

Becker 型筋ジストロフィー患者における 臨床症状の進展様式とジストロフィン遺伝子 異常との関連についての研究

矢崎 正英

信州大学医学部第3内科学教室

Correlation between Clinical Course and the Dystrophin Gene Abnormality in Becker Muscular Dystrophy Patients

Masahide YAZAKI

Department of Medicine (Neurology), Shinshu University School of Medicine

To clarify the causative relationship between the variable clinical features and the abnormalities in the dystrophin gene in Becker muscular dystrophy (BMD), we examined 23 BMD patients, focusing on the severity of cardiac disorder. Among the 23 patients with proven dystrophin gene abnormalities, all of 6 patients who had a deletion around the exons between 1 and 8 showed severe cardiac dysfunction, while lacking significant skeletal disabilities. On the other hand, 11 out of 14 patients who had a deletion around the exons between 45 and 60 predominantly experienced skeletal involvement and developed cardiomyopathy only in the advanced stage, while 2 patients in this group did not show any overt sign of cardiomyopathy. This study showed that BMD patients who carry the mutations in the 5' end portion of the dystrophin gene tend to manifest severe cardiac dysfunction, suggesting that this portion plays an important role in the expression of dystrophin in the myocardium. *Shinshu Med J* 46: 107-122, 1998

(Received for publication November 28, 1997)

Key words: Becker muscular dystrophy (BMD), dystrophin gene, dilated cardiomyopathy
Becker 型筋ジストロフィー, ジストロフィン遺伝子, 拡張型心筋症

I. はじめに

Becker 型筋ジストロフィー (Becker muscular dystrophy, 以下 BMD) ならびに Duchenne 型筋ジストロフィー (Duchenne muscular dystrophy, 以下 DMD) は、伴性劣性遺伝形式をとる進行性筋ジストロフィーであり、進行が速く予後不良な DMD に対して、BMD は緩徐進行性で DMD の良性表現型として知られている。DMD/BMD の成因はジストロフィンと呼ばれる膜関連細胞骨格蛋白の異常に起因してお

り¹⁾、DMD では本蛋白が筋細胞で全く発現しておらず、また BMD ではその発現が不完全なことで特徴付けられる。ジストロフィン遺伝子は全長2300kb、cDNA では14kb におよぶ巨大な遺伝子であり、少なくとも75個のエクソンで構成されていることが分っている²⁾。一方、本遺伝子がコードするジストロフィンは分子量427kDa の棒状の蛋白³⁾で、構造上4つの domain すなわち、① actin-binding domain、② rod domain、③ cysteine-rich domain、④ C-terminal domain から成り⁴⁾、このうち①でアクチンと結合し、③と④の一部で細胞膜蛋白であるジストロフィン結合蛋白と結合している⁵⁾。またジストロフィンの発現は、

別刷請求先: 矢崎 正英

〒390-8621 松本市旭3-1-1 信州大学医学部第3内科

骨格筋ならびに心筋細胞の形質膜直下のみならず、脳、網膜、平滑筋などでも発現している⁶⁾⁷⁾。

ジストロフィン異常症の代表であるDMDの典型的な臨床像は、生後間もなく起立・歩行障害などの近位筋優位の骨格筋障害で発症し、10歳前後で歩行不能となる。また病勢の進行に伴い、拡張型心筋症類似の心筋障害を合併する。本疾患の予後は非常に悪く、多くの患者は10～20歳代で呼吸筋障害や心筋障害により死亡する⁸⁾。これに対しBMDの臨床症状は、四肢筋の障害様式はDMDに類似するが、その発症は小児期から思春期にかけてと遅く、また進行も緩徐で成人になっても歩行可能な患者が多いとされている⁹⁾。

一方、最近のジストロフィン異常を指標とした診断法の出現以前はBMDに対する特異的な診断法がなく、本疾患自体が比較的稀な病気と考えられていたため、BMDの臨床像の多様性については十分な検討がなされていなかった。この中で特に心病変については、BMDでは重篤な心筋障害が起こらないとする考えが定説となっていた⁹⁾¹⁰⁾。しかし1987年にYazawaら¹¹⁾が拡張型心筋症様の心病変を伴うBMDの一家系を報

告して以来、高度な心筋障害を伴うBMDの症例が相次いで報告されるようになり^{12)～15)}、その頻度の高さが注目されている¹⁶⁾。そして現在ではBMDにおける心筋障害の有無は本症患者の重要な予後決定因子とみなされている。

BMDは、骨格筋障害、心筋障害ともにDMDに比してその進行様式は著しく変化に富んでおり、また骨格筋障害と心筋障害の進行は必ずしも並行していない¹⁶⁾¹⁷⁾。このため臨床症状のみではBMDの診断が難しいこともあり、非典型的患者はしばしば肢体型筋ジストロフィーや大腿四頭筋ミオパシーなどの診断名が付けられている。また骨格筋障害が軽度のBMD患者は原因不明の拡張型心筋症として循環器科で経過観察されている場合もある。BMDにおいて、各患者間で臨床像に変異が生じる詳細な機序は不明であるが、当科では以前よりBMDの心筋障害の進展様式と骨格筋障害の進展様式の相互関連に着目した研究が進められてきた¹¹⁾¹⁷⁾¹⁸⁾。本研究ではBMD患者23名を対象として、心筋障害に主眼を置いた臨床像の進展様式とジストロフィン遺伝子異常との関連について検討した。

表1 臨床像の要約

患者	年 齢 (歳)	発症年齢 (歳)	罹病期間 (年)	ジストロフィン遺伝子 異常 (エクソン)	遺伝歴	骨格筋 障 害	下 腿 筋 仮性肥大	血清 CK(U/l)
1	24	5	19	1	欠損	+	なし	1368
2	18	5	13	1	欠損	+	+	3960
3	14	3	11	1	欠損	+	+	958
4	24	23	1	2-7	欠損	+	+	290
5	19	15	4	3-4	欠損	+	+	833
6	21	17	4	3-4	欠損	+	+	4000
7	43	20	13	13	欠損	+	+	1172
8	44	40	4	イントロン13	塩基置換	+	+	1903
9	26	10	16	43	欠損	-	+	3769
10	47	15	32	45-48	欠損	+	+	800
11	21	2	19	45-48	欠損	-	+	988
12	46	37	9	45-48	欠損	-	+	531
13	27	3	24	45-47	欠損	+	+	1153
14	40	7	33	45-48	欠損	+	+	380
15	27	9	18	47	欠損	+	+	5181
16	34	1	33	47	欠損	-	+	272
17	35	10	25	45-48	欠損	-	+	1072
18	56	6	50	45-47	欠損	-	+	574
19	30	1	29	45-48	欠損	-	+	557
20	53	30	23	45-48	欠損	-	-	217
21	46	6	40	45-47	欠損	-	+	390
22	57	20	37	45-48	欠損	+	-	212
23	69	59	10	45-52	欠損	-	-	669

患者の性別は全て男性である。骨格筋障害の程度はHoffmanら¹⁰⁾の基準に従って分類した。

詳細は本文を参照されたい。

血清CK：正常<180 U/l

II 対象と方法

A 対象

対象はBMD患者23名(年齢14歳~69歳, 平均 35.7 ± 14.8 歳)であった。BMDの診断は四肢近位筋の萎縮・下腿筋の仮性肥大の存在などの臨床症状, 血清 creatine phosphokinase (CK) 値の上昇, 骨格筋生検所見, ジストロフィンの免疫組織化学的検索, ジストロフィン遺伝子の検索結果を基に行った(表1)。

23名中12名は当科で経験し, 1名(患者20)は他施設より遺伝子解析の依頼があった患者である。また他の10名は平成7年に全国の大学附属病院, 国立病院, 国立療養所124施設を対象に, BMDの臨床像とジストロフィン遺伝子異常との関連を調べる目的で, 心筋障害を伴うBMD患者のアンケート調査を行い, その時に得られた患者である。アンケート内容は検査時の年齢, 発症年齢, 骨格筋ならびに心症状の有無, 血清CK値, 骨格筋生検所見, 心電図・心臓超音波検査所見, ジストロフィンの免疫組織化学的所見, ジストロフィン遺伝子解析結果についてである。この10名中6名は既にジストロフィン遺伝子の異常が確定しており(患者5, 8, 10, 11, 13, 14), 残り4名は, 各施設から血液検体を送ってもらい, 当科で遺伝子解析を行った(患者4, 6, 12, 17)。また患者1²⁾, 2¹²⁾, 3¹⁸⁾, 5¹⁹⁾, 8²⁰⁾²¹⁾, 15¹¹⁾, 16¹⁵⁾に関する詳細な臨床経過は既に他施設から報告されている。

