



北海道公立大学法人
札幌医科大学
Sapporo Medical University

札幌医科大学学術機関リポジトリ *ikor*

SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY

Title	父親由来小児筋強直性ジストロフィー症に関する研究
Author(s)	菊池, 真; 小塚, 直樹; 内田, 英二; 仙石, 泰仁; 堀本, 佳誉; 大屋, 一博; 武田, 秀勝; 館, 延忠
Citation	札幌医科大学保健医療学部紀要,第 6 号: 43-48
Issue Date	2003 年
DOI	10.15114/bshs.6.43
Doc URL	http://ir.cc.sapmed.ac.jp/dspace/handle/123456789/6486
Type	Journal Article
Additional Information	
File Information	n13449192643.pdf

- ・コンテンツの著作権は、執筆者、出版社等が有します。
- ・利用については、著作権法に規定されている私的使用や引用等の範囲内で行ってください。
- ・著作権法に規定されている私的使用や引用等の範囲を越える利用を行う場合には、著作権者の許諾を得てください。

父親由来小児筋強直性ジストロフィー症に関する研究

菊池 真¹, 小塚 直樹², 内田 英二³, 仙石 泰仁², 堀本 佳誉¹
大屋 一博⁴, 武田 秀勝², 館 延忠²

札幌医科大学大学院保健医療学研究科¹

札幌医科大学保健医療学部²

國學院短期大学³

青森県立中央病院小児科⁴

要 旨

筋強直性ジストロフィー症（DM）は成人発症筋ジストロフィーの中で最も多い疾患であり、19q13.3に存在するCTGリピートが異常増大することによって発症する。DMが全身多臓器疾患であり、様々な臨床症状がみられる。最も重篤なタイプは先天型DM（CDM）である。CDMは患者である母親から遺伝することがほとんどである。しかし、父親由来CDMの報告もみられ、臨床症状とCTGリピートの増大に父親由来または母親由来の影響についても報告されている。そこで、我々は父親由来CDMの5家系と母親由来CDMの2家系を対象に臨床症状とCTGリピート数の比較を行なった。CTGリピート数の決定にはnon RI-PCRサザンブロット法を用い、臨床症状については13項目について調査した。親の相違によりCTGリピートと臨床症状に違いはみられなかった。また、父親由来CDMは母親由来CDMと比較して、CTGリピートが小さく、臨床症状も軽度であった。保因者が母親であった場合、子宮内あるいは他の母親由来の因子がDMの子に影響しているものと思われる。

<キーワード>筋強直性ジストロフィー症、父親由来、CTGリピート

はじめに

筋強直性ジストロフィー症（Myotonic Dystrophy 1:DM）は、19番染色体長腕部（19q13.3）に正常でも5-37回程度で存在するCTGリピートが、異常増大することによって発症する、常染色体優性遺伝のミオパチーである^{1,2)}。臨床症状は、進行性の筋力低下と萎縮、ミオトニアを主症状とし、白内障、前頭部脱毛、知能低下あるいは精神遅滞など多彩な症状を示す全身多臓器疾患である³⁾。DMはその発症時期から先天型、小児期型発症型、成人発症型の3つに分類される³⁾。中でも、生下時より筋緊張の低下や呼吸器障害を呈し、運動発達の遅延がみられる先天型筋強直性ジストロフィー症（Congenital DM: CDM）は成人発症型とは異なった臨床症状を示すことより注目されている⁴⁾。CDMの多くはDMの異常遺伝子

をヘテロ接合体として有する親から生まれ、生下時より重度な諸症状を示す。白内障のみを示すような軽症型、あるいは全く臨床症状を示さない無症候型（保因者）が母親の場合、DMの子供が生まれて初めて異常を指摘されることがほとんどである。このように、世代を経て症状、障害度が強まり（potentiation）、発症年齢も早まる現象（anticipation）を表現促進現象（広義のanticipation）がみられる⁴⁾。

CDMの多くは母親由来であることが多いが、近年、父親由来DMの報告もされている⁵⁻¹¹⁾。父親由来の場合、子に遺伝されるCTGリピート数は増加する報告が多いが、逆に中には子の代でCTGリピート数が減少するという報告もある¹²⁾。また、臨床症状は母親由来DMと比較して軽度であることが多い。この様に、DM保因者の性別の違いが、子に与える影響が考えられているが、いま

