

- for use in multicenter research on spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord* **16**: 417-426, 2006
- 23) 齋藤加代子, 伊藤万由里: 成人の脊髄性筋萎縮症, 脊髄性進行性筋萎縮症の臨床の分析. 「厚生労働科

学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)神経変性疾患に関する調査研究班 2008年度(分担)研究報告書」, pp39-44 (2009)

脊髄性筋萎縮症の遺伝カウンセリング

東京女子医科大学附属遺伝子医療センター

ウラノ マリ サイトウカ ヨコ
浦野 真理・齋藤加代子

(受理 平成25年3月12日)

Genetic Counseling of Spinal Muscular Atrophy

Mari URANO and Kayoko SAITO

Institute of Medical Genetics, Tokyo Women's Medical University

In recent years, significant progress has been made in molecular genetics, and researchers have identified many gene mutations responsible for diseases. The range of useful information in genetic counseling has increased not only for definitive diagnosis but in terms of medical treatment and prevention. Additionally, gene information is now applicable to prenatal diagnosis. Thus, it has become more important to provide appropriate genetic counseling. We herein describe genetic counseling for spinal muscle atrophy.

Key Words: spinal muscular atrophy, genetic counseling, prenatal diagnosis, self-determination

はじめに

分子遺伝学の目覚ましい進歩により、多くの遺伝性疾患の原因遺伝子が特定されてきた。遺伝学的検査による確定診断により、罹患者の自然歴や予後が推定できるようになった。原因遺伝子を特定する意味だけでなく、治療や予防に有用な情報の範囲が増加したため、適切な遺伝カウンセリングの提供がますます重要になり、十分な情報提供の元に自己の治療に役立つ選択が可能になっていくと考えられる。

本稿では、脊髄性筋萎縮症 (spinal muscular atrophy: SMA) の遺伝カウンセリングについて述べる。

1. 遺伝カウンセリングとは

遺伝カウンセリングとは、National Society of Genetic Counselors によって「疾患の医学的・心理的、家族的影響を理解し、それに適応できるように援助するプロセスである。このプロセスは以下の3つの事項を統合したものである。」と定義されている¹⁾。

①疾患の発生もしくは再発の可能性を評価するための家族歴と解釈

②遺伝、検査、マネージメント、予防、資源および研究についての教育

③リスクもしくは状況に対するインフォームドチョイス (説明を受けた上での選択同意) と、適応を促進するカウンセリング

つまり、遺伝カウンセリングは、ある遺伝性疾患に関して、どのくらいの発症リスクがあるか、または再発のリスクがあるかなどについての情報を求める患者 (クライアント) が心の負担や重荷を感じることなく、様々な情報を得て、自己決定できるようにすることが重要と考えられている。

その過程では、クライアントにはチームに関わることが望ましく、臨床遺伝専門医や遺伝カウンセラー、看護師、心理士などの臨床遺伝専門職は心理的、社会的な支援を通して、クライアントへの援助を行うことを求められている。

例えば、再発のリスクの受け止め方は人によって異なる。受け止める背景には、その人の教育や文化的背景、数学的確率の理解度、不安になりやすさなどの性格傾向によって影響を受ける。ある染色体異常の児をもつ母親は、再発率は一般人のリスク (3~5%) より数倍くらい高くなると伝えられた。ある母親は「そんなにリスクが高くては、とても次の子は望めません。」と答えたが、別の母親は「一般人とも

Genetic counseling	Process
appointment	major complaint, point to be checked for accompanying person, gathering information about their disease
↓	
pre-counseling meeting	preparations for the institution which can possibly carry out the genetic testing
↓	
date of first visit	genetic information on proband, plus clinical features, pedigree construction, family tree construction, providing information to the patient about medical genetics
↓	
staff conference	case conference
↓	
after the 2nd visit	supplementary information on the proband, provide information to the patient about medical genetics
↓	
follow-up care	

Fig. 1 Process of Genetic counseling

そんなに違わないので安心しました。」と話した。

このようにリスクの捉え方、解釈の仕方は人それぞれで、それゆえに遺伝カウンセリングの展開は家族ごとに違ってくる。そこで、様々な職種がチームに関わることによって、多様なクライアントの価値観、解釈にきめ細やかな対応が可能になると考えられる。

通常、遺伝カウンセリングは Fig. 1 のような流れで行われる。

まず、遺伝カウンセリングではクライアントがどんな相談で来院したかを把握するのが重要である。ときには漠然とした不安を持って来院することもあるが、そのようなときにはクライアントの不安に共感しつつ、問題点を明確にする必要がある。

本人とその家族の遺伝学的情報を聴取し、家系図をまとめる。家系図では、医学的な情報の収集のみならず、家族の情緒的な交流の度合いなども推し量れることもあり、その後のカウンセリングには有用な情報をもたらすことも多い。

次に家系や疾患の情報を収集した上で重要なのはやはり診断の確定である。診断が正しくなければ、その後の方向性も変わってくるので留意する。

その後、遺伝的なリスク、対応などの情報提供を行うが、クライアントの理解度を確認しながら行うのが望ましい。また医学的な情報のみではなく、心理社会的な支援の状況などを加えながら伝えることが大切である。

SMA の相談では、遺伝子による診断確定の希望で来院されることも多いが、「子どもが SMA と診断されているが、次の子どもも同じ症状をもつかどうか心配なので相談したい。」あるいは「兄弟姉妹が SMA と診断されている。自分が保因者かどうか、が知りたい。」とあって来院される。遺伝カウンセリン

グで得られた情報を元に遺伝子検査を受ける、受けないなどの選択がスムーズにできるよう支援していくことになる。

2. SMA の遺伝カウンセリング

1) 情報提供

SMA は脊髄前角細胞の消失による筋萎縮と進行性の筋力低下を特徴とする常染色体劣性遺伝性疾患の 1 つである。SMA の責任遺伝子は染色体長腕 5q13 に存在し、運動神経生存 (survival motor neuron: SMN) 遺伝子の欠失により症状がおこる。国際 SMA 協会により発症年齢、臨床経過に基づいて、I 型 (重症 Werdnig-Hoffman 病)、II 型 (中間 Dubowitz 病)、III 型 (軽症 Kugelberg-Welander 病)、IV 型 (成人発症) に分類される²⁾。

I 型は生後 6 ヶ月までに発症し、呼吸管理をしなければ 2 歳までに死亡することが多い。II 型は 1 歳 6 ヶ月頃までに発症し、坐位保持までは可能であるが、自立歩行は困難である。III 型は 1 歳 6 ヶ月以降に転びやすい、歩けないなどの症状で気づくが発症年齢は個人差がある。自立歩行を獲得するが、次第に筋力低下、歩行困難が目立つようになる。IV 型は成人型で、孤発例が多く、20 歳以降、老年にかけて発症する。

小児期発症の SMA の原因遺伝子は SMN1 遺伝子で、5 番染色体長腕 5q13 に存在している。両親から受け継いだ SMN1 遺伝子が欠失していることにより発症するケースが多い。I 型、II 型では 95% 以上、III 型では 40~50% に SMN1 遺伝子の exon7, 8 の両方もしくは exon7 のみの欠失が認められる。常染色体劣性遺伝性形式を取るため、患者の両親から生まれる同胞は 25% (1/4) の確率で遺伝子変異を持つ。また症状がない患者の同胞は 2/3 の確率で保因者の可能性がある。また、次子の出生前診断につい

-
- (1) Prenatal testing and diagnosis options during the first half of pregnancy include cytogenetics, biochemical genetics, molecular genetics, and histopathological methods employing amniotic fluid, villus cells, and other embryonic samples, as well as the physical procedure of ultrasound examination.
 - (2) In performing prenatal genetic inspection and diagnosis, care must be taken regarding ethical, including social concerns. Care must especially be taken in terms of the following points.
 - (a) Before prenatal testing, we provide relevant explanations about the possibility of an infant having a disease, the diagnostic limits of laboratory procedures, and risks and adverse effects on the mother and the fetus. We also offer sufficient genetic counseling.
 - (b) Implementation of testing necessitates sufficient fundamental training and must be carried out by obstetricians and gynecologists who have mastered safe and appropriate inspection techniques, or have been given adequate instruction.
 - (3) Invasive prenatal testing and diagnosis employing chorionic villus sampling, amniocentesis, and so on, have given couples hope about pregnancy for the following reasons, and can be performed when understanding of the meaning of a test is sufficient.
 - (a) When either the husband or the wife is a gene carrier of a chromosome abnormality
 - (b) When there is a past history of having given birth to a child suffering from a chromosome abnormality.
 - (c) In pregnant women of advanced age
 - (d) In pregnant women who are heterozygote carriers of an X-linked hereditary disease associated with a serious illness in the newborn period or during childhood
 - (e) When both the husband and the wife are heterozygotes for an autosomal-recessive-inheritance disease associated with a serious illness in the newborn period or during childhood
 - (f) When either the husband or the wife is a heterozygote with a critical autosomal-dominant-inheritance disease associated with a serious illness in the newborn period or during childhood
 - (g) In addition, when a fetus is suspected to possibly have serious or life-threatening disease.
-

Fig. 2 Prenatal diagnosis (Genetic testing guidelines derived from consensus of ten related societies)

ては遺伝子変異が判明している場合には可能になるが、倫理的な問題を含むため、遺伝カウンセリングで十分に話し合う必要がある。

2) 遺伝子による確定診断

SMA の遺伝子による確定診断は臨床診断に基づいて行われる。採血よりリンパ球を取り出し、DNA を抽出して SMN 遺伝子が欠失しているかどうかを調べる。

確定診断を行い、結果開示の遺伝カウンセリングでは、診断を告げられた両親は衝撃を受け、説明がほとんど頭に残らなかったと後に語ることも多い。両親の受け止めを見ながら、わかりやすい言葉で、段階を踏んで説明していく必要がある。また、SMA の児は知的障害がなく、理解力を備えているので、年齢に即した本人への説明も考慮されなければならない。

3) 出生前診断について

本邦では、出生前診断は遺伝関連 10 学会（2003 年 5 月）に作成されたガイドライン³⁾に基づき、実施範囲が決定される。ガイドラインでは以下のように定義されている（Fig. 2）。