B 方法

1 臨床症状の分析

患者の年齢, 遺伝歴の有無, 四肢筋の障害程度, 経過年数, 息切れ・浮腫などの心不全症状の有無について検討した。

a 骨格筋機能評価

骨格筋障害の程度に関しては, Hoffmanら¹⁰⁾の提唱した基準に従って以下の様に分類した。

無症状: 障害はないが, 血清CK値が高値を示す。下腿筋の仮性肥大や, 四肢筋の痛性痙攣は見られてもよい。

軽度: 四肢近位筋の軽度萎縮と筋力低下は見られるが, Gowers徴候は見られない。

中等度: 進行した筋萎縮と筋力低下により Gowers徴候が認められ, また動揺性歩行を呈する。階段昇降も困難である。

重度: 独力での起立は不能であり, 車椅子での移動となる。

b 心不全症状ならびに徴候の程度

心不全症状ならびに徴候の程度は以下の様に分類した。

なし: 心不全を示唆する所見がない。

軽度: 動作時息切れ, 下腿の浮腫。

重度: 安静時息切れ, 高度の呼吸困難, 胸水貯留, 全身の浮腫。

2 心機能検査

23名の全例に胸部X線撮影と心電図検査を行った。また21名については心臓超音波検査を行い, 左室壁運動障害の有無, 左室拡張末期径ならびに左室収縮末期径, 左室駆出率について検討した。

3 ジストロフィンの免疫組織化学的検索

凍結骨格筋生検標本を用いて, Arahataら²²⁾の方法に従いジストロフィンの免疫組織化学的染色を行った。一次抗体として, Novocastra (UK) 社製のマウス抗ジストロフィン・モノクローナル抗体 (Dys 1: ジストロフィンのrod領域を認識, Dys 2: ジストロフィンのC-末端領域を認識, Dys 3: ジストロフィンのN-末端領域を認識) を1:5の希釈で使用した。組織反応は4°Cで一晩行った後, FITCで標識したウサギ抗マウスIgG抗体で発色させ, オリンパスBH-2蛍光顕微鏡にて観察した。

4 ジストロフィン遺伝子の解析

患者末梢血白血球より抽出したゲノムDNAを用いて, ジストロフィン遺伝子を多重PCR法, Southern blot法にて解析した。

多重PCR法はChamberlainら²³⁾, Beggsら²⁴⁾の報告した方法に基づき, ジストロフィン遺伝子を構成するエクソンのうち18個のエクソン(3, 4, 6, 8, 12, 13, 17, 19, 43, 44, 45, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 60)と筋型ジストロフィンのpromoter領域を増幅した。DMD/BMDにおける, ジストロフィン遺伝子の欠損には, いわゆるhot spot部があり(エクソン3~7, エクソン45~53)²⁴⁾, 上記の方法では主にこのhot spot部を検索できるようにプライマーが設計されている。またエクソン1と2に関してはYoshidaら¹⁸⁾, Sakurabaら²⁵⁾の報告したプライマーを使用して, 各々PCR法にて増幅した¹⁸⁾²⁵⁾。PCRの反応液は50μl中にゲノムDNA 100ng, プライマー100ng, 0.2mM dNTP, 2.5U Taq polymerase (Pharmacia Biotech) を含有した。また反応条件は, 94°C 5分の変性に続いて, 変性94°C 1分, アニール55°C 1分, 伸長反応72°C 1分を30サイクル行った。PCR

表2 心機能検査所見の要約

患者	ジストロフィイン遺伝子 異常 (エクソン)	心不全 症状・徴候	心電図所見	胸部X線 心陰影拡大	心臓超音波検査所見 左室壁運動	Dd	Ds	%FS	左室駆出率
1	1 欠損	なし	Q波(II, III, aV _F)	+	左室壁運動低下	60	49	18.3	0.26
2	1 欠損	重度	Q波(II, III, aV _F , V ₅₋₆), R波増高(V ₁₋₂)	+	左室壁運動低下	60	45	25.0	0.435
3	1 欠損	重度	Q波(I, aV _L , V ₄₋₆), R波増高(V ₁)	+	左室壁運動低下	73	62.3	14.7	0.15
4	2-7 欠損	軽度	徐脈	不明	左室壁運動低下	不明	不明	不明	0.547
5	3-4 欠損	軽度	徐脈, 左室肥大	不明	左室壁運動低下	不明	不明	不明	不明
6	3-4 欠損	軽度	R波増高(V ₁)	不明	左室壁運動低下	不明	不明	不明	不明
7	13 欠損	重度	不完全右脚ブロック, 左房負荷	+	左室壁運動低下	不明	不明	不明	0.27
8	イントロン13塩基置換	軽度	ST低下(I, V ₄₋₆), R波増高(V ₁)	+	左室壁運動低下	71	69	2.8	0.14
9	43 欠損	なし	Q波(II, III, V ₅₋₆), 左室肥大	-	壁運動障害なし	43	30	30.2	0.56
10	45-48 欠損	なし	ST低下(I, aV _L , V ₅₋₆)	不明	左室壁運動低下	不明	不明	不明	0.29
11	45-48 欠損	軽度	正常範囲内	不明	左室壁運動低下	不明	不明	不明	0.45
12	45-48 欠損	なし	R波増高(V ₁)	-	左室壁運動低下	53	37	30.2	0.66
13	45-47 欠損	軽度	左房負荷, 頻脈	不明	不明	不明	不明	不明	不明
14	45-48 欠損	重度	心室内伝導遅延	不明	不明	不明	不明	不明	不明
15	47 欠損	なし	Q波(II, III, aV _F), R波増高(V ₁₋₂)	-	左室壁運動低下	56	43	23.2	0.46
16	47 欠損	重度	ST低下(II, III, aV _F , V ₅₋₆), 両房負荷	+	左室壁運動低下	71	65	8.5	0.136
17	45-48 欠損	重度	心室内伝導遅延	+	左室壁運動低下	不明	不明	不明	0.125
18	45-47 欠損	軽度	Q波(aV _L)	+	左室壁運動低下	59	50	14.5	0.30
19	45-48 欠損	なし	R波増高(V ₁)	-	左室壁運動低下	52	38	27.0	0.52
20	45-48 欠損	重度	Q波(I, aV _L , V ₅₋₆), 陰性T波(I, aV _L , V ₅₋₆)	+	左室壁運動低下	64	60	6.3	0.16
21	45-47 欠損	なし	正常範囲内	-	壁運動障害なし	50	33	34.0	0.63
22	45-48 欠損	なし	正常範囲内	-	壁運動障害なし	不明	不明	不明	不明
23	45-52 欠損	なし	R波増高(V ₁)	+	壁運動障害なし	56	38	32.1	0.60

心不全症状・徴候の重症度分類は本文を参照されたい。
 Dd (mm) : 左室拡張末期径 (正常36-54mm), Ds (mm) : 左室収縮末期径 (正常25-38mm)
 %FS : 左室内径短縮率 (%) (正常28-38%), 左室駆出率 : 正常>0.60

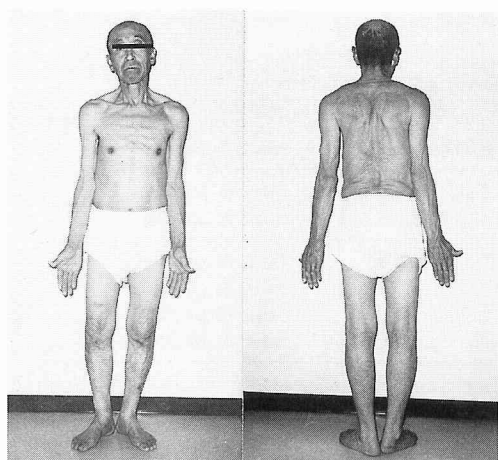


図1 69歳 BMD 患者（患者23）の全身像
四肢近位部の軽い筋萎縮が見られるが、下腿筋の仮性肥大は目立たない。

産物は3%アガロースゲル上で電気泳動し、エチジウム・ブロマ이드で染色後紫外線ランプ下で観察した。

Southern blot 法は、*Hind* III で消化したゲノム DNA をアガロース電気泳動で分離後、ナイロン膜へ転写させ、 ^{32}P で標識したジストロフィン cDNA プローブ²⁶⁾とハイブリダイゼーションを行い観察した。なお本法は三菱化学 BCL 細胞遺伝解析部に依頼した。