だに不明な点が多く、父親由来DMの報告も少ない。

今回、著者は父親由来CDMについて以前報告された1家系⁵⁾を含めた4家系を対象にCTGリピート数と臨床症状について母親由来CDM家系と比較、検討したので報告する。また、本研究は父親由来CDMと母親由来CDMの臨床症状の違いを明らかにすることによって、保健医療学領域において、DM患者の予後予測あるいはリハビリテーションプログラムを行う上で重要な意義をもつものと考えられる。

対象と方法

1. 対象 (図1)

父親由来CDMと診断された6名(うち男児5名、女児1名)を含む4家系(家系1～家系4)と母親由来CDMと診断された2名(うち男児1名、女児1名)を含む2家系(家系5、家系6)、および正常対照として遺伝子疾患を有さない健常成人5名を対象とした。

なお、研究にあたり本人または保護者に対して紙面および口頭により十分な説明を行い、DNA解析を行うことに対して同意の得られたもののみを対象とした。

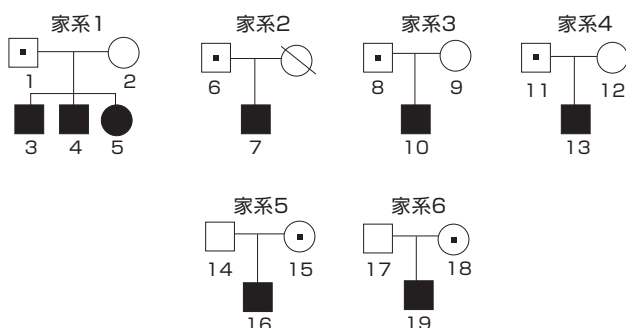


図1. 父親由来CDM家系および母親由来CDM家系
□; 正常, 男性 ○; 正常, 女性 ◻; ADM, 男性
◯; ADM, 女性 ■; CDM, 男性 ●; CDM, 女性
各家系図下の数字は症例番号を示す。

2. 方法

1) 臨床症状の比較、検討項目

臨床症状は以下の項目について、各項目の右に記した定義に基づいて検討した。

- ①羊水過多; 羊水が800mlを超えたものを+とした。
- ②出生時の呼吸障害; 出生時に無呼吸あるいは呼吸困難で人工呼吸器管理となったものを+とした。
- ③哺乳力障害; 1回哺乳量が著しく低下しているもの、あるいは哺乳困難なものを+とした。
- ④筋緊張低下; 出生時にフロッピーインファント (floppy infant) を呈するものを+とした。
- ⑤運動発達遅滞; マイルストーン (mile stone) 評価¹³⁾において、粗大運動の発達が遅れているもの

を+とした。

- ⑥精神遅滞; マイルストーン評価¹³⁾において、個人-社会適応の発達が遅れているものを+とした。
- ⑦筋力低下; 重力の抵抗だけに対抗して運動可能範囲を完全に終わりまで動かすことが不可能な関節が1つでもあった場合を+とした (MMT3未満)。
- ⑧ミオトニア; グリップミオトニア (grip myotonia) がみられたものを+とした。
- ⑨白内障; 白内障を有するものを+とした。
- ⑩前頭部禿; 前頭部に禿がみられるものを+とした。

父親由来CDMと母親由来CDMに関しては、上記10項目全てを評価した。保因者である父親あるいは母親に関しては上記⑦-⑩の4項目について検討した。

2) CTGリピート数の解析

CTGリピート数の解析はnon-RI PCRサザン法を用いた。解析に用いるDNAは各対象より採血し、分離した末梢血リンパ球よりSepa Gene[®] (三光純薬株製) を用いて抽出した。プライマー #406 (5'-GAAGGGTCCTTGTAGCCGGGAA-3') と #409 (5'-GGAGGATGGAACACGGACGG-3')¹⁴⁾ を用いて Polymerase chain reaction (PCR) を行い、n回のCTGリピートを含む (134+3×n) bpの領域を増幅した。

2%のアガロースゲルおよび0.8%のアガロースゲルに電気泳動したPCR産物を、ゲルからフィルター (Hybond-N⁺: Amersham Pharmacia Biotech社製) へと転写し、Gene Images AlkPhos Direct[™]