SMA ではガイドラインの（e）に相当し、重篤と考えられる I 型、II 型が本学倫理委員会でも審議を通過している。しかし、そこには倫理的な問題が含まれていることを忘れてはならない。ガイドラインで乳児期、小児期に発症する重篤な疾患、と定義さ

れているが、実際にはっきりとした線引きは存在しない。重篤という観点については家族、特に両親の想いは様々である。III 型や IV 型は出生前診断の対象にはなっていないが、ある地方在住の SMA III 型の家族は、出生前診断について話を聞きたいと来院した。この家族にとっては、家業を継ぐ後継者としては障害がない子でないと困る、と出生前診断を切望した。遺伝カウンセリングの中で、III 型は出生前診断のガイドラインに合致せず、本学倫理委員会を通過していないこと、また成人に達し社会で活躍している方が多いことなどの説明を受けた。両親は数回の遺伝カウンセリングで出生前診断は実施できないことを納得した。この両親のように、医療に関する自己決定は容易ではない。生命倫理の課題が含まれていることが多いため、意思決定においての困難さが増す。そのため、問題解決のための遺伝カウンセリングが重要な意味をもつと考えられる。

さらに、出生前診断を実施し、児が遺伝子変異を有していない場合にはその後の妊娠を継続できるが、児が病気であると判明した場合には、子どもをあきらめるのか、あるいは病気と知って子どもを迎えるのか、重い選択を迫られることになる。また、人工妊娠中絶術を受けた母親は通常分娩とは異なり、大きなストレスを抱える。中絶後の女性の心理的な葛藤は中絶のすぐ後で大きく、たいいていの女性は時間を経て弱まるが、何人かの女性は苦悩の状態

が続くとしている⁹⁾。中絶した悲しみ (grief) からの回復には十分な時間がかけられることが大切である。このように出生前診断の遺伝カウンセリングに際しては、夫婦あるいは家族が納得のいく決定を支え、その後の心理的葛藤にも援助をすることが重要になるだろう。

3. 遺伝カウンセリングの実際

症例：SMA I型の児を亡くした夫婦

家族歴：神経筋疾患の既往がある家系員はなし。

家族：夫 30代，妻 30代，血縁関係はなし。

第一子の経過：在胎週数 41 週 3 日，遷延分娩，帝王切開にて出生した。体重 3,200g。生下時より四肢の動きが少ないと感じていた。6 ヶ月時，筋力低下，運動発達遅滞などを指摘され，地元の大学病院を受診した。精査入院し，SMA が疑われ，東京女子医科大学附属遺伝子医療センターに遺伝子検査の依頼があった。検査の結果，SMN 遺伝子の欠失が認められた。診断後，徐々に呼吸困難症状が出現し，呼吸不全により 1 歳 4 ヶ月時死亡した。次子の希望があることから主治医より紹介され，当センターに来院した。

遺伝カウンセリング初回（臨床遺伝専門医と筆者らは毎回同席）：児が亡くなって約 4 ヶ月後に夫婦で来院した。臨床遺伝専門医により，疾患のこと，遺伝と遺伝子，次子の出生前診断について説明を受けた。児の経過を話すときにも母はすぐに涙を見せ，まだ情緒的に不安定である様子が見受けられた。夫婦でよく話し合い，次回，出生前診断についての考えを伺うことになった。

スタッフカンファレンスでは，児が亡くなって日が浅く，両親が児の亡くなったことの受け入れにはほど遠い状態であることが懸念された。ここですぐに出生前診断を行って，もし次の子が罹患した場合，心理的な負担が大きいのと思われる。時間をかけた方がよいだろうということになり，心理の継続面接も勧めてみる。

2 回目：初回から 2 ヶ月後に夫婦で来院した。出生前診断を希望したいと話した。しかし，「診断は受けたいが，もし結果が病気だった場合に，命の選別をすることになるのではないか。迷いもある。でも前の子どものときと同じようなつらい思いはしたくない。」と話した。夫婦は，事前の検査はしておきたいとのことで，多型解析のための同意書を作成し，採血を行った。

3 回目：夫婦で来院し，多型解析の結果を聞いた。

夫婦の気持ちを出生前診断の前に整理することを提案し，心理面接も個別に行った。

4 回目：初回から 2 年後，妊娠の連絡を受けた。遺伝カウンセリング終了後，妻のみ心理面接を行う。子どもが病気だった場合にどうするか，という点について話を聞いた。出生前診断を受けるということで，夫婦の意見は一致したということであった。もし，病気だった場合に，母は覚悟をしているようではあったが，戸惑いもある様子だった。

5 回目：第二子も病気であることが判明した。結果を医師から伝えられると，涙する。夫婦とも言葉少なく，とてもショックを受けている様子だった。

6 回目：人工妊娠中絶術 1 ヶ月後，母のみ来院した。次の子どもについては怖くて考えられない，夫婦でも話し合いはまだしていないことなどを語った。その後，電話でも話をしたが，少しずつ外出もできるようになり，落ち着いてきているとのことだった。次の子どもについても前向きに考えられるようになったと報告があった。

症例の考察：遺伝学的検査による確定診断が行われることも多くなったが，その際には検査によってどのようなことが判明するか，家族にはどのような影響があるか，などについても説明を行い，結果が出た際に，自分がどのように考えるか，家族にはどう伝えればよいかなど，シミュレーションできることは重要である。また，遺伝学的検査によって，遺伝子変異が検出されなかった場合，臨床症状がある場合には診断の否定にはならず，検査が 100% 検出可能ではないことを検査実施前に十分理解を促すことも必要であろう。

このクライアントのように遺伝学的検査によって診断が確定すれば，次の子どもの出生前診断が可能になるが，倫理的問題も含まれるため，実施の際には遺伝関連 10 学会によるガイドラインに即しながら，遺伝カウンセリングを行っていく必要がある。

当センターでは 1996 年から 2010 年までに SMA I 型，II 型の 102 例 66 家系，双胎 2 組を含み，診断対象児は 104 名について出生前診断を実施した経験がある。診断の結果は 104 名中，28 例 (26.9%) が罹患，76 例 (73.1%) が非罹患であり，常染色体劣性遺伝性疾患の次子再発率から予測される確率に相応している結果となった。

出生前診断を希望する夫婦は，児には異常がない 75% の確率を得たくて来院することが多い。しかし，25% の確率，つまり児に病気があると診断され

る場合が必ずあることに焦点を当てなければならない。児に病気があるという、夫婦にとって悪い知らせ (bad news) を聞くときには不安が生じやすく、内容を聞くのが困難になる⁹⁾。心の準備となる出生前診断を受ける前の遺伝カウンセリングでは、夫婦それぞれの病気に対する考えや児に対する思いを聞き、また次子が病気だったときの受け止めについて話し合うことが重要になる。つまり、両親が不安や悲しみなどを表出した際に、医療側の対応が可能になるように、出生前診断を実施する以前から、夫婦の考えや思いを把握しておくことが大切になる。

さらに中絶を前提とするのではなく、児の状態を把握し、出産時の体制を整えるために受けたいという夫婦もいた。また、SMA の子どもを看取ったが、十分なケアができなかったという思いが強く残った夫婦は、遺伝カウンセリングの中で SMA の児が生まれてくることを望んでいると話した。周囲の反対などもあったが、夫婦の決定としては、出生前診断を受けるのをやめ、調べずに出産を迎えた。このように夫婦の選択は様々であり、その多様な思いに対応していくことが医療側にも求められる。

おわりに

近年、遺伝性疾患の原因遺伝子の同定によって病態の解明も加速している。遺伝子が判明することにより、病態を把握し、臨床的なマネージメントに役立つ情報が得られるが、遺伝子が判明し病気が確定することで新たな悩みを生み出す側面も持っていることを忘れてはならない。治療法の確定していない

疾患の出生前診断では、胎児が疾患を持つかどうか判明するが、その後の夫婦の決定には、命の選別につながる重い選択が含まれている。そのような場合には遺伝カウンセリングのようなコミュニケーションのプロセスが重要になる。正確な情報提供とともに、患者の心情を推し量る姿勢や、配慮をした言葉かけや対応などにも重点を置いたケアの実践はどの医療にも通じる姿勢であろう。

謝 辞

ご指導を賜りました大澤眞木子主任教授に心から深謝申し上げ、本論文を大澤眞木子主任教授退任記念論文として捧げます。

開示すべき利益相反はありません。

文 献

- 1) National Society of Genetic Counselor's Definition Task Force, Resta R, Biesecker BB et al: A new definition of Genetic Counseling: National Society of Genetic Counselors' Task Force report. *J Genetic Couns* **15**: 77-83, 2006
- 2) 「脊髄性筋萎縮症診療マニュアル」(SMA 診療マニュアル編集委員会編), 金芳堂, 京都 (2012)
- 3) 「遺伝学的検査に関するガイドライン」, 遺伝医学関連学会, 東京 (2003)
- 4) Lloyd J, Laurence KM: Sequelae and support after termination of pregnancy for fetal malformation. *Brit Med J* **290**: 907-909, 1985
- 5) Luba D: Psychosocial Counseling. In *A guide to genetic counseling* (Wendy RU, Jane LS, Beverly MY eds), pp133-175, Wiley-Blackwell, Hoboken (2009)

神経筋疾患における小児医療から成人医療への移行：遺伝子診断および遺伝カウンセリングを通じた介入

- ◎神経筋疾患
- ◎遺伝子医療
- ◎思春期の成長と課題
- ◎ライフステージと医療

Author 齋藤加代子*, 浦野真理*

*東京女子医科大学附属遺伝子医療センター

Headline

1. 神経筋疾患にて通院中の10歳以上の患者・家族に思春期の変化について、アンケート調査を実施した。
2. 遺伝医療の場では、確定診断に伴う開示、告知、その後の身体的・心理的フォローの役割を担う。
3. 思春期はアイデンティティの確立のために葛藤が生じやすく、神経筋疾患をもつ子どもは運動機能障害の進展により、不安を増強させやすいため、介入が必要。
4. 成人医療の移行として遺伝カウンセリングの介入は意義が大きい。