5 統計処理

臨床データの有意差の判定については、Mann-Whitney の U 検定を用いた。

III 結 果

A 臨床像

被検者の臨床像の要約を表1に示す。患者の年齢は14～69歳、発症年齢は1～59歳（平均 15.4 ± 15.0 歳）、罹病期間は1～50年（平均 20.3 ± 13.1 年）であった。遺伝歴は23名中13名（57%）に存在した。下腿筋の仮性肥大は20名（87%）に認められた。典型的な仮性肥大は20～30歳代の患者に見られたが、高齢になるほど目立たなくなる傾向にあった（患者20, 22, 23）（図1）。骨格筋障害については、無症状が4名、軽度障害が4名、中等度障害が11名、重度障害が4名であった。心不全症状ならびに徴候は14名に見られた。このうち、安静時の呼吸困難、胸水貯留、高度な浮腫などの重度な心不全症状ならびに徴候は7名に認められた（表2）。高 CK 血症は全例に見られたが、骨格筋の障害が目立たない患者2で3,960 U/l と正常値の20倍

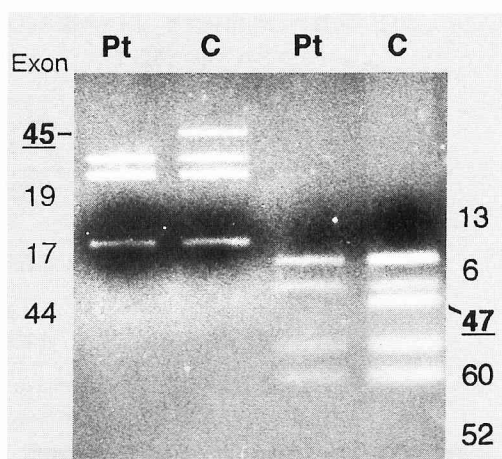


図2 患者18（56歳）の多重 PCR 法による遺伝子解析結果

ジストロフィン遺伝子のエクソン45-47が増幅されず、この部位の欠損と診断した。

Pt: 患者18 C: 正常対照者

以上の著明高値であったのに対し、四肢の筋力低下が著しく、移動に車椅子を使用している患者20では217 U/l と正常上限を少し上まわる程度であり、骨格筋障害の程度と血清 CK 値は必ずしも関連していなかった。

B 心機能検査

心機能検査の要約を表2に示す。

1 心電図所見

23名中20名に心電図異常を認めた。最も頻度の高い異常は V_{1-2} 誘導の R 波の増高で、8名に見られた。以下 aV_L , V_{5-6} 誘導で異常 Q 波を伴うものが5名, I, aV_L , V_{5-6} 誘導で ST-T の変化を示したものが4名, II, III, aV_F 誘導で異常 Q 波を伴うものが3名, 心室内伝導障害が3名に見られた。

2 胸部X線所見

結果の不明な7名を除いた16名中10名（62.5%）に心胸郭比50%以上の心陰影の拡大を認めた。

3 心臓超音波検査所見

心臓超音波検査を施行した21名中17名に左室の壁運動障害を認めた。また左室内腔の測定を施行した13名中8名において、左室拡張末期径が55mm 以上（平均 64.2 ± 6.5 mm）、左室収縮末期径が39mm 以上（平均 55.4 ± 9.8 mm）、左室内径短縮率が28% 以下（平均 $14.2 \pm 7.9\%$ ）と、左室内腔の拡大ならびに収縮力の低下を認めた。この中で特に左室壁運動障害を認め、かつ左室拡張末期径と左室収縮末期径を測定し得た10

表3 骨格筋生検所見

患者	ジストロフィン遺伝子異常 (エクソン)	骨格筋生検所見	ジストロフィンの免疫組織化学的染色
1	1 欠損	opaque 線維	faint
5	3-4 欠損	肥大線維, 壊死線維	faint & patchy
7	13 欠損	筋線維大小不同, 壊死線維	faint & patchy
8	イントロン13塩基置換	筋線維大小不同	faint & patchy
12	45-48 欠損	筋線維大小不同, 壊死線維	faint & patchy
18	45-47 欠損	筋線維大小不同	faint & patchy
19	45-48 欠損	筋線維大小不同	faint & patchy
23	45-52 欠損	筋線維大小不同, opaque 線維	faint & patchy

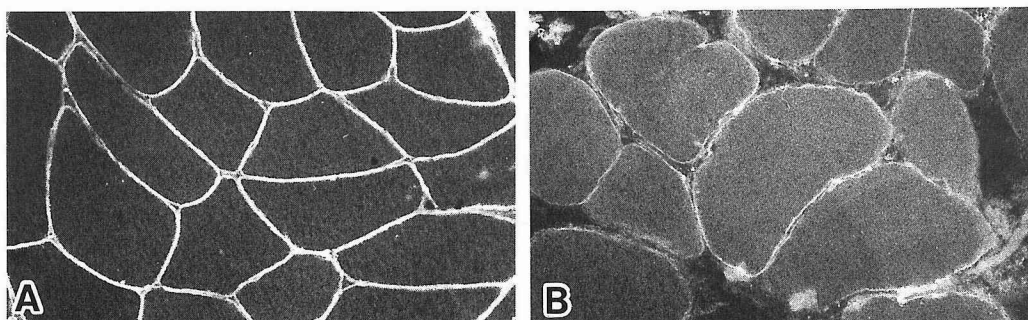


図3 患者18のジストロフィン免疫組織学的染色 (Dys2)

A: 対照者 (上腕二頭筋) B: 患者18 (上腕二頭筋)

筋細胞膜直下に全周性に強く染色される対照者の骨格筋 (A) に対し, 本症患者の筋細胞では染色性は弱く, 不連続でいわゆる faint and patchy pattern を呈している (B)。25倍

名では, 8名が左室内腔の拡大 (左室拡張末期径と左室収縮末期径の両方の拡大を示すの意) を伴っていた。また左室駆出率は測定し得た18名中3名のみが60%以上の正常値であり, 上記8名を含む15名は56%以下に低下していた。

C ジストロフィン遺伝子の解析結果

ジストロフィン遺伝子の異常は検索した23名全員に見られた。その内訳は, エクソン1の欠損が3名, エクソン2~7の欠損が1名, エクソン3~4の欠損が2名, エクソン13の欠損が1名, イントロン13のスプライス部位の1塩基置換が1名, エクソン43の欠損が1名, エクソン45~48内の欠損が13名, エクソン45~52の欠損が1名であった (表1)。図2にエクソン45~47の欠損が見られた患者18の遺伝子解析結果を示す。

D 骨格筋生検所見・ジストロフィン免疫組織化学的検索所見

生検骨格筋の病理組織学的所見とジストロフィンの

免疫組織化学的所見の両者が明らかな患者の結果を表3に示す。

骨格筋生検は15名に施行され, 全例に筋線維の大小不同, 筋線維の壊死像, 再生像, opaque 線維の存在などのジストロフィー変化が認められた。ジストロフィンの免疫組織化学的検索は8名について行われた。対照者の筋組織ではDys 1, 2, 3のいずれの抗体を使用してもジストロフィンはずべての筋細胞膜直下に全周性に強く発現していた (図3A)。これに対しBMD患者7名では, 染色性が弱く, 不連続に染まるいわゆる faint and patchy pattern であった (図3B)。また患者1の骨格筋では, ジストロフィンは筋細胞膜直下に全周性に発現していたが, どの細胞でもその染色性が対照者に比して非常に弱く異常と判定した。

E 臨床像とジストロフィン遺伝子異常部位との関係

骨格筋障害, 心筋障害を中心とするBMDの臨床像とジストロフィン遺伝子の異常部位との関連を調べるため, 検索患者をBeggsら²⁷⁾, Comiら²⁸⁾の報告に準

表4 ジストロフィン遺伝子の異常部位と発症年齢、罹病期間、骨格筋障害の程度との比較

遺伝子異常部位	I 群 5'end(A)	II 群 proxi.¢r.rod(B)	III 群 distal rod(C)	有意差(A)vs(C)
患者数 (人)	6	3	14	
発症年齢 (歳)	11.3±8.14	26.7±15.3	14.7±16.8	NS
罹病期間 (年)	8.67±6.83	11.0±6.25	27.3±11.4	p<0.01
骨格筋障害				
なし	4	0	0	
軽度	2	1	1	
中等度	0	2	10	
重度	0	0	3	

5'end: 5'端 (エクソン1-8) の異常, proxi.¢r.rod: proximal and central rod domain (エクソン9-44) の異常, distal rod: distal rod domain (エクソン45-60) の異常, NS: 有意差なし