表1. 臨床症状

家系	症例	年齢	性別	羊水過多	呼吸障害	哺乳力障害	筋緊張低下	運動発達	精神遅滞	筋力低下	ミオトニア	白内障	前頭部禿
家系1	1 父	46/男								-	-	-	-
	2 母	44/女								-	-	-	-
	3 子	19/男		-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
	4 子	15/男		+		+	+	+	+	+	+	-	-
	5 子	11/女		-		+	+	+	+	+	+	-	-
家系2	6 父	52/男								-	-	-	-
	7 母	死亡/女								-	-	-	-
家系3	8 子	27/男		-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
	9 父	66/男								-	-	-	+
	10 母	60/女								-	-	-	-
家系4	11 子	33/男		-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
	12 父	41/男								-	-	-	+
	13 母	40/女								-	-	-	-
家系5	14 父	41/男		-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
	15 母	40/女		-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
家系6	16 子	15/男		-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
	17 子	15/男		-	-	-	-	+	+	+	+	-	-

+ : 症状がある - : 症状が無い

ADHD : 学習障害 (attention-deficit hyperactivity disorder)

labeling detection system (Amersham Pharmacia Biotech社製) を用いて、non-RI PCRサザンプロットを行った。

non-RI PCRサザンプロットでは異常増大したフラグメントがフィルター上にスメア状に展開する。そこで、今回はスメア状に展開されたフラグメントの下端部を代表値として用いた^{15,16)}。

結 果

1. 父親由来CDMの臨床症状 (表1)

軽度の羊水過多が家系1の15歳男児(症例3)のみにみられた。新生児期の異常として、生下時に呼吸障害を呈したものはおらず、一過性の哺乳力障害、軽度の筋緊張低下を家系1の15歳男児(症例3)と11歳女児(症例4)の2例でみられた。運動発達遅滞は家系1の19歳男児(症例2)、15歳男児(症例3)、11歳女児(症例4)の3例で観察され、精神発達遅滞とミオトニアは全例でみられた。

保因者である父親は2例(症例8,11)で前頭部禿がみられる他は、ミオトニアや筋力低下などのDMに特徴的な臨床症状は観察されなかった。

父親由来CDMは妊娠中の異常と一過性の出生時の異常が若干名に観察された他は、周産期の異常はみられず、特に呼吸障害のような重篤な異常を示すものはみられなかった。しかし、軽度の精神遅滞とミオトニアはすべての父親由来DMで観察された。保因者である父親の臨床症状は前頭部禿が2例のみであり、軽度あるいは無症候性のDMであった。

2. 母親由来CDMおよびその家系

母親由来CDMは2例とも妊娠中に羊水過多がみられ、周産期における呼吸障害、哺乳力障害、筋緊張低下が重篤であった。中でも呼吸器障害は特に重篤で、気管内挿管が行われ、1~2ヶ月間人工呼吸器下で呼吸管理された。他に、運動発達遅滞、精神遅滞、筋力低下も重度であり、ミオトニアも観察された。

保因者である母親2名は、ミオトニアが観察されたが、筋力低下や精神遅滞はみられなかった。

3. 父親由来CDM家系のnon-RI PCRサザンの結果 (図1)

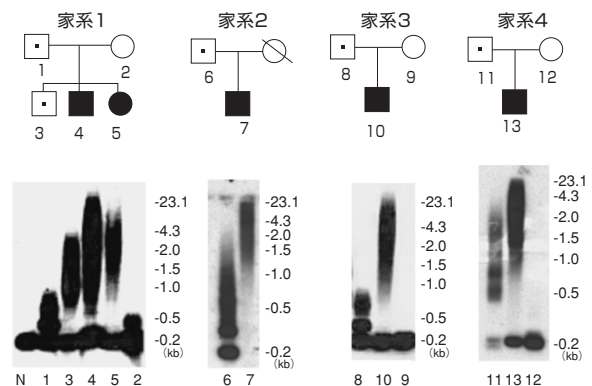
家系1では、父親(症例1)のフラグメントがスメア状に展開し、CTGリピートが様々な程度に増大されていた。子(症例3-5)のフラグメントは3例とも父親のフラグメントよりも上流にあり、父親よりもCTGリピートが増大しており、いわゆる表現促進現象が観察された。母親(症例2)は正常者(N)と同じ0.2kb付近にフラグメントがあった。家系2~家系4も家系1と同様に、子のフラグメントはそれぞれの父親のフラグメントよりも増加していた。