はじめに

神経筋疾患を抱える小児は、成長とともに運動機能を獲得するが、思春期を境にして、運動機能障害の進展が顕著になり、自由な行動に制限が生じることが多い。小児科から内科への移行期である思春期は、神経筋疾患を抱える小児にとって、喪失する運動機能について悩み、周りの子達と比較して劣等感を抱き、情緒不安定になり、将来への不安が増す時期であり、家族への反抗、不登校などが生じうる。一方、親は、子どもが障害をもつことへの拒否的・否定的な感情と、その反動としての過保護や溺愛となることもある。この時期を乗り越えて、独立心が芽生え、素晴らしい成人に達する人たちも少なくない。進行性に筋力低下を示し、思春期において歩行機能などの運動機能を喪失し、成人期には呼吸器の装着を考えていく場合もある神経筋疾患を有する人々の医療に携わる者は、この時期の課題を把握し、個別医療としての医療的・心理的な対応が求められる。

遺伝診療の現場では、十分な遺伝カウンセ

リングのもとに遺伝子診断による確定診断を行い、その結果を患者と家族に開示し、その後の身体的・心理的フォローを主治医と協力して実施している。患者が小児の場合には知的な発達に応じて、わかりやすい言葉で説明を行うか、発達経過の時期をみて疾患の説明や開示を行う。

わが国の神経筋疾患の医療には、小児期から成人期への移行のプログラムが存在するわけではない。海外においても、移行プログラムやカウンセリングの必要性が報告されてきている^{1,2,3)}。本稿では、遺伝カウンセリングの立場から、神経筋疾患をもつ小児の思春期の問題を考察し、遺伝子診断および遺伝カウンセリングを通して、遺伝医療が介入することによる小児科から内科、在宅医療など成人医療への円滑な移行について考察する。

神経筋疾患をもつ小児の運動機能の進展課程

神経筋疾患として、Duchenne型筋ジストロフィー (Duchenne muscular dystrophy; DMD) と脊髄性筋萎縮症 (spinal muscular atrophy;

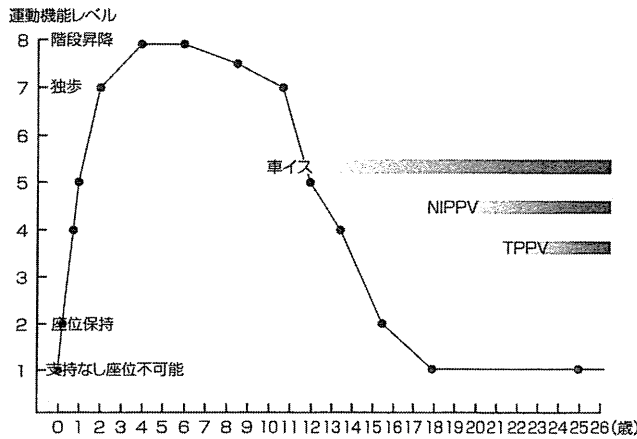
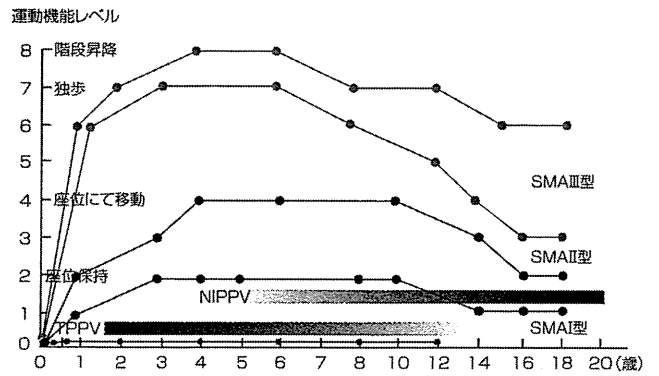


図1 神経筋疾患の運動機能の経過
A: Duchenne型筋ジストロフィー, B: 脊髄性筋萎縮症

SMA) をあげる。図1に示すように、DMDでは、10歳前後から歩行不可能となり車椅子使用の生活となる。17～18歳頃から非侵襲的陽圧人工換気 (noninvasive positive pressure ventilation; NIPPV) を、20歳を過ぎると気管切開陽圧人工換気 (tracheostomy positive pressure ventilation; TPPV) を受ける可能性が出てくる (図1A)。SMAでは、III型において、小学校中学年以降に車椅子使用の生活となる場合が多い。II型においては、幼児期から夜間のみNIPPVを使う患児もいるが、思春期頃からNIPPV導入の場合も多い (図1B)。このように、神経筋疾患においては、思春期の身長が伸びる時期に体幹・四肢が伸長し、筋力低下の急速な進行、脊柱変形、歩行機能の喪失、呼吸機能の低下を認める。

思春期における精神的な成長と問題点

東京女子医科大学附属遺伝子医療センターに神経筋疾患にて通院の10歳以上の患者がいる110例の家庭を対象に、質問紙を郵送してアンケート調査を行った。有効回答数は72通 (回答率65.5%) であった。そのなかで「精神的な成長」について41例 (57%) が「あり」と、30例 (42%) が「なし」と回答した。「あり」と回答した内容は、「思いやり」22例



(38%), 「友人との関係」17例 (29%) であった。具体的には、「周囲の様子を見ながら考えて行動ができるようになった」「人の気持ちがわかるようになった」「客観的な視点から物事をとらえることができる」「感情のコントロールができるようになり穏やかになった」などである。

一方、思春期は、アイデンティティの確立のプロセスとしての葛藤や悩みが生じ、劣等感や無力感を感じる時期である。神経筋疾患をもつ子どもたちにとっても、思春期前後に、「自分の病気は何なのか?」「歩けなくなり、動けなくなったらどうなるのか?」「自分は死んでしまうのか?」という不安や疑問を抱く。親に不安を表明する、親や兄弟に八つ当たりする、親にも言えず一人で悩む、インターネットで検索し、より不安を増強させる、身体・精神症状を引き起こす場合などがある。また、運動機能障害の進展に伴い、思春期になるとむしろ親からのケア・介助を受けることが必須となる。そのため、親との心理的な距離を保ちにくくなる場合も多い。

神経筋疾患をもつ人のライフステージと医療—小児科からの移行における遺伝医療の介入

神経筋疾患において、幼児期から学童期

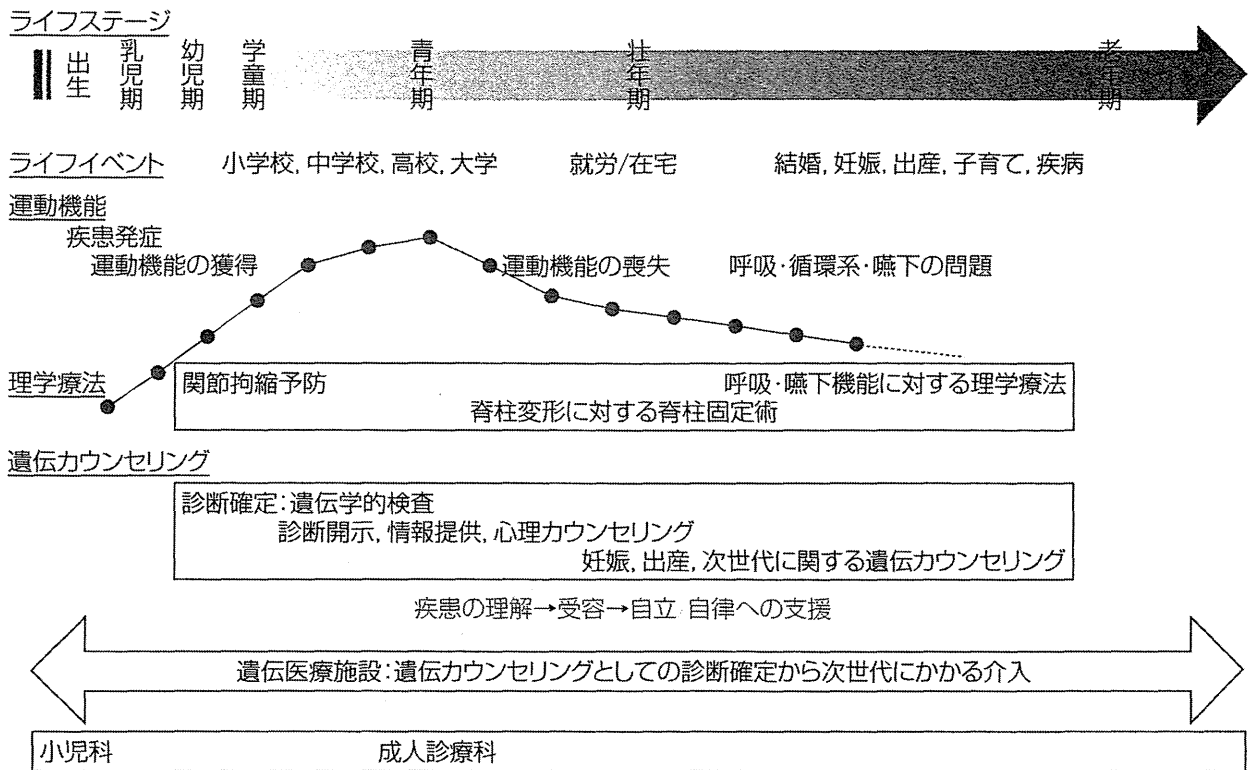


図2 神経筋疾患を有する人のライフステージと医療

は、発達と共に運動機能獲得の時期である。そして、思春期以降、身体的な急激な成長の時期に運動機能喪失に転じていく。このような自然経過のなかで、運動機能障害に対して、さらに呼吸・嚥下機能障害に対して理学療法が、脊柱変形に対しては脊柱固定術などの手術療法が必要である(図2)。神経筋疾患においては、運動発達遅滞により両親が気づき小児科を受診して、乳幼児期において遺伝子検査によって確定診断がなされることが一般的となった。本人が疾患を自覚しない頃から、理学療法が開始されている。しかし、学童期になると運動機能の喪失について、理学療法の必要性について、場合によっては脊柱固定術の必要性について、本人への説明と理解が必要となる。したがって、小学校入学以降から患児の疑問に答える形で、また両親から患児への診断開示に関する相談に対応する形で、遺伝カウンセリングとしての介入は、患児本人の疾患の理解と受容において大きな意義がある。遺伝カウンセリングにおいて