表5 ジストロフィン遺伝子異常の部位による心機能検査の比較

遺伝子異常部位	I 群 5'end(A)	II 群 proxi.¢r.rod(B)	III 群 distal rod(C)	有意差(A)vs(C)
患者数 (人)	6	3	12	
左室壁運動障害 (-)	0	1	3	
(+)	6	2	9	
左室駆出率	平均 0.35±0.18	0.32±0.22	0.39±0.20	NS

5'end: 5'端 (エクソン1-8) の異常, proxi.¢r.rod: proximal and central rod domain (エクソン9-44) の異常, distal rod: distal rod domain (エクソン45-60) の異常, NS: 有意差なし

じて以下の様に3群に分けて比較検討した。

I群: ジストロフィン遺伝子の5'端に異常を有する群 (筋型 promoter 領域からエクソン8まで) - 6名 (患者1-6)

II群: proximal and central rod domain に異常を有する群 (エクソン9からエクソン44まで) - 3名 (患者7, 8, 9)

III群: distal rod domain に異常を有する群 (エクソン45からエクソン60まで) - 14名 (患者10-23)

1 発症年齢、罹病期間とジストロフィン遺伝子異常との関連

II群については3名と患者数が少ないため、統計学的処理を行わなかったが、I群とIII群では、発症年齢に有意な差はなかった。罹病期間においては、I群の患者はいずれも20年未満であったが、III群の患者では14名中10名が20年以上と長く、両群間に有意な差が見られた (表4)。

2 骨格筋障害とジストロフィン遺伝子異常との関連 ジストロフィン遺伝子異常部位による骨格筋障害の

程度の比較を表4に示す。

ジストロフィン遺伝子の5'端に異常を有するI群患者6名中4名 (患者1, 2, 3, 4) は、明らかな骨格筋の障害が認められず、また他の2名についても骨格筋障害は四肢近位筋の軽度な萎縮と筋力低下のみであった (患者5, 6)。一方, distal rod domain に異常を有するIII群患者においては1名 (患者12) が骨格筋障害が軽度であった以外は全例に動揺性歩行, 独力での起立・歩行困難などの, 中等度以上の骨格筋障害を認めた。Proximal and central rod domain に異常を有するII群患者においては, 2名が動揺性歩行, Gowers 徴候陽性で (患者7, 9), 1名が四肢近位筋の軽度筋力低下を示した (患者8) (表1, 4)。I群患者とIII群患者の中で, 年齢を20歳代に限定して骨格筋障害の程度を比較してみても, I群患者3名中 (患者1, 4, 6) 2名は無症状, 1名が軽度障害であった。一方, III群患者3名 (患者11, 13, 15) では, 全例が中等度の障害であり, I群患者では年齢に関係なく骨格筋障害が軽度である傾向にあった。

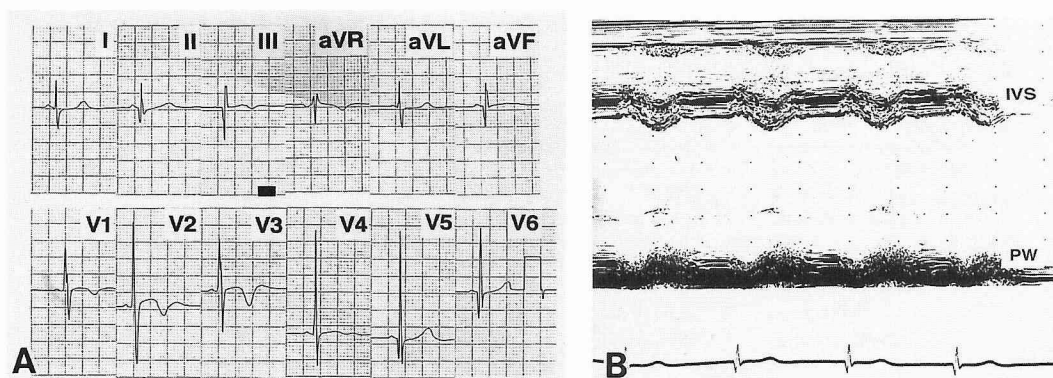


図4 A：患者2の12歳時の心電図

V₁₋₂誘導でR波の増高，II，III，aV_F，V₅₋₆誘導で異常Q波を認めた。

B：患者2の12歳時の心臓超音波検査所見（Mモード）

左室後壁の運動低下と左室内腔の拡大（左室拡張末期径60mm）を認めた。

IVS：心室中隔 PW：左室後壁

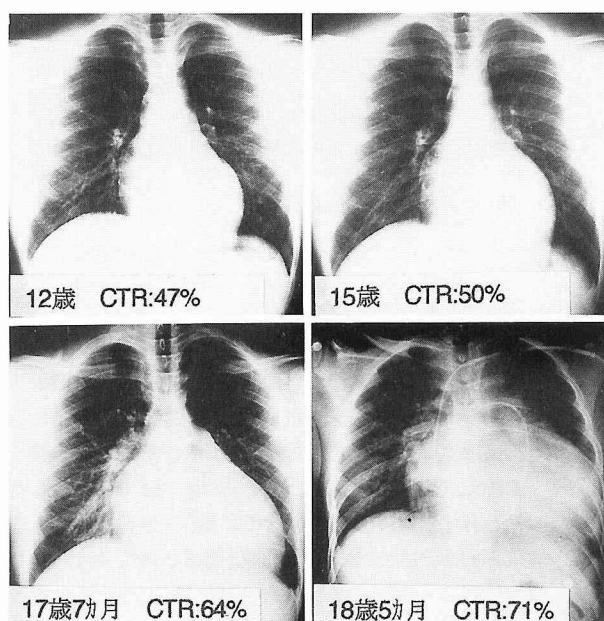


図5 心症状主体の患者2の胸部X線写真の経時的変化

心陰影の拡大が出現した15歳時より心不全症状が出現し，以後心症状の悪化とともに心陰影の一層の拡大が見られる。

3 心筋障害とジストロフィン遺伝子異常との関連

心機能検査所見の要約を表2に，ジストロフィン遺伝子異常部位による心機能検査の比較を表5に示す。

I群患者全例に心臓超音波検査上，左室壁運動障害，左室内腔の拡大，左室駆出率の低下などの心機能低下を認めた。またI群患者6名中5名（83%）とIII群患者14名中7名（50%），II群患者3名中2名（67%）に心不全症状ならびに徴候を認めた（表2）。このう

ちI群患者2名と，II群患者1名，III群患者4名に重度の心不全徴候が見られた（表2）。心電図異常を認めなかった患者は3名で，いずれもdistal rod domainに異常を有するIII群患者であった（患者11，21，22）（表2）。胸部X線上心陰影の拡大（心胸郭比50%以上）が見られたのは，結果の不明な7名を除いて，I群患者3名中3名，II群患者3名中2名，III群患者10名中5名であった（表2）。心臓超音波検査で

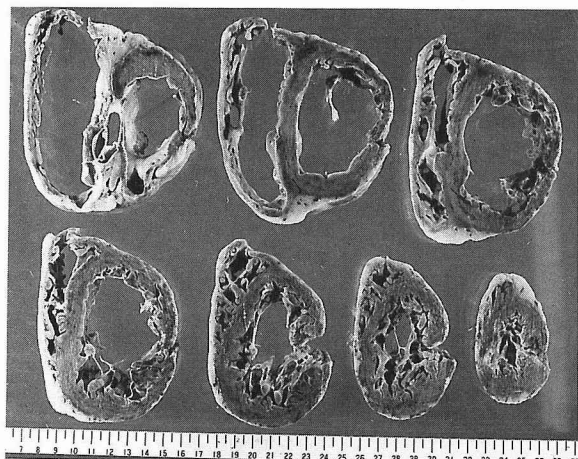


図6 患者2の剖検心の肉眼的所見
両心室ともに内腔の拡大が目立ち、左室壁は
中隔、後壁を中心に菲薄化している。

は、検索した21名中左室壁運動障害を認めなかったのは4名で、このうち3名はⅢ群患者で（患者21, 22, 23）、1名はⅡ群患者（患者9）であった（表5）。左室内腔の拡大に関しては、左室内径を測定した13名において、Ⅰ群患者3名中3名（患者1, 2, 3）、Ⅱ群患者2名中1名（患者8）、Ⅲ群患者8名中4名（患者15, 16, 18, 20）に左室拡張末期径と左室収縮末期径の両者の増大を認めた。左室駆出率に関しては、上記3群間では有意な差は見られなかった（表5）。

