- Single muscle action potentials recorded by single fiber EMG showed significant latency prolongation during tetanic stimulation.

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to develop a novel method to assess activity-dependent hyperpolarization in human single motor axons at a constant stimulus frequency by using intra-muscular axonal stimulating single fiber electromyography (s-SFEMG).

Methods: We performed s-SFEMG in the extensor digitorum communis (EDC) muscle of 10 normal subjects, and measured changes in latencies for single muscle fiber action potentials (MAPs) during 500 stimuli delivered at 5, 10 and 20 Hz. The data were analyzed with a repeated measurement analysis, and multiple comparisons were performed.

Results: A total of 585 MAPs were examined at 5 Hz ($n = 190$), 10 Hz ($n = 210$), and 20 Hz ($n = 185$) steady stimulation. There was a progressive linear prolongation of latencies, as the stimulus rate increased ($F = 95.6$, $p < 0.001$); the least square means (SEM) of latency change were 100.7 (0.28)% at 5 Hz, 102.3 (0.27)% at 10 Hz and 105.3 (0.28)% at 20 Hz. There were statistically significant differences between frequencies by Tukey–Kramer's method. Despite the significant latency prolongation, no activity-dependent conduction block developed. A 20 Hz electric stimulation to intramuscular axons was well-tolerated in all the subjects.

Conclusions: Tetanic stimulation at a constant rate results in significant latency increase in single human motor axons, the extent of which depends on the stimulus frequency. The findings imply that physiological discharge rates will activate the Na^+/K^+ pump and thereby produce axonal hyperpolarization in single motor axons.

Significance: This technique may detect activity-dependent conduction block if the safety margin of impulse transmission is significantly reduced by demyelination or increased branching due to collateral sprouting in a variety of neuromuscular disorders.

© 2011 International Federation of Clinical Neurophysiology. Published by Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

* Corresponding author at: Department of Neurology, Chiba University School of Medicine, 1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba 260-8670, Japan. Tel.: +81 43 222 7171x5414; fax: +81 43 226 2160.

E-mail address: y-noto@koto.kpu-m.ac.jp (Y.-i. Noto).