は、本人が疾患を理解するために、疾患の発症メカニズムのわかりやすい説明と、遺伝子や遺伝の知識の解説を行う。また、青年期となった患者がパートナーとともに、妊娠、出産、子育てを考えて、遺伝医療施設に遺伝カウンセリングを受ける目的で受診するケースも増えている。患者本人と配偶者に情報を提供すること、生活と医療におけるサポート体制を整えることなども、遺伝カウンセリングにおける重要な役割である。遺伝カウンセリングとは、「疾患の遺伝学的関与について、その医学的影響、心理学的影響および家族への影響を人々が理解し、それに適応していくことを助けるプロセス」である(日本医学会「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン、2011年2月」より)⁴⁾。すなわち、遺伝医療施設には、神経筋疾患の当事者における疾患の理解→受容→自立/自律の過程の支援という役割がある。

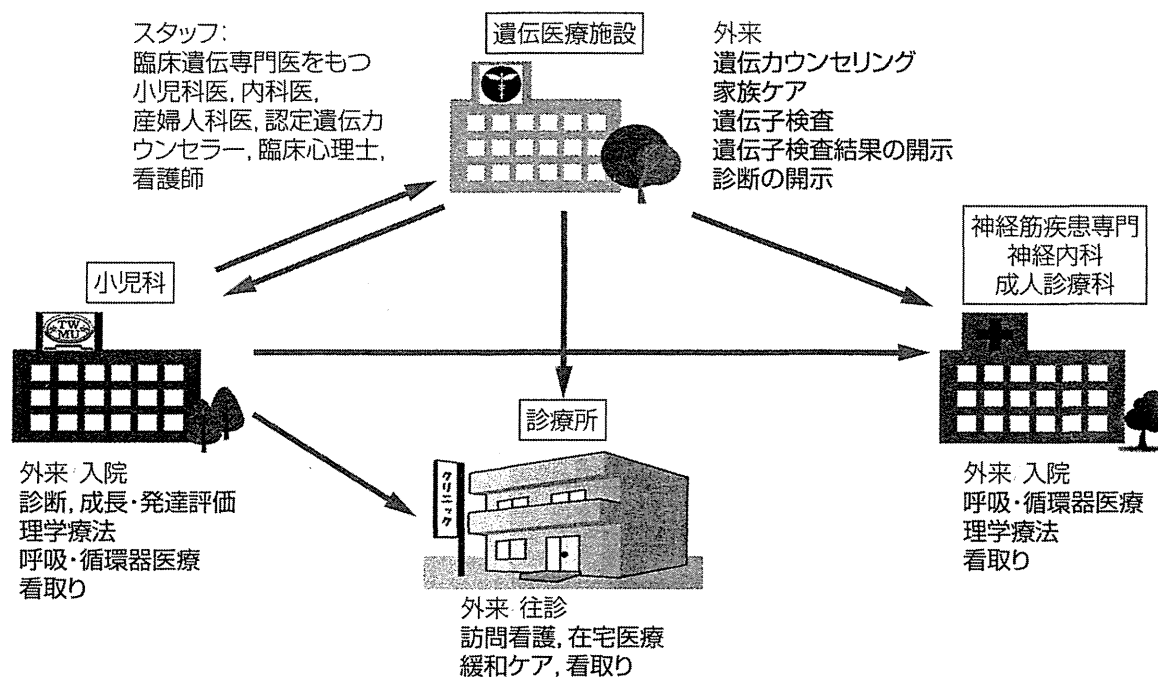


図3 神経筋疾患における移行医療

神経筋疾患における移行医療

図3に神経筋疾患における移行医療の具体的なパターンを示す。小児科では、疾患初期から成長・発達の評価を行うとともに、経過を診療し、必要に応じて理学療法、呼吸・循環器医療も実施する。そのなかで、疾患の重篤性や合併症により患児の最期を看取することもありうる。神経筋疾患を有する患者において、小児科から神経内科や訪問看護を実施している診療所などの成人診療科への移行は、自身が疾患を受容して今後の身体的な状況に

自ら対処していく心構えをもつという意味もある。

遺伝医療施設では、複数の臨床遺伝専門職（臨床遺伝専門医、認定遺伝カウンセラー、臨床心理士、看護師など）により、遺伝カウンセリング、家族ケア、心理カウンセリングなどの診療を行っている。小児科から成人診療科へのスムーズな移行において、これらの遺伝医療施設が、遺伝カウンセリングを通して、本人への診断の告知と、医療的・社会的・心理的サポート等の介入を行うことは意義があると考えられる。

- 文献 1) Hallum A: Disability and the transition to adulthood: Issues for the disabled child, the family, and the pediatrician. *Current Problems in Pediatrics* 25:12-50, 1995
- 2) Colver AF, et al.: Study protocol: Longitudinal study of the transition of young people with complex health needs from child to adult health services. *BMC Public Health* 13:675, 2013
- 3) Sawicki G, et al.: Receipt of health care transition counseling in the national survey of adult transition and health. *Pediatrics* 128:e521-e529, 2011
- 4) 日本医学会: 医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン, 2011年2月, 2011

著者連絡先 (〒162-0054) 東京都新宿区河田町10-22
東京女子医科大学附属遺伝子医療センター 斎藤加代子

III 変性疾患

運動ニューロン疾患

脊髄性筋萎縮症

5番染色体性劣性遺伝性脊髄性筋萎縮症

脊髄性筋萎縮症 0 型

Spinal muscular atrophy type 0

Key words : フロッピーインファント, *SMN2* 遺伝子, SMN, MLPA

齋藤加代子^{1,2}
久保祐二²

1. 概念, 定義

脊髄性筋萎縮症(SMA)は脊髄の前角細胞の変性による筋萎縮と進行性筋力低下を特徴とする下位運動ニューロン病である。SMAの臨床型は幅広く, 発症年齢, 臨床経過に基づき, I型, II型, III型, IV型に分類され, その臨床像は重症例から軽症例までの連続性である(表1)¹⁾。生後6カ月未満の発症をI型としているが, SMA I型の多くは出生時には未発症で, 出生時の仮死を示すことはまれである。出生前からの発症で, 微弱な胎動を示し, 生下時に仮死と重度の筋力低下を示す重症型^{2,3)}は, 脊髄性筋萎縮症0型と提唱されている⁴⁾。

2. 病 因

SMAの原因遺伝子は, 第5染色体長腕5q13.1に存在する*SMN1*(survival motor neuron 1)遺伝子として同定された。向反性に重複した配列の*SMN2*遺伝子からはexon 7のスプライシングにより機能するSMNタンパク質をわずかしか合成できない。この*SMN2*遺伝子のコピー数により, SMAの臨床的重症度が決まる。0型と報告された症例は, *SMN2*が対照より低い²⁾。著者らが報告した0型の例³⁾のコピー数をmultiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)法で検討したところ, 図1のように, *SMN2*のコピー数は2コピーであるが欠失領域の広さが広く, 0型の重症度は*SMN2*のコピー数や欠失領域の広さにより生じると考えられる。

表1 SMAの臨床型分類

型	病 名	発 症	最高到達運動機能	寿 命
I	Werdnig-Hoffmann 病 急性乳児型 SMA	0-6 カ月	never sits	<2 歳
II	Dubowitz 病 慢性小児型 SMA	7-18 カ月	never stands	>10 歳 (>90%)
III	Kugelberg-Welander 病 若年型 SMA	3a: 発症<3 歳 3b: 発症>3 歳	stands & walks alone	成人
IV	成人型 SMA	発症>20 歳	works during adult years	成人

^{1,2}Kayoko Saito, ²Yuji Kubo: ¹Institute of Advanced Biomedical Engineering and Science, Tokyo Women's Medical University 東京女子医科大学大学院先端生命医科学系専攻 遺伝子医学分野 ²Institute of Medical Genetics, Tokyo Women's Medical University 東京女子医科大学附属遺伝子医療センター