4 Ⅰ群とⅢ群における代表的な患者の臨床経過の推移

a Ⅰ群：5'端の異常を有する患者

患者2（18歳男性；エクソン1の欠損）：本患者は12歳時、学校検診で高CK血症と心電図異常（図4A）を指摘され、当科を受診した。四肢では両下腿筋に軽度の仮性肥大とつぶり感が存在したが、筋萎縮や筋力低下はなかった。患者1である兄に類似の症状があり、母親に軽度の高CK血症を認めたことより、遺伝形式は伴性劣性と考えられ、非典型的なBMDと診断された。心病変については胸部の理学所見ならびにX線上の心陰影は正常であった。しかし、心臓超音波検査上左室壁全体の運動低下（左室内径短縮率25%、正常28—38%）と左室内腔の拡大（左室収縮末期径：45mm、左室拡張末期径：60mm、正常は左室収縮末期径：25—38mm、左室拡張末期径：36—54mm）を認め、拡張型心筋症類似の病態と考えられた¹²⁾（図4B）。本患者では15歳時より体動時の呼吸困難と胸部X線心上心陰影の拡大が出現した（図5）。これらの心症状は急速に悪化し、18歳時には安静時にも呼吸困難

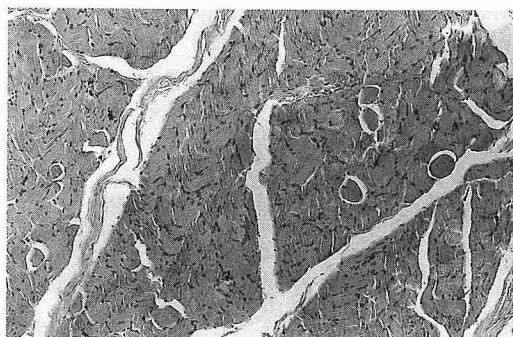


図7 患者2の上腕二頭筋病理組織学的所見
筋束の基本構築はよく保たれているが、一部の筋束で opaque 線維が散見される。
パラフィン包埋切片 HE 染色 25倍

を中心とする心不全症状が見られ、種々な治療を行うも同年うっ血性心不全で死亡した¹⁸⁾。なおこの経過中四肢筋障害の進行は見られなかった。

剖検所見では、肉眼的に左室・右室とも内腔の拡大が目立ち、左室壁は中隔、後壁を中心に菲薄化していた（図6）。組織学的には両心房、心室、心室中隔の広汎な領域で心筋細胞の変性・消失と高度な線維化が見られた。一方、骨格筋の検索では、一部の筋束で opaque 線維が散見される程度で、筋束の基本構築はよく保たれており、骨格筋の変化は非常に軽度であった（図7）。

b Ⅲ群：Distal rod domain に異常を有する患者

患者18（56歳男性；エクソン45～47欠損）：本患者は小学校時代より徒競走が苦手であり、以後緩徐に四

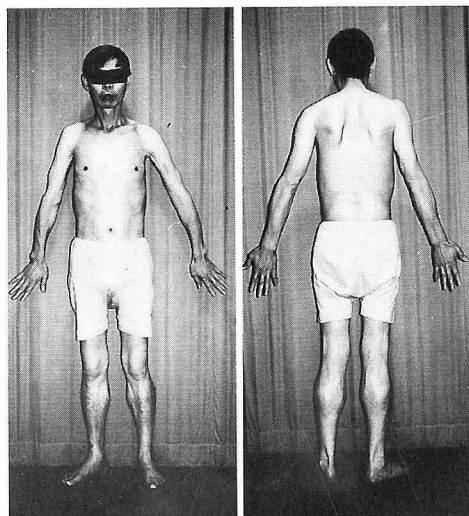


図 8 患者18 (56歳) の全身像

四肢近位筋の中等度萎縮と下腿筋の仮性肥大が認められる。

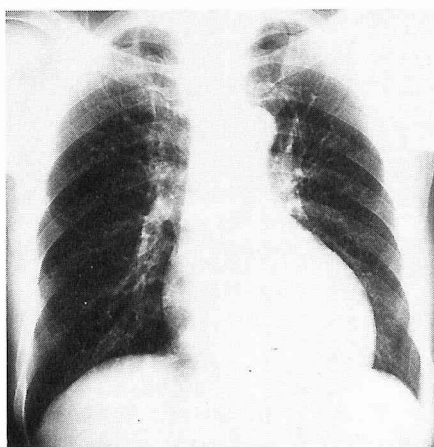


図 9 患者18の胸部 X 線写真 (56歳時)
心胸郭比55%と心陰影の拡大が認められた。

肢筋の萎縮と筋力低下が進行した。50歳時より時々夜間に呼吸困難を自覚し、55歳時に某病院を受診。心臓超音波検査上左室後壁に心室瘤の存在を指摘され、56歳時に精査目的で当科へ入院した。四肢筋は近位筋優位に中等度の筋萎縮と筋力低下が見られ、両下腿筋に軽い仮性肥大が認められた (図 8)。また動揺性歩行を呈し、Gowers 徴候が陽性であった。心病変については心電図上 V_5 -誘導で T 波の陰転化、 aV_L 誘導で

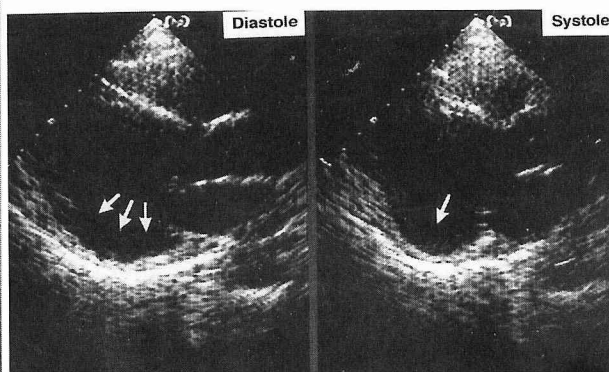


図10 患者18の心臓超音波検査所見 (B モード)
左室後壁は akinesis の状態であり、収縮期に心室瘤様に見える (矢印)。

異常 Q 波を認め、胸部 X 線では心胸郭比は55%と心陰影の拡大が見られた (図 9)。心臓超音波検査では左室全体に壁運動は低下し (左室内径短縮率14.5%)、後壁は akinesis の状態であった (図10)。また左室収縮末期径は50mm、左室拡張末期径は59mm と左室内腔の拡大を認め、左室駆出率は30%と低下していた。上腕二頭筋生検所見では、筋線維の著しい大小不同と、間質結合組織の増加により、筋束の基本構築は乱れていた。またジストロフィンの免疫組織化学的検索では、多くの筋線維で染色性が弱く、かつ不連続性を示す、いわゆる faint and patchy pattern であった (図 3 B)。

Ⅳ 考 察

ジストロフィンとは、筋細胞膜の直下に存在する棒状の細胞骨格蛋白で、アクチンとジストロフィン結合蛋白と結合し、筋細胞の構築の保守を担っているものと考えられている²⁹⁾。DMD/BMD とも、同じジストロフィン遺伝子の異常に起因しているが、ジストロフィンの発現が筋細胞に全く見られないために重症型の筋ジストロフィーである DMD になり、一方、本蛋白が筋細胞に不完全ながら発現しているために軽症の BMD になるかは、従来 reading-frame 説³⁰⁾で説明されている。すなわち、DMD では遺伝子の欠損による読み枠の移動 (frame-shift) で早期終始コドンが生じ、翻訳されたジストロフィンはその正常な機能を有していない。これに対し BMD では、欠損があっても読み枠の移動が起こっていないため、不完全ながらジストロフィンとしての機能を有した蛋白が翻訳されるため、

筋細胞の崩壊が緩徐であると考えられている。

A BMD の発症年齢と骨格筋障害の進展様式について

近年、ジストロフィンの免疫組織化学的検索法の進歩や、ジストロフィン遺伝子解析の導入により BMD の診断技術が向上して、非典型的な BMD 症例が数多く報告されるようになった^{31)~33)}。こうした BMD 患者は従来は他の筋疾患として診断されていたことが多く、同じジストロフィン遺伝子の異常に起因する DMD に比して、BMD ではその臨床像の多様性が注目されている。本研究患者では、患者 1, 2, 3, 4 のように、骨格筋の障害がほとんど認められず、心筋障害のみが目立つ患者や、逆に患者 21, 22 のように、骨格筋の障害が主体で心機能検査上目立った異常所見がなく、明らかな心筋障害を欠く患者も存在した。また患者 23 のように、50 歳代後半まで全く四肢筋の障害を自覚せず、69 歳の現在も自力歩行が可能な患者も存在し、BMD の臨床像は各個人で著しく変化に富んでいた。また遺伝歴を有する患者も、本研究では全体の 57% に過ぎず、本症は遺伝性疾患にもかかわらず、臨床的には孤発例とみなされる患者が相当数存在するものと考えられた。過去の BMD に関する疾患概念の記載の多くは、「本症患者は小児期から思春期に四肢筋の障害で発症し、その後骨格筋障害が進行し、30 歳代後半から 40 歳代前半までに高度な四肢筋障害のため歩行不能となる」である³⁾。しかし本研究の患者で見られるように、BMD 患者の発症年齢、罹病期間には相当な幅があり、発症が遅く、高齢に至っても歩行可能な患者もいる。過去には Heald ら³²⁾が遺伝歴のない 60 歳代発症の BMD 患者を報告しているが、本研究のように高齢の BMD 患者の臨床像に注目した報告は他にはない。このため遺伝歴がなく、また思春期までに骨格筋の障害が出現していなくとも、BMD を否定する理由にはならない。DMD/BMD でよく見られる下腿筋の仮性肥大も、患者 20, 22, 23 のように認められない患者もあり、特に 50 歳代以降の高齢な患者に仮性肥大が目立たない傾向にあった。

B 心筋障害について

BMD においては心筋障害の発生機序や、骨格筋障害と心筋障害の相互関連については未だ不明な点が多い。従来骨格筋障害を中心とする臨床像とジストロフィン遺伝子異常との関連についての報告は見られるが²⁷⁾²⁸⁾、心筋障害に重点を置いた報告は少なく^{34)~36)}、また臨床経過の推移や骨格筋と心筋障害との相互関連

についての詳しい検討はなされていない。

今回の検索結果では、BMD と確定診断された患者 23 名の中で心電図、心臓超音波検査の両方で異常を示さなかったのは 2 名のみであり、この結果は BMD 患者では高頻度に心筋障害を合併するという Nigro ら¹⁶⁾の報告と一致する。また Nigro ら¹⁶⁾は、BMD の心筋障害は拡張型心筋症様の病態³⁷⁾を呈するとしているが、本研究患者でも、心臓超音波検査上左室壁運動障害を示した患者の大部分が左室内腔の拡大と心筋の収縮力低下を伴っており、心筋障害の様式は拡張型心筋症類似の病態³⁷⁾と考えられた。一方、本研究における心電図所見の分析結果では、右側胸部誘導 (V_{1-2}) で R 波の増高や I , aV_L , V_{5-6} 誘導に異常 Q 波の出現を見るものが多かったが、これは BMD における心筋の病理組織学的変化が DMD と同様に左室の後側壁に最も強い¹¹⁾³⁸⁾ことを反映しているものと考えられる。この発生機序に関しては、Cziner と Levin³⁹⁾は左室長軸方向の力は後壁に最もかかりやすく、このため DMD 患者の心臓では後壁に障害が生じやすいと指摘している。これに対し Saito ら³⁰⁾は、心筋障害を合併した BMD 患者の心電図異常は、 I , aV_L , V_6 誘導の異常 Q 波の出現が最多であり、 V_1 誘導の R 波の増高はこれに次ぐ変化であることを報告し、BMD 患者では左室側壁が最も障害されやすく、心筋障害を生じる機序は DMD 患者におけるものとは異なる可能性を指摘している³⁰⁾。しかし Comi ら²⁹⁾の報告では、本研究の結果と同様に V_1 誘導の R 波の増高が最も頻度の高い心電図変化であるとしており、著者は BMD 患者の心筋障害の機序は DMD 患者とほぼ同様であると考えた。

BMD の心筋障害の臨床像で特徴的な点は、前述した患者 1 や患者 18 に見られるように、本病変の進行が個々の患者で必ずしも骨格筋障害の進展と並行していないことである。Becker が提唱した古典的概念に当てはまる BMD 患者の臨床経過は、小児期から思春期に四肢筋の障害で発症し、その後骨格筋障害の進行とともに心筋障害も顕在化し、30 歳代から 40 歳代に高度な四肢筋の障害に、心筋障害による心不全が加わり死の転帰をとる。これに対して患者 1 に代表されるように、病初期から心筋障害が顕著で、全経過を通じて骨格筋障害がほとんど目立たない患者も存在する。

BMD の臨床像とジストロフィン遺伝子の異常部位との関連については、ジストロフィン遺伝子の 5' 端に異常を有する患者は、distal rod domain に異常を有する患者に対して、早期から心筋障害を呈し、骨格筋

障害が軽度である傾向が見られた。一方, distal rod domain に異常を有する患者は臨床経過が長く, 前述したような中年期までに徐々に骨格筋障害が進行し, 経過中に心筋障害を合併する BMD の典型的な経過をとるものがほとんどであった。また心電図, 心臓超音波検査とも異常がなかった 2 名は, distal rod domain 内であるエクソン 45~48 内に異常を有する患者であった。Beggs ら²⁷⁾も 68 名の BMD 患者について検索し, エクソン 45~53 の distal rod domain に異常を有する患者では, 典型的な BMD の臨床像をとるとしている。Comi ら²⁸⁾も 59 名の BMD 患者について検討しているが, ほぼ Beggs ら²⁷⁾の結果と同様のことを述べている。一方, Nigro ら³⁵⁾は, ジストロフィン遺伝子のエクソン 49 が欠損しているかどうかで, BMD における心筋障害の合併の有無が決まる可能性をあげており, この部位に心筋におけるジストロフィンの発現を調節する遺伝子がある可能性を指摘している。しかし本研究の患者 23 (エクソン 45~52 欠損) では, 四肢筋の障害は中等度であったが, 69 歳の現時点では心臓超音波検査で明らかな左室壁運動障害は検出されない。Proximal rod domain ならびに central rod domain に異常を有する患者は 3 名と症例数が少なく, 一定の傾向は見出せなかったが, 異常がより 5' 端に近い患者 7, 8 (イントロン 13 の 1 塩基置換) で心筋障害が顕著で, エクソン 43 の欠損を示した患者 9 では心筋障害は軽度で, 骨格筋障害が主であった。

ジストロフィン遺伝子の 5' 端部の異常を有する BMD 患者では, 筋型 promoter 領域の異常を有した Bartoloni ら³³⁾の報告例がある。彼らの報告は 31 歳の患者であったが, 心筋障害が主体で, 骨格筋の障害としては筋痛と易疲労感のみであった³³⁾。また同じジストロフィン異常症でありながら, 骨格筋障害の見られない疾患として X 連鎖性拡張型心筋症 (X-linked dilated cardiomyopathy, 以下 XLDCM)⁴⁰⁾がある。XLDCM の臨床的な特徴は, 10 歳代から 20 歳代の男性に重篤な拡張型心筋症が出現することである。また骨格筋障害は見られないが, 多くの患者で MM 型 (骨格筋型) の高 CK 血症を伴う。本疾患患者は未だ数家系しか報告がないが^{340)~44)}, ジストロフィン遺伝子の異常としては筋型 promoter 領域からエクソン 1 にかけての欠損⁴¹⁾, イントロン 1 の 5' 側のスプライス部位の 1 塩基置換⁴²⁾, エクソン 6~13 の欠損⁴³⁾, エクソン 9 の 1 塩基置換⁴⁵⁾⁴⁶⁾, エクソン 27~30 の欠損⁴⁴⁾が確認されており, ジストロフィン遺伝子の 5' 端近傍に

異常を有する家系が多い。XLDCM と BMD が同一の疾患単位かどうかは明らかではないが, 上記の XLDCM 患者や Bartoloni ら³³⁾の報告した BMD 患者のように, ジストロフィン遺伝子の 5' 端に異常を有する患者では, 本研究の I 群患者と同様に, 骨格筋障害に比して心筋障害が主体になる傾向がある。

ジストロフィン遺伝子の 5' 端部に異常を有する患者で, 骨格筋障害に比して心筋障害が重篤となる詳細な機序は不明であるが, 最近両組織におけるジストロフィン・アイソフォームの発現様式の違いが, この機序を知る手掛かりとして注目されている。すなわちジストロフィンには主に骨格筋, 心筋に発現している筋型ジストロフィンの他に, 脳型, Purkinje 細胞型のアイソフォームの存在が知られている。