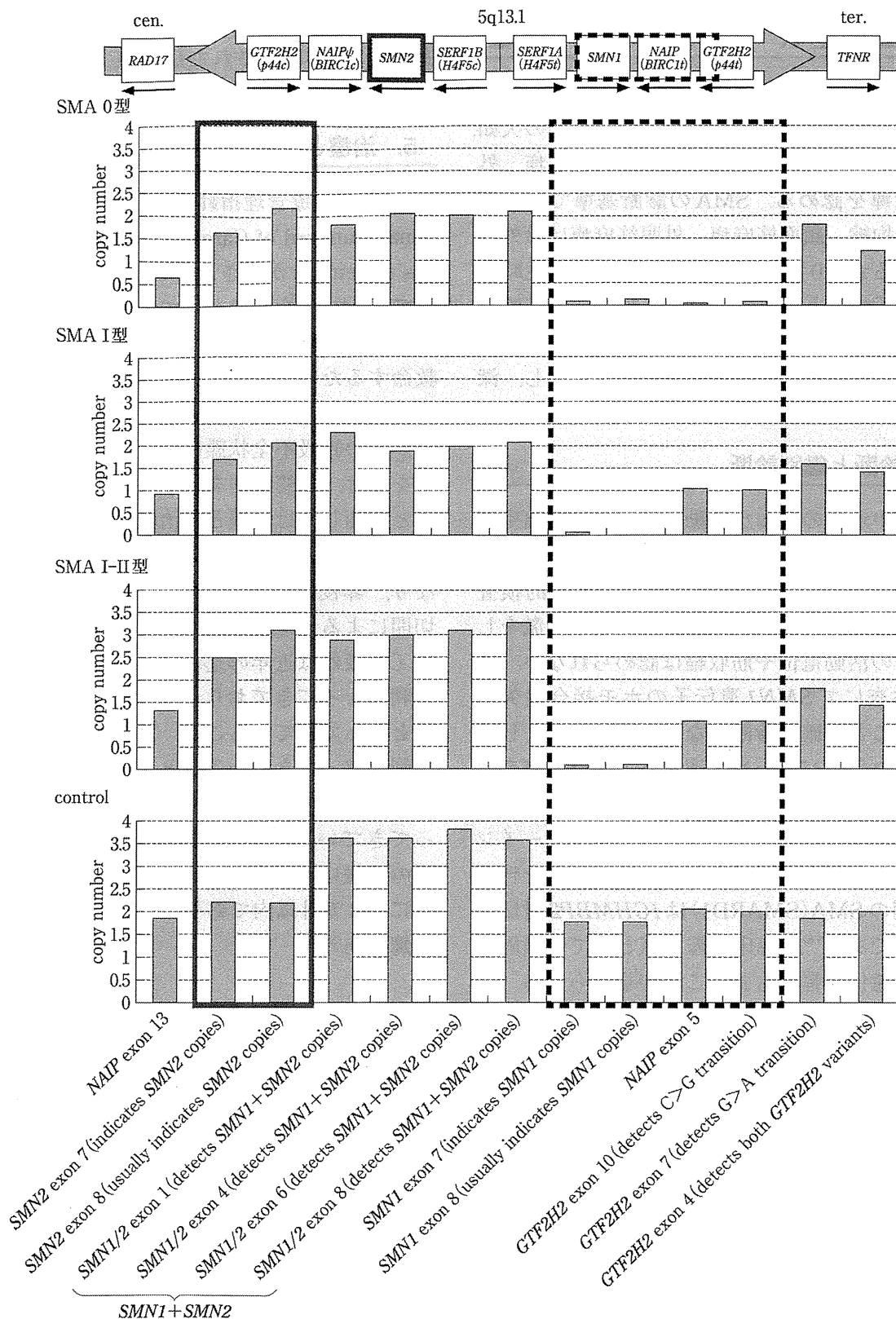


図1 SMAにおけるMLPA法によるコピー数解析

太い点線の枠は *SMN1* 遺伝子を含む領域, 太い実線の枠は *SMN2* 遺伝子を示す。網かけはコピー数の正常範囲を示す。SMA 0型の症例では *SMN2* 遺伝子のコピー数は2コピーであり, *SMN1* 遺伝子を含む広い領域の欠失を認める。SMA I型の症例では *SMN2* 遺伝子のコピー数は2コピーであり, *SMN1* 遺伝子を含む欠失領域が0型より狭い。SMA I-II型の症例では, *SMN1* 遺伝子を含む欠失領域はSMA I型の症例と同様であったが, *SMN2* 遺伝子のコピー数は3コピーであった。
control は正常対照。

3. 臨床症状

胎動が弱く、羊水過多を示し、生下時からの著明な筋緊張低下、呼吸不全、自発運動の欠如、嚥下困難、多発性の関節拘縮、顔面筋麻痺、外眼筋麻痺を認める。SMAの診断基準では多発性関節拘縮、顔面筋麻痺、外眼筋麻痺は除外基準であるが、0型ではこれらを示す。出生時に仮死を示すことが多く、蘇生、挿管、人工呼吸管理なしでは生後早期に死亡する。診察上、著明なフロッピーインファントの所見を呈し、深部腱反射は陰性である。

4. 診断と鑑別診断

妊娠中からの微弱な胎動、羊水過多、出生時からの著明なフロッピーインファント、上記臨床症状から本症を考える。電気生理学的検査(筋電図、運動神経伝導速度)では電気刺激をしても筋の活動電位や筋収縮は認められない。遺伝子検査にてSMN1遺伝子のホモ接合性欠失を示すことで確定診断となる。鑑別診断として、ネマリンミオパチーやX連鎖性ミオチューブラーミオパチーのような先天性ミオパチー、先天性筋強直性ジストロフィーなどのフロッピーインファント症候群が挙げられる。呼吸窮迫を伴う乳児期のSMA(SMARD1)はIGHMBP2遺伝子が病因である^{5,6)}。臨床的鑑別点としては横隔膜麻痺と遠位筋罹患も強いことが挙げられる。先

天性軸索ニューロパチー⁷⁾や先天性多発性関節拘縮症⁸⁾と診断をされた症例が、SMN1遺伝子欠失を示したとの報告もある。

5. 治療と予後

SMAの治療管理指針については既にInternational Standard of Care Committeeからconsensus statementが出されている⁹⁾が、nonsitterとしてSMA I型を対象としている。SMA 0型の患児の最大の問題は、呼吸不全と嚥下障害である。救命するためには、気管内挿管と人工呼吸管理が必要となる。出生直後、または出生後まもなくからの呼吸不全状態において積極的に医療行為を受け、気管切開を行い人工呼吸器をつけることに関しては両親と主治医が悩み十分に話し合うべき深刻な問題である。SMA II型とは異なり、非侵襲的陽圧換気(NPPV)の開始は気管切開による人工呼吸開始への継続を意味する。人工呼吸器は近年の進歩によってコンパクトで便利になってきており、在宅における管理が可能となってきていること、訪問看護などの医療体制が整ってきていること、分子レベルにおける病因病態の解明により、治療の可能性が拡がってきていることなどは明るい情報である。0型の予後は、報告例によると人工呼吸器を用いずには3カ月以内であり、SMAの中では極めて重篤である。

■ 文 献

- 1) Dubowitz V: Chaos in the classification of SMA: a possible resolution. *Neuromuscular Disord* 5: 3-5, 1995.
- 2) MacLeod MJ, et al: Prenatal onset spinal muscular atrophy. *Eur J Paediatr Neurol* 3: 65-72, 1999.
- 3) 岡本健太郎ほか: 脊髄性筋萎縮症0型の1例. *脳と発達* 44: 387-391, 2012.
- 4) Dubowitz V: Very severe spinal muscular atrophy(SMA type 0): an expanding clinical phenotype. *Eur J Paediatr Neurol* 3: 49-51, 1999.
- 5) Grohmann K, et al: Mutations in the gene encoding immunoglobulin mu-binding protein 2 cause spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1. *Nat Genet* 29: 75-77, 2001.
- 6) Grohmann K, et al: Infantile spinal muscular atrophy with respiratory distress type 1(SMARD1). *Ann Neurol* 54: 719-724, 2003.
- 7) Korinthenberg R, et al: Congenital axonal neuropathy caused by deletions in the spinal muscular atrophy region. *Ann Neurol* 42: 364-368, 1997.
- 8) Bingham PM, et al: Arthrogryposis due to infantile neuronal degeneration associated with deletion of the SMN^f gene. *Neurology* 49: 848-851, 1997.
- 9) Wang CH, et al: Consensus statement for standard of care in spinal muscular atrophy. *J Child Neurol* 22: 1027-1049, 2007.

LETTER TO THE EDITOR

INF2 mutations in Charcot-Marie-Tooth disease complicated with focal segmental glomerulosclerosis

Dear Editor,

Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease is the most common inherited peripheral neuropathy affecting motor and sensory nerves of the peripheral nervous system. The disease is genetically highly heterogeneous and is classified into demyelinating, intermediate, and axonal forms based on nerve conduction studies. The clinical phenotype of CMT is also variable, and a group of patients has been reported in association with renal diseases especially focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) (Paul *et al.*, 1990). Recently, inverted formin 2 (INF2) mutation was identified as a major cause of CMT associated with FSGS (Boyer *et al.*, 2011). We encountered three patients with CMT associated with FSGS and attempted to find the cause.

Case 1 showed no abnormality at birth or during development. She had a similarly affected younger brother (case 2). Her non-consanguineous parents were healthy and had no symptoms of renal or neuromuscular diseases. She was initially found to have proteinuria at 11 years old at an annual school health check-up. She received steroid therapy, but did not respond to it. She was diagnosed with FSGS based on the findings of renal biopsy and was treated with immunosuppressant therapy including cyclosporine administration. She did not respond to the therapy, and received peritoneal dialysis from 14 years. At that time, she complained of gait disturbance and showed distal muscle weakness and atrophy of the upper and lower extremities. On examination at 15 years, she showed steppage gait, pes cavus, distal muscle weakness and atrophy of the upper and lower extremities, and decreased deep tendon reflexes of the lower extremities, but had no sensory disturbances. Electrophysiological studies showed decreased motor nerve conduction velocities (MCV) (20 and 19 m/s) in the bilateral median nerves.

Case 2 was a younger brother of case 1. He showed proteinuria from 7 years and was further examined with his sister (case 1). He showed 1 g of urinary protein excretion in a day, serum protein of 6.8 g/dl, serum albumin of 4.0 g/dl, and serum cholesterol of 249 mg/dl. Against the steroid therapy, he showed increased urinary protein excretion, decreased serum protein and albumin, and increased serum cholesterol. Renal biopsy at 11 years showed the pathological change as FSGS. He was treated with angiotensin-converting enzyme inhibitor. At age 12, he showed steppage gait, distal muscle weakness and atrophy of the upper and lower extremities, decreased deep tendon reflexes of the lower extremities, and no sensory disturbances. Electrophysiological studies showed mildly decreased MCV (30 m/s) in the right median nerve.

Case 3 had no abnormality at birth or during development. His father died of malignant lymphoma at 62 years. But his parents and two siblings did not have any symptoms of renal and neuromuscular diseases. He was noted to have pes cavus at 10 years, and showed steppage gait and distal muscle weakness of the lower extremities at 11 years. He received surgery for pes cavus, and physical and orthopedic supports at 12 years. However, he showed gradual deterioration of the distal muscle weakness and atrophy of the upper and lower extremities. He was also noted to have proteinuria at 14 years at a school health check-up. He showed a deteriorated renal function, and received hemodialysis from 17 years and continuous ambulatory peritoneal dialysis from 26 years. He also had Schwannomas in his neck, spine, pelvic cavity, and left lower extremity, and received surgical resection of cervical one at 29 years. At 36 years, he showed steppage gait and impaired hand motor skills. He had prominent distal muscle weakness and atrophy of the upper and lower extremities, wrist drop, claw hands, glove and stocking sensory disturbance, and no deep tendon reflexes. He had a subcutaneous nodule on his neck, but with no café au lait spots on the skin. No motor or sensory action potentials were detected on nerve conduction velocity studies.

Address correspondence to: Kiyoshi Hayasaka, MD, PhD, Department of Pediatrics, Yamagata University School of Medicine, 2-2-2 Iida-nishi, Yamagata 990-9585, Japan. Tel: +(81)23-628-5329; Fax: +(81)23-628-5332; E-mail: hayasaka@med.id.yamagata-u.ac.jp

To identify the common mechanism underlying CMT and FSGS, we analyzed the major causing genes of CMT in three patients, but they were negative for mutations of *PMP22*, *MPZ*, *LITAF*, *NEFL*, *GJB1*, *GDAP1*, *EGR2*, *MFN2*, *RAB7*, *GARS*, *HSP27*, *HSP22*, *GJB1*, and *NDRG1* using methods described previously (Abe *et al.*, 2011). Finally, we analyzed *INF2* and detected the heterozygous c.206T>C mutation leading to p.L69P in cases 1 and 2, and the heterozygous c.323T>A mutation leading to p.V108D in case 3. Two novel mutations located in exon 2 encoding the diaphanous inhibitory domain (DID) were not detected in 100 healthy control individuals. The c.206T>C (p.L69P) mutation was not detected in the parents of cases 1 and 2. Paternity by genotyping was consistent with the given family structure, suggesting that one of the parents had germline mosaicism.