Nakamura ら⁴⁷⁾は, エクソン 1 の欠損である患者 1 の骨格筋において, これら 3 種類のジストロフィン・アイソフォームの発現様式を検討している。この結果では, 本患者の骨格筋には筋型ジストロフィンの発現は全く見られなかった。これに対し本来健康者の骨格筋では発現していないはずの脳型ならびに Purkinje 細胞型アイソフォームが過剰に発現していたことから, この 2 種類のジストロフィンの代償作用により骨格筋障害を防いでいると推測している⁴⁷⁾。類似な結果は, 筋型 promoter 領域からエクソン 1 の欠損が認められた XLDCM 患者⁴¹⁾⁴⁸⁾や, イントロン 1 の 5' 側のスプライス部位の塩基置換が認められた XLDCM 患者⁴²⁾の骨格筋で報告されている。また Muntoni ら⁴⁹⁾は, 上記の筋型 promoter 領域からエクソン 1 の欠損が認められた XLDCM 患者⁴¹⁾の心筋では, 筋型, 脳型, Purkinje 細胞型のいずれのジストロフィンも発現が見られず, これが本疾患患者で骨格筋に比して心筋障害が強い機序であると推論している⁴⁹⁾。もちろん, この機序で全ての XLDCM 患者や, 心筋障害が主徴で骨格筋障害が軽い BMD 患者における骨格筋と心筋の障害度の差異を説明できるかどうかは定かでないが, ジストロフィン遺伝子の 5' 端近傍には骨格筋, 心筋におけるジストロフィンの発現を制御する遺伝子配列がいくつか存在する可能性が考えられている。事実 Klamut ら⁵⁰⁾はジストロフィン遺伝子のイントロン 1 内に本遺伝子の転写に関与する enhancer の存在を明らかにしている。また骨格筋と心筋でのジストロフィンの発現は, 必ずしも同じ機序で制御されていない可能性も考えられ, 今後これらの点を踏まえて, ジストロフィン異常症における骨格筋と心筋の障害機序をさ

らに検討する必要がある。

V 結 語

BMD 患者23名の臨床像とジストロフィン遺伝子の異常を検索して以下の結論を得た。

- 1 従来 BMD の発症は幼児期から思春期であり、中年期以後は歩行不能とされていた。しかし本研究で中年期以後発症する BMD 患者、ならびに老年期に至っても歩行可能な BMD 患者の存在が明らかとなった。また中高年の BMD 患者では、下腿筋の仮性肥大は目立たない傾向にあった。
- 2 BMD では骨格筋障害と心筋障害の進展は必ずしも並行せず、また臨床症状の重症度と血清 CK 値の上昇は相関していなかった。
- 3 ジストロフィン遺伝子の5'端に異常を有する患者は、骨格筋障害に比べて心筋障害が発病後早期から顕著になる傾向があった。
- 4 エクソン45～60の distal rod domain に異常を有する患者は骨格筋障害で発症し、骨格筋障害の進展に伴い、心筋障害が加わる典型的な BMD の経過をとる傾向にあった。
- 5 BMD の臨床像は従来考えられていた以上に多様性に富むものと考えられた。

本研究の要旨は、第37回日本神経学会総会（1996年5月埼玉）第9回アジア・オセアニア神経学会（1996年9月韓国）で発表した。

また本研究は、厚生省 精神・神経疾患研究委託費（筋ジストロフィー及び関連疾患の臨床病態と治療法に関する研究）の援助を受けた。

なお本研究で症例を提供して頂きました以下の施設に深謝致します。

東京医科歯科大学神経内科、筑波大学神経内科、千葉大学神経内科、神戸大学神経内科、大阪医科大学神経内科、岡山大学神経内科、国立療養所東埼玉病院内科、東海大学神経内科、九州大学神経内科、広島赤十字・原爆病院循環器科・神経内科

稿を終わるに当たり本論文を懇切に御校閲頂きました信州大学医学部細菌学教室 寺脇良郎教授に感謝致します。また御指導を賜りました信州大学医学部第3内科学教室前教授 柳澤信夫先生、ならびに本研究の遂行に当たり種々な御助言を頂きました信州大学医学部第3内科学教室 池田修一先生、吉田邦広先生、中村昭則先生、小山 潤先生に深謝します。

文 献

- 1) Hoffman EP, Kunkel LM: Dystrophin abnormalities in Duchenne/Becker muscular dystrophy. *Neuron* 2: 1019-1029, 1989
- 2) den Dunnen JT, Grootsholten PM, Bakker E, Blonden LAJ, Ginjaar HB, Wapenaar MC, van Paassen HMB, van Broeckhoven C, Pearson PL, van Ommen GJB: Topography of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) gene: FIGE and cDNA analysis of 194 cases reveals 115 deletions and 13 duplications. *Am J Hum Genet* 45: 835-847, 1989
- 3) Hoffman EP, Knudson CM, Campbell KP, Kunkel LM: Subcellular fractionation of dystrophin to the triads of skeletal muscle. *Nature* 330: 754-758, 1987
- 4) Koenig M, Monaco AP, Kunkel LM: The complete sequence of dystrophin predicts a rod-shaped cytoskeletal protein. *Cell* 53: 219-228, 1988
- 5) Campbell KP, Kahl SD: Association of dystrophin and an integral membrane glycoprotein. *Nature* 338: 259-262, 1989
- 6) Chelly J, Kaplan J-C, Maire P, Gautron S, Kahn A: Transcription of the dystrophin gene in human muscle and non-muscle tissues. *Nature* 333: 858-860, 1988
- 7) Miyatake M, Miike T, Zhao J-E, Yoshioka K, Uchino M, Usuku G: Dystrophin: Localization and presumed function. *Muscle Nerve* 14: 113-119, 1991
- 8) 小沢鉄二郎: ジストロフィン研究の背景. ジストロフィン, pp 7-29, 学会出版センター, 東京, 1992
- 9) Ringel SP, Carrol JE, Schold SC: The spectrum of mild X-linked recessive muscular dystrophy. *Arch Neurol* 34: 408-416, 1977

- 10) Hoffman EP, Kunkel LM, Angelini C, Clarke A, Johnson M, Harris JB: Improved diagnosis of Becker muscular dystrophy by dystrophin testing. *Neurology* 39: 1011-1017, 1989
- 11) Yazawa M, Ikeda S, Owa M, Haruta S, Yanagisawa N, Tanaka E, Watanabe M: A family of Becker's progressive muscular dystrophy with severe cardiomyopathy. *Eur Neurol* 27: 13-19, 1987
- 12) 吉田邦広, 武田伸一, 治田精一, 庄司進一, 小泉宏隆: 運動時痛, 心筋障害を呈し Becker 型筋ジストロフィーが疑われた兄弟例. *神経内科* 29: 599-606, 1988
- 13) 阪田千種, 春原経彦, 埜中征哉, 荒畑喜一, 杉田秀夫: 心不全を初発症状とした Becker 型筋ジストロフィー症の 1 例. *臨床神経* 30: 210-213, 1990
- 14) Palmucci L, Doriguzzi C, Mongini T, Chiado-Piat L, Restagno G, Carbonara A, Paolillo V: Dilating cardiomyopathy as the expression of Xp21 Becker type muscular dystrophy. *J Neurol Sci* 111: 218-221, 1992
- 15) 中村昭則, 吉田邦広, 池田修一, 治田精一, 柳澤信夫: 拡張型心筋症を主徴とする Becker 型筋ジストロフィーの 1 例. *呼と循* 42: 301-304, 1994
- 16) Nigro G, Comi LI, Politano L, Limongelli FM, Nigro V, de Rimini ML, Giugliano MAM, Petretta VR, Passamano L, Restucci B, Fattore L, Tebloev K, Comi L, de Luca F, Raia P, Esposito M: Evaluation of the cardiomyopathy in Becker muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 18: 283-291, 1995
- 17) 矢崎正英, 池田修一, 吉田邦広, 中村昭則, 柳澤信夫: Becker 型筋ジストロフィーにおける心筋病変の進行様式に関する臨床病理学的研究. *循環器* 40: 143-150, 1996
- 18) Yoshida K, Ikeda S, Nakamura A, Kagoshima M, Takeda S, Shoji S, Yanagisawa N: Molecular analysis of the Duchenne muscular dystrophy gene in patients with Becker muscular dystrophy presenting with dilated cardiomyopathy. *Muscle Nerve* 16: 1161-1166, 1993
- 19) Ohkoshi N, Yoshizawa T, Mizusawa H, Shoji S, Toyama M, Iida K, Sugishita Y, Hamano K, Takagi A, Goto K, Arahata K: Malignant hyperthermia in a patient with Becker muscular dystrophy: dystrophin analysis and caffeine contracture study. *Neuromusc Disord* 5: 53-58, 1995
- 20) Hagiwara Y, Nishio H, Kitoh Y, Takeshima Y, Narita N, Wada H, Yokoyama M, Nakamura H, Matsuo M: A novel point mutation (G⁻¹ to T) in a 5' splice donor site of intron 13 of the dystrophin gene results in exon skipping and is responsible for Becker muscular dystrophy. *Am J Hum Genet* 54: 53-61, 1994
- 21) Yu Y, Yamabe H, Fujita H, Inoue T, Yokota Y, Nishio H, Wada H, Matsuo M, Yokoyama M: Cardiac involvement in a family with Becker muscular dystrophy. *Intr Med (Tokyo)* 34: 919-923, 1995
- 22) Arahata K, Ishiura S, Ishiguro T, Tsukahara T, Suhara Y, Eguchi C, Ishihara T, Nonaka I, Ozawa E, Sugita H: Immunostaining of skeletal and cardiac muscle surface membrane with antibody against Duchenne muscular dystrophy peptide. *Nature* 333: 861-863, 1988
- 23) Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier JE, Nguyen PN, Caskey CT: Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic Acids Res* 16: 11141-11156, 1988
- 24) Beggs AH, Koenig M, Boyce FM, Kunkel LM: Deletion of 98 % DMD/BMD gene deletions by polymerase chain reaction. *Hum Genet* 86: 45-48, 1990
- 25) Sakuraba H, Ishii K, Shimmoto M, Yamada H, Suzuki Y: A screening for dystrophin gene deletions in Japanese patients with Duchenne/Becker muscular dystrophy by the multiplex polymerase chain reaction. *Brain Dev* 13: 339-342, 1991
- 26) Koenig M, Hoffman EP, Bertelson CJ, Manaco AP, Feener C, Kunkel LM: Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy(DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals. *Cell* 50: 509-517, 1987
- 27) Beggs AH, Hoffman EP, Snyder JR, Arahata K, Secht L, Shapiro F, Angelini C, Sugita H, Kunkel LM: Exploring the molecular basis for variability among patients with Becker muscular dystrophy: dystro-

- phin gene and protein studies. *Am J Hum Genet* 49 : 54-67, 1991
- 28) Comi GP, Prella A, Bresolin N, Moggio M, Bardoni A, Gallanti A, Vita G, Toscano A, Ferro MT, Bordoni A, Fortunato F, Ciscato P, Felisari G, Tedeschi S, Castelli E, Garghentino R, Turconi A, Fraschini P, Marchi E, Negretto GG, Adobbati L, Meola G, Tonin P, Papadimitriou A, Scarlato G: Clinical variability in Becker muscular dystrophy. Genetic, biochemical and immunohistochemical correlates. *Brain* 117 : 1-14, 1994
 - 29) Menke A, Jockusch H : Decreased osmotic stability of dystrophin-less muscle cells from the *mdx* mouse. *Nature* 349 : 69-71, 1991
 - 30) Koenig M, Beggs AH, Moyer M, Scherpf S, Heindrich K, Bettecken T, Meng G, Müller CR, Lindlöf M, Kaariainen H, de la Chapelle A, Kiuru A, Savontaus M-L, Gilgenkrantz H, Récan D, Chelly J, Kaplan J-C, Covone AE, Archidiacono N, Romeo G, Liechti-Gallati S, Schneider V, Braga S, Moser H, Darras BT, Murphy P, Francke U, Chen JD, Morgan G, Denton M, Greenberg CR, Wrogemann K, Blonden LAJ, van Paassen HMB, van Ommen GJB, Kunkel LM : The molecular basis for Duchenne versus Becker muscular dystrophy : correlation of severity with type of deletion. *Am J Hum Genet* 45 : 498-506, 1989
 - 31) Gospe SM, Lazaro RP, Lava NS, Grootsholten PM, Scott MO, Fischbeck KH : Familial X-linked myalgia and cramps : a nonprogressive myopathy associated with a deletion in the dystrophin gene. *Neurology* 39 : 1277-1280, 1989
 - 32) Heald A, Anderson LVB, Bushby KMD, Shaw PJ : Becker muscular dystrophy with onset after 60 years. *Neurology* 44 : 2388-2390, 1994
 - 33) Bartoloni L, Fanin M, Freda MP, Danieli GA, Angelini C : Point mutations in muscle promoter region of dystrophin gene associated with cardiopathy and myoglobinuria. *Neurology* 45[Suppl 4] : 182-183, 1995
 - 34) Politano L, Colonna-Romano S, Esposito MG, Nigro V, Comi LI, Passamano L, Nigro G : Genotype-phenotype correlation in patients with deletions of Duchenne/Becker gene. *Acta Cardiomiol* 2 : 239-244, 1991
 - 35) Nigro G, Politano L, Nigro V, Petretta VR, Comi LI : Mutation of dystrophine gene and cardiomyopathy. *Neuromusc Disord* 4 : 371-379, 1994
 - 36) Saito M, Kawai H, Akaike M, Adachi K, Nishida Y, Saito S : Cardiac dysfunction with Becker muscular dystrophy. *Am Heart J* 132 : 642-647, 1996
 - 37) Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, Olsen E, Thiene G, Goodwin J, Gyrfas I, Martin I, Nordet P : Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology task force on the definition and classification of cardiomyopathies. *Circulation* 93 : 841-842, 1996
 - 38) Ferrans VJ, Boyce SW : Metabolic and familial diseases. In : Silver MD (ed), *Cardiovascular pathology*, vol 2, pp 945-1004, Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, 1983
 - 39) Cziner DG, Levin RI : The cardiomyopathy of Duchenne's muscular dystrophy and the function of dystrophin. *Med Hypotheses* 40 : 169-173, 1993
 - 40) Berko BA, Swift M : X-linked dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 316 : 1186-1191, 1987
 - 41) Muntoni F, Cau M, Ganau A, Congiu R, Arvedi G, Mateddu A, Marrosu MG, Cianchetti C, Realdi G, Cao A, Melis MA : Deletion of the dystrophin muscle-promoter region associated with X-linked dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 329 : 921-925, 1993
 - 42) Milasin J, Muntoni F, Severini GM, Bartoloni L, Vatta M, Krajcinovic M, Mateddu A, Angelini C, Camerini F, Falaschi A, Mestroni L, Giacca M, the Heart Muscle Disease Study Group : A point mutation in the 5'splice site of the dystrophin gene first intron responsible for X-linked dilated cardiomyopathy. *Hum Mol Genet* 5 : 73-79, 1996

- 43) Oldfors A, Eriksson BO, Kyllerman M, Martinsson T, Wahlstrom J : Dilated cardiomyopathy and the dystrophin gene : an illustrated review. *Br Heart J* 72 : 344-348, 1994
- 44) Franz WM, Cremer M, Herrmann R, Grünig E, Fogel W, Scheffold T, Goebel HH, Kircheisen R, Kübler W, Voit T, Katus HA : X-linked dilated cardiomyopathy. Novel mutation of the dystrophin gene. *Ann N Y Acad Sci* 752 : 470-491, 1995
- 45) Towbin JA, Hejtmancik JF, Brink P, Gelb B, Zhu XM, Chamberlain JS, McCabe ERB, Swift M : X-linked dilated cardiomyopathy : molecular genetic evidence of linkage to the Duchenne muscular dystrophy (dystrophin) gene at Xp21 locus. *Circulation* 87 : 1854-1865, 1993
- 46) Ortiz-Lopez R, Li H, Su J, Goytia V, Towbin JA : Evidence for a dystrophin missense mutation as a cause of X-linked dilated cardiomyopathy. *Circulation* 95 : 2434-2440, 1997
- 47) Nakamura A, Ikeda S, Yazaki M, Yoshida K, Kobayashi O, Yanagisawa N, Takeda S : Up-regulation of the brain and Purkinje-cell forms of dystrophin transcripts, in Becker muscular dystrophy. *Am J Hum Genet* 60 : 1555-1558, 1997
- 48) Muntoni F, Melis MA, Ganau A, Dubowitz V : Transcription of the dystrophin gene in normal tissue and in skeletal muscle of a family with X-linked dilated cardiomyopathy. *Am J Hum Genet* 56 : 151-157, 1995
- 49) Muntoni F, Wilson L, Marrosu G, Marrosu MG, Cianchetti C, Mestroni L, Ganau A, Dubowitz V, Sewry C : A mutation in the dystrophin gene selectively affecting dystrophin expression in the heart. *J Clin Invest* 96 : 693-699, 1995
- 50) Klamut HJ, Bosnoyan-Collins LO, Worton RG, Ray PN, Davis HL : Identification of a transcriptional enhancer within muscle intron 1 of the human dystrophin gene. *Hum Mol Genet* 5 : 1599-1606, 1996

(9 . 11 . 28 受稿)