INF2 is a member of the formin family and has a domain structure similar to the diaphanous formins (Drfs): a DID, formin homology 1 and 2 domains (FH1 and FH2), and a diaphanous autoregulatory domain (DAD) (Chesarone *et al.*, 2010). Brown *et al.* (2010) found *INF2* mutation in patients with autosomal dominant isolated FSGS, and Boyer *et al.* (2011) detected its mutation in 75% of patients with FSGS associated with CMT. *INF2* has been demonstrated to be strongly expressed in Schwann cell cytoplasm and podocytes. All mutations detected in isolated FSGS and in FSGS associated with CMT are located in the DID domain. However, each mutation is distributed in different parts of the DID, and the mutations detected in all cases including our three cases with FSGS and CMT are located in the inner face of the central core of the DID, suggesting that they could severely affect DID function and disrupt the interaction of *INF2* with myelin-specific proteins leading to an association of an early-onset renal insufficiency with intermediate type of CMT (Boyer *et al.*, 2011).

It is interesting to note that case 3 was further complicated with schwannomatosis. Formin family proteins are key regulators of actin and microtubule cytoskeletal dynamics during cell division and migration, especially during cytokinesis. It was also reported that formin (mDia) family proteins might mediate the disease progression role of the adenomatous polyposis coli familial colon cancer tumor suppressor gene (Wen *et al.*, 2004). We analyzed *INF2* and or *SMARCB1* in case 3, but we could not find any mutation leading to schwannomatosis (DeWard *et al.*, 2010; Rodriguez *et al.*, 2012). Schwannomatosis should be remarked as a complication in further case carrying *INF2* mutation. The biological complexity of

INF2 is likely to be associated with a variety of symptoms in patients carrying the mutation.

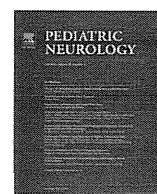
Sincerely,

Kentaro Toyota¹, Daisuke Ogino¹, Makiko Hayashi¹,
Masashi Taki², Kayoko Saito³, Akiko Abe¹, Taeko
Hashimoto¹, Kazuo Umetsu⁴, Hiroyasu Tsukaguchi⁵,
and Kiyoshi Hayasaka¹

¹Department of Pediatrics, Yamagata University School of Medicine, Yamagata; ²Department of Pediatrics, Shigei Medical Research Hospital, Okayama; ³Institute of Medical Genetics, Tokyo Women's Medical University, Tokyo; ⁴Department of Forensic Medicine, Yamagata University School of Medicine, Yamagata; and ⁵2nd Department of Internal Medicine, Kansai Medical University, Osaka, Japan

References

- Abe A, Numakura C, Kijima K, Hayashi M, Hashimoto T, Hayasaka K (2011). Molecular diagnosis and clinical onset of Charcot-Marie-Tooth disease in Japan. *J Hum Genet* 56:364–368.
- Boyer O, Nevo F, Plaisier E, Funalot B, Gribouval O, Benoit G, Cong EH, Arrondel C, Tête MJ, Montjean R, Richard L, Karras A, Pouteil-Noble C, Balafrej L, Bonnardeaux A, Canaud G, Charasse C, Dantal J, Deschenes G, Deteix P, Dubourg O, Petiot P, Pouthier D, Leguern E, Guiochon-Mantel A, Broutin I, Gubler MC, Saunier S, Ronco P, Vallat JM, Alonso MA, Antignac C, Mollet G (2011). *INF2* mutations in Charcot-Marie-Tooth disease with glomerulopathy. *N Engl J Med* 365:2377–2388.
- Brown EJ, Schlöndorff JS, Becker DJ, Tsukaguchi H, Tonna SJ, Uscinski AL, Higgs HN, Henderson JM, Pollak MR (2010). Mutations in the formin gene *INF2* cause focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 42:72–76.
- Chesarone MA, DuPage AG, Goode BL (2010). Unleashing formins to remodel the actin and microtubule cytoskeletons. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11:62–74.
- DeWard AD, Eisenmann KM, Matheson SF, Alberts AS (2010). The role of formins in human disease. *Biochim Biophys Acta* 1803:226–233.
- Paul MD, Fernandez D, Pryse-Phillips W, Gault MH (1990). Charcot-Marie-Tooth disease and nephropathy in a mother and daughter with a review of the literature. *Nephron* 54:80–85.
- Rodriguez FJ, Stratakis CA, Evans DG (2012). Genetic predisposition to peripheral nerve neoplasia: diagnostic criteria and pathogenesis of neurofibromatosis, Carney complex, and related syndromes. *Acta Neuropathol* 123:349–367.
- Wen Y, Eng CH, Schmoranzner J, Cabrera-Poch N, Morris EJ, Chen M, Wallar BJ, Alberts AS, Gundersen GG (2004). EB1 and APC bind to mDia to stabilize microtubules downstream of Rho and promote cell migration. *Nat Cell Biol* 6:820–830.



Original Article

Corticosteroid Therapy for Duchenne Muscular Dystrophy: Improvement of Psychomotor Function

Yuko Sato PhD^{a,b}, Akemi Yamauchi MD, PhD^b, Mari Urano MA^b, Eri Kondo MD^b,
Kayoko Saito MD, PhD^{a,b,*}

^a Affiliated Field of Genetic Medicine, Division of Biomedical Engineering and Science, Graduate Course of Medicine, Graduate School of Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan

^b Institute of Medical Genetics, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan

ABSTRACT

BACKGROUND: Of the numerous clinical trials for Duchenne muscular dystrophy, only the corticosteroid prednisolone has shown potential for temporal improvement in motor ability. In this study, the effects of prednisolone on intellectual ability are examined in 29 cases of Duchenne muscular dystrophy because little information has been reported. And also, motor functions and cardiac functions were evaluated. **METHODS:** The treated group was administered prednisolone (0.75 mg/kg) orally on alternate days and the compared with the untreated control group. Gene mutations were investigated. The patients were examined for intelligence quotient adequate for age, brain natriuretic peptide, creatine kinase, and manual muscle testing before treatment and after the period 6 months to 2 years. **RESULTS:** Intelligence quotient scores of the treated increased to 6.5 ± 11.9 (mean \pm standard deviation) were compared with the controls 2.1 ± 4.9 ($P = 0.009$). Intelligence quotient scores of the patients with nonsense point mutations improved significantly (21.0 ± 7.9) more than those with deletion or duplication (1.9 ± 9.0 ; $P = 0.015$). Motor function, such as time to stand up, of those treated improved significantly and brain natriuretic peptide level was reduced to a normal level after treatment in 15 patients (73%). **CONCLUSIONS:** Our results demonstrate the effectiveness of prednisolone in improving intellectual impairment as well as in preserving motor function and brain natriuretic peptide levels. We presume that prednisolone has a read-through effect on the stop codons in the central nervous systems of Duchenne muscular dystrophy because intelligence quotient of point mutation case was improved significantly.

Keywords: Duchenne muscular dystrophy, prednisolone, cognition, motor function

Pediatr Neurol 2014; 50: 31-37

© 2014 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is the most common type of childhood muscular dystrophy. It is characterized by progressive muscle weakness and deterioration of skeletal and cardiac muscle function. DMD is an X-linked recessive disorder, caused by mutations in the *DMD* gene in Xp21.1, leading to complete absence of the cytoskeletal

protein dystrophin in both skeletal and cardiac muscle cells.¹ Several treatments involving drugs with read-through effects have attracted major interest, such as the amino glycoside antibiotic gentamicin^{2,3} and PTC124⁴ as well as antisense morpholinos that cause exon skipping.⁵ These treatments are, however, being administered only as clinical research regimens at present and have not yet reached the stage of extensive clinical application. The only widely used clinically effective treatment for DMD patients is oral administration of prednisolone (PSL). This treatment was highly evaluated, as evidence level 1, by the US Neurology Academy and at the US Pediatric Neurology Meeting in 2005.⁶

PSL is believed to temporarily slow motor function decline and disease progression. In our daily examination of

Article History:

Received March 20, 2013; Accepted in final form July 31, 2013

* Communications should be addressed to: Dr. Saito; Director and Professor, Institute of Medical Genetics; Tokyo Women's Medical University; 10-22 kawada-cho; shinjyuku-ku; Tokyo 162-0054, Japan.

E-mail address: saito@img.twmu.ac.jp

TABLE.
Comparison of two groups before PSL

	Treated Group (n = 20)*	Control Group (n = 9)*	t Test (P < 0.05)
Age at treatment onset (yr)	5.9 ± 0.2	6.1 ± 0.6	P = 0.7099
Time required to stand before PSL (seconds)	3.9 ± 0.3	4.6 ± 4.8	P = 0.5711
Gluteus maximus muscle strength before PSL	3.4 ± 0.1	3.4 ± 0.2	P = 0.2250
Iliopsoas muscle strength before PSL	3.4 ± 0.1	3.5 ± 0.3	P = 0.0944
CK (IU/L) before PSL	15,492 ± 1662	14,414 ± 1091	P = 0.3317

Abbreviations:
 CK = Creatine kinase
 PSL = Prednisolone
 SE = Standard error
 * Mean ± SE.

patients, we recognized that PSL administration improves responsiveness, verbal rapport, and motor functions in DMD patients. Thus, we hypothesized that PSL also has an ameliorating effect on central nervous system dysfunctions, including intellectual impairments.

In this study, we measured intelligence quotients (IQs) to evaluate intellectual abilities before and from 6 months to 2 years after starting PSL administration. We used the Stanford-Binet Intelligence Test (5th edition), which is the standardized version of the Stanford-Binet method applied in Japan for evaluating preschool children and the Wechsler Intelligence Scale for Children, 3rd edition, which is used in school-age children.

For motor function, we also measured the time required to stand up and lower limb strength using manual muscle testing. We measured serum creatine kinase (CK) titers to assess the state of skeletal muscles.

Furthermore, because 50% of DMD patients develop heart failure resulting from left cardiac dysfunction,⁷ plasma brain natriuretic peptide (BNP) levels were also measured to evaluate cardiac muscle function. BNP served as a marker of cardiac function in the treated group. BNP is known to be an adequately sensitive marker for detection of stage 1 heart failure. Furthermore, Sakurai et al reported correlations between plasma BNP level and indices of cardiac function.⁸

Materials and Methods

Identification of genetic mutations

Mutations were investigated in all patients to detect deletion or duplication of genes by multiplex polymerase chain reaction or multiplex ligation-dependent probe amplification using a Holland P034/P035 DMD kit (FALCO Biosystems). In patients in whom neither method revealed any abnormalities, point mutation analyses employing complementary DNA direct sequencing were performed with messenger RNA extracted from peripheral blood lymphocytes or biopsied muscle tissues.

Clinical analyses before and after PSL administration

Twenty-nine DMD patients were divided into a treated group and a control group. The 21 patients in the treated group (mean age: 5.9 years) were outpatients between 1994 and 2010 at the Department of Pediatrics, or the Institute of Medical Genetics of Tokyo Women's Medical University. PSL (0.75 mg/kg) was orally administered on alternate days.^{9–11} The other eight patients, all with identified gene mutations, comprised the control group (mean age: 6.1 years). The other eight

patients had been followed at the Department of Pediatrics between 1980 and 1990 and had detailed medical records available (Table).

Investigation of IQ scores

IQ scores were examined before PSL administration and also 6 months to 2 years after starting PSL. IQ scores are numerical values that express the results of an intelligence test. A score of 80 or above is considered to be within normal range, whereas a score between 70 and 79 is borderline, 50 to 69 indicates mild intellectual impairment, 35 to 49 indicates moderate intellectual impairment, and 35 or below is classified as severe intellectual impairment.¹² Subjects were divided into three groups based on the degree of IQ score changes, namely, an increase group, in which IQ scores increased by 10 or more points; an unchanged group, in which IQ score changes were within 0 to 10 points; and a decrease group, in which IQ scores dropped by 10 or more points after PSL administration.

The IQ testing method was selected according to the age and developmental stage of each subject. The IQ testing methods differ before and after school age. In preschool children, IQ might be measured by WPSSI (Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence). In Japan, however, the WPSSI-IV is not as yet a standard test, whereas the WPSSI-III was in use for 30 years, although it would not now be considered appropriate. Therefore, a standardized version of the Stanford-Binet method has been adopted for preschool children. For school-age children, IQ should be measured employing the Wechsler Intelligence Scale for Children, 3rd edition, which is used to evaluate and measure both performance and verbal IQ. We adopted the Japanese version of Wechsler Intelligence Scale for Children, 3rd edition, for school-age children in this study.

Measurement of motor functions and CK and BNP levels before and after PSL administration

The effects of PSL were observed by measuring motor functions, including the time required to stand up and muscle strength by manual muscle testing, to compare the treated and control groups. Furthermore, because 50% of DMD patients develop heart failure resulting from left cardiac dysfunction, BNP levels were measured in the treated group to allow comparison of cardiac functions among genetic mutation types.

Time required to stand up. The time required to stand up from a supine to a standing position was measured in 18 patients in the treated group and eight in the control group.

Muscle strength. Muscle strength was measured in 16 of the treated patients and in the eight control group patients who had periodically undergone manual muscle testing. Because DMD is characterized by proximal muscle weakness, the strength of the gluteus maximus and iliopsoas muscles were measured under conditions of both supine hip flexion and prone hip extension. The strength of the gluteus maximus and iliopsoas muscles were also investigated. All physical examinations, including the manual muscle testing, were conducted by the same doctor.

CK levels. Levels of CK, the skeletal muscle enzyme, were measured in 15 of the treated patients and in the eight control patients, with values of

200 IU/L or less being considered normal. CK titers were studied at regular visits to our institute. The activity levels on the day of measurement and the previous day were not taken into consideration.

BNP levels. BNP levels were measured in 15 of the 21 treated patients, with 18 pg/mL or less being considered normal. BNP is known to be an adequately sensitive marker to detect heart failure at stage 1, when clinical symptoms are not yet apparent. Sakurai et al (2003) reported the plasma BNP level to correlate with indices of cardiac function. No patients in the treated group were taking parasympathetic agents, adenosine receptor modulating drugs, or angiotensin-converting enzyme inhibitors, all of which can affect cardiac function. BNP levels and gene mutation types were compared.

This study was approved by the Ethics Committee of Tokyo Women's Medical University (no. 2116).

Results

Identification of genetic mutations

Of the 29 study participants undergoing genetic analysis, nonsense point mutations were identified in five (control group 0; treated group 5), exon deletions in 22 (control

group 8; treated group 14), and exon duplications in 2 (control group 0; treated group 2).

Clinical and biochemical analyses before and after PSL administration

Investigation of IQ scores

The IQ level had increased significantly in the treated group 6 months to 2 years after starting treatment, as compared with the control group. IQ scores of the treated group were thus increased by 6.5 ± 11.9 points (mean \pm SD) as compared with those of the controls (2.1 ± 4.9) ($P = 0.009$) (Fig 1A, B). Differences among the three genetic mutation types were also compared and the IQ scores of patients with nonsense point mutations were increased 21.0 ± 7.9 points, showing a greater improvement than those with deletion or duplication mutations (1.9 ± 9.0) ($P = 0.015$) (Fig 1C, D).

Measurements of motor functions and CK and BNP levels

Time required to stand up. The time required to stand up in the control group was 5.7 ± 1.3 seconds (mean \pm SD), showing a

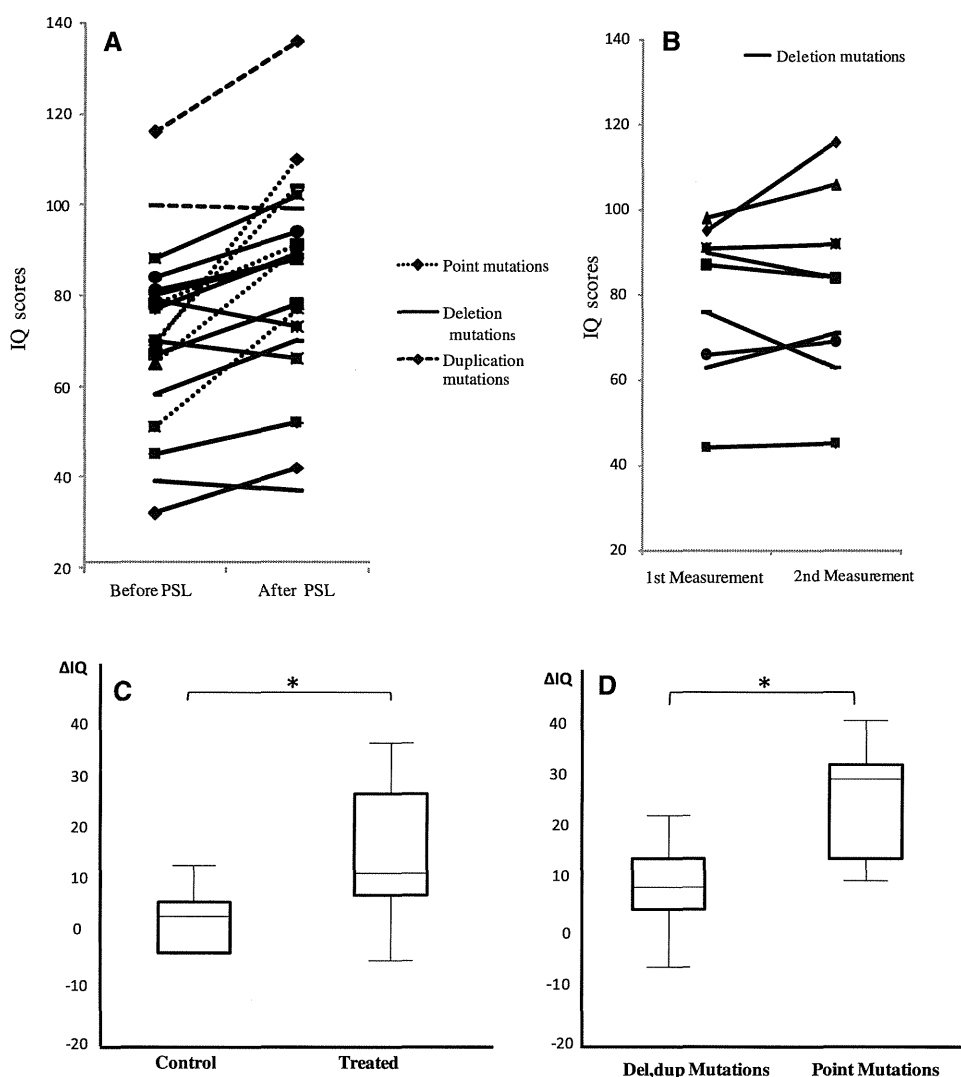


FIGURE 1.

Investigation of IQ scores after PSL. (A) IQ scores of treated group; (B) IQ score of control group; (C) Δ IQ scores compared between the above two groups ($P=0.009$); (D) Δ IQ scores compared between nonsense point mutation and a group of deletion + duplication ($P=0.0015$).

marked increase over time, whereas that of the treated group was 3.3 ± 0.2 seconds and was thus unchanged 6 months to 2 years after the start of PSL treatment ($P = 0.031$) (Fig 2A).

Muscle strength. The strengths of the gluteus maximus and iliopsoas muscles were investigated for 6 months to 2 years. Gluteus maximus muscle strength differed significantly between the two groups after 2 years. Iliopsoas muscle strength was at 3.5 ± 0.9 (mean \pm SD) in the treated group, whereas it decreased to 3.1 ± 0.2 in the control group ($P = 0.048$) (Fig 2B). However, the difference between the two groups did not reach statistical significance ($P = 0.222$).

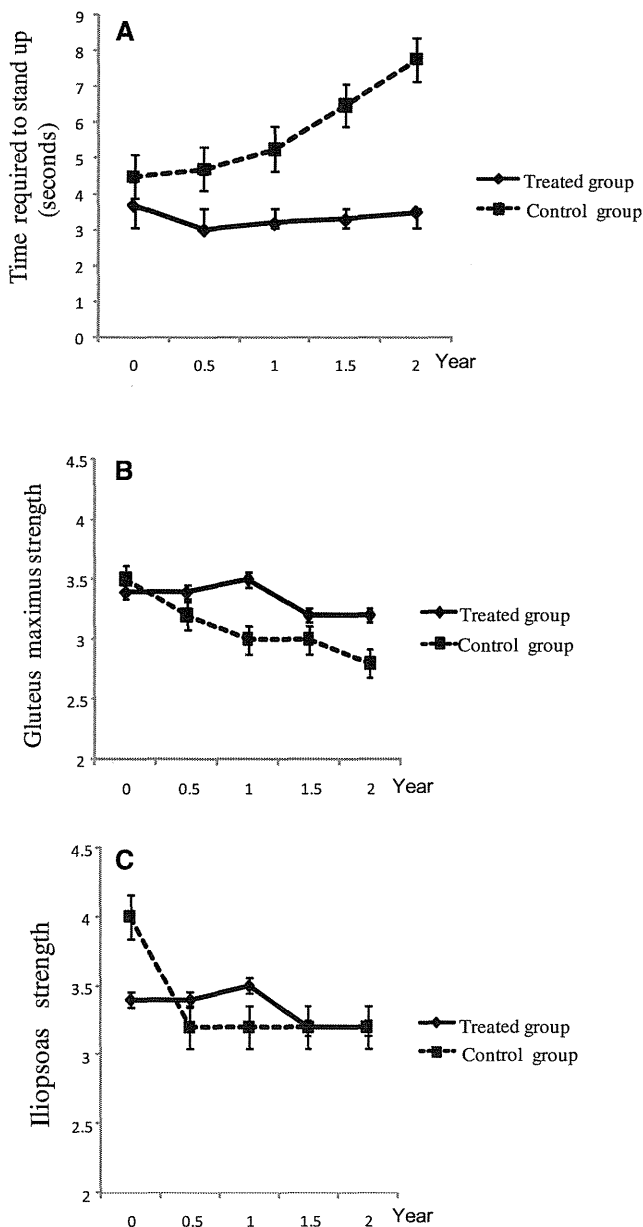


FIGURE 2.

Evaluation of the muscular power after PSL. (A) The times required to stand up between treated and control groups ($P=0.031$); (B) The strength of the Gluteus maximus muscle by MMT between 2 groups ($P=0.048$); (C) Iliopsoas muscle strength by MMT between two groups ($P=0.222$).

CK levels. The patients had high CK levels, which is common for pediatric DMD patients at the onset of treatment. However, these levels did not change significantly over the course of treatment and there was no significant difference between the two groups at the end of follow-up ($P = 0.505$) (data not shown).

BNP levels. After PSL administration, the BNP levels of 15 patients (73%) in the treated group were normal. Of those 15 patients, four had nonsense point mutations, nine had deletion mutations, and two had duplication mutations. BNP was significantly lower at 5.1 ± 4.0 (mean \pm SD) in patients with point mutations 1 year after the start of PSL administration than the level of 7.7 ± 5.5 in those with deletion and duplication type mutations ($P = 0.034$) (Fig 3).

Discussion

DMD patients are generally diagnosed at 2–3 years of age. There is a steady decline in motor function after age 6. By age 10, braces may be required for walking, and by age 12, patients are confined to a wheelchair. Most are bedridden by approximately age 15. A few individuals with DMD who live beyond their 30s require artificial ventilation because of diaphragm muscle failure. Intellectual abilities vary widely among DMD patients. Although some have normal intellectual abilities, others exhibit intellectual impairments. A few patients do not even attain meaningful words. Others also have developmental disabilities such as autistic spectrum disorders or attention deficit hyperactivity disorders. Many studies on the IQ scores of DMD patients have already been published.¹² The mean IQ score among these reports was reported as 82. Until the 1950s, the intellectual disability observed in some DMD patients was attributed to secondary effects of motor disability and muscle weakness, namely physical and social barriers in addition to the lack of educational opportunities.¹³ It was subsequently recognized that intellectual impairment is present before the appearance of the symptoms of muscle weakness and atrophy. Intellectual impairment was found to be nonprogressive and there were no correlations among IQ scores, age, and disease progression.^{14–16} There is, at present, no evidence supporting the concept that intellectual impairment in DMD patients is a secondary effect of muscle weakness. Intellectual impairment is now considered to be caused by genetically determined dysfunctions impacting the central nervous system.

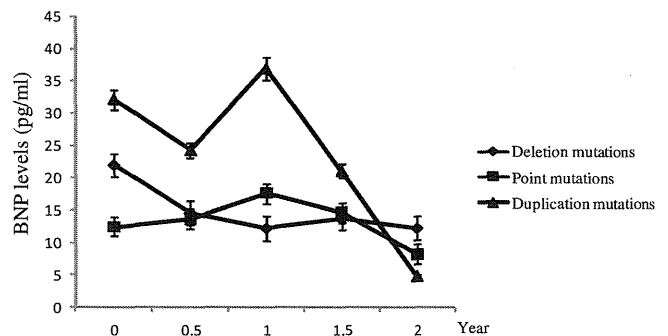


FIGURE 3.

Transition of BNP levels after PSL treatment among 3 gene mutation groups; the lowest in nonsense point mutation.

When PSL treatment for DMD patients was started, the daily dosage was high at 2 mg/kg/day. As a result, various adverse reactions were observed, such as cushingoid facial features, weight gain, and behavioral abnormalities. Thereafter, the establishment of appropriate doses was investigated by comparing side effects at PSL doses of 1.5, 0.75, and 0.3 mg/kg/day administered daily for 6 months by a consortium on muscular dystrophy.⁹ In the present study, the selected PSL dose was administered as an alternate-day medication regimen of 0.75 mg/kg/day.¹⁷ Converted into a daily dose, this would be within a daily medication range of 0.12–0.5 mg/kg/day, which is a commonly prescribed amount. Efficacy not inferior to that of a daily medication regimen is provided, with the major advantage of avoiding adverse reactions.

Evaluation of intellectual ability before and after PSL administration

Along with physical problems, mental problems have been recognized in association with DMD. It has been estimated that approximately one third of DMD patients suffer from mental retardation or other forms of intellectual impairment. The IQs of DMD patients are reportedly in the range of 68–91, with the average being in the mid-80s. Characteristically, verbal IQ has been somewhat better than performance IQ.¹⁸

Intellectual impairment does not appear to progress as motor function deteriorates.^{19,20} In this study, the mean IQ score of our 29 patients was 85, which is consistent with previous reports. Also, IQ scores generally remain constant. Although slight fluctuations may occur because of environmental factors, changes exceeding 10 points are considered rare.²¹ This was also supported by the observations of our control group in which IQ scores did not change. However, when we started PSL treatment, improvements in verbal rapport and reactions were clearly recognized clinically in several patients, leading us to hypothesize that PSL had exerted a beneficial influence on intelligence.

In this study, the maximum IQ score increase was 23 points in a treated patient, which is an extraordinary improvement (Fig 1A). IQ scores were increased as compared with those of the control group ($P = 0.009$) (Fig 1C).

No previous studies, to our knowledge, have examined the effects of PSL on intellectual ability in pediatric patients. For adult patients, effects of PSL on the central nervous system are suggested to represent modulations of neurological symptoms such as mood disorders including depression and mania, psychiatric disorders such as delirium and hallucinations, and cognitive or memory impairments. There are several possible mechanisms by which PSL might exert such effects on neurological symptoms. One possibility is the strong affinity of PSL for receptors, particularly those of the limbic system including the hippocampus, all because PSL may affect the activities of regional neurotransmitters. Other possible mechanisms include involvement of central synapses in prolonged neurotransmission latency periods associated with changes in blood-brain barrier permeability and impairments of cerebral metabolic enzymes. Any or all of these factors might be mechanisms underlying neurological symptom onset.²² However, none of these neurological symptoms

was found in our DMD patients. Instead, improvements of verbal rapport, reactions, and IQ scores were observed. Thus, we hypothesized that PSL acts differentially on the central nervous system in DMD patients.

Symptoms of DMD are accounted for by lack of dystrophin protein. Dystrophin is mostly expressed in muscles, with the next highest level of expression being in the brain.²³ Intracranial dystrophin is known as cerebral dystrophin and exists in the postsynaptic membrane, which is a neurotransmitter circuit.²⁴

If PSL accelerates muscular dystrophin production, cerebral dystrophin would also be increased, thereby ameliorating intellectual impairment. Cerebral dystrophin comprises various isoforms produced from one gene, and the isoforms exist in the postsynaptic membrane, which is a neurotransmitter circuit. Because various isoforms of dystrophin exist in neurons in the central nervous system, it is possible that mutation of the DMD gene would result in dysfunction of neurons, thereby influencing not only intellectual levels but also determining specific neuropsychological profiles. However, there is still a great deal of uncertainty regarding the roles played by these various isoforms.²⁵

An experiment with mdx mice demonstrated that cerebral dystrophin was extensively distributed throughout the hippocampus, which is chiefly related to memory, the cerebellum, and the olfactory bulbs, governing sensation and motor function, and the thalamus, which has important roles in activity and consciousness levels.²⁶

It has also been reported that abnormalities of cerebral dystrophin isoform formation can cause central nervous system structural anomalies, dendritic cell defects, and decreased numbers of neurons.²⁷ This suggests that cerebral dystrophin anomalies resulting from abnormal brain isoform formation might be the primary cause of intellectual impairment. If PSL promotes the formation of dystrophin expressed in muscle cells, it must also activate production of cerebral dystrophin in the central nervous system, leading to shorter synaptic neurotransmission latencies and thereby to amelioration of the intellectual impairments.

Another interesting effect of PSL on intellectual ability, demonstrated in the present study, was a significant increase in the IQ scores of patients with nonsense point mutations as compared with those with deletion or duplication mutations (Fig 1D). Premature stop codons caused by nonsense point mutations lead to protein deficiencies and, in many cases, to loss-of-function effects. Read through refers to the treatment effect on patients with specific protein deficiencies resulting from nonsense point mutations. When certain chemical compounds, such as amino glycoside antibiotics, are administered to these patients, they act on ribosomes to read through the premature stop codon, and normal wild-type proteins are thus synthesized, leading to cure of the disease. Because significant increases in IQ scores were observed in patients with nonsense point mutations in this study, we speculated that PSL might exert read-through effects on stop codons and thereby lead to restoration of dystrophin expression in the brain. Our results also raise the possibility that other drugs with read-through effects may improve intelligence in DMD patients.