表2-1. 父親由来CDM家系のCTGリピート数

家系		家系 1 家系 2 家系 3 家系 4 平均値±標準偏差						
親	症例	1 6 8 11						
	CTGリピート数	55 59 55 119 72±31						
子	症例	3	4	5	7	10	13	350±157
	CTGリピート数	255	422	1289	955	1289	322	

表2-2. 母親由来CDM家系のCTGリピート数

家系	家系5	家系6	平均値±標準偏差
親 症例 CTGリピート数	15 62	18 122	92±42
子 症例 CTGリピート数	16 3289	19 3289	3289



N: 正常者 (Normal)

図2. 父親由来CDM家系non-RI PCR Southernの結果

4. 父親由来CDM家系と母親由来CDM家系のCTGリピート数の比較

父親由来CDM家系のCTGリピート数(表2.1)は、父親のCTGリピート数が55から119で平均72リピートであったのに対し、子のCTGリピート数は255から1289で平均350リピートであった。母親由来CDM家系のCTGリピート数(表2.2)は、母親が62と122であり、子のリピート数は2例とも3289であった。父親由来CDMのフラグメントは母親由来CDMのフラグメントと比較してより下流に位置し、父親由来CDMのほうが母親由来CDMよりもCTGリピートが少ないことを示している(図2)。

保因者である父親と母親のCTGリピート数には、違いは認められなかったが、父親由来CDMのCTGリピート数は母親由来CDMのCTGリピート数と比較して明らかに少なかった。

考 察

4家系の父親由来CDMと2家系の母親由来CDMを、臨床症状とCTGリピート数について比較、検討した。

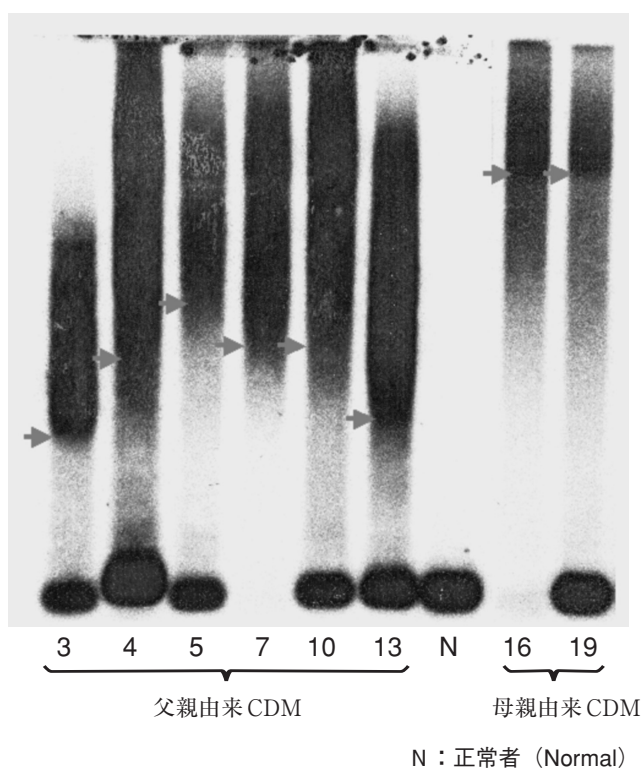


図3. 父親由来CDMと母親由来CDMの比較
図の→を各対象におけるCTGリピート数の代表値とした。

父親由来CDMは生下時に呼吸障害はみられず、一過性の哺乳力障害、軽度の筋緊張低下が2例にみられるのみであり、従来報告されているCDMの新生児期の臨床症状^{4,17)}と比べ軽度であった。母親由来CDMは呼吸障害をはじめとして哺乳力障害、筋緊張低下が重度であり、従来通りのCDMの臨床症状を示した。

精神遅滞に関しては父親由来CDMの全例に観察されたが、母親由来CDMと比較すると軽度であり、Koch¹⁸⁾らの報告と同様の結果を示した。

CDMの臨床症状が父親由来CDMと比較して軽度である事は、過去の報告⁵⁻¹¹⁾と一致していた。特に出生時の呼吸器障害に関しては、CDMにおける25%が呼吸障害により18ヶ月未満で死亡するとの報告¹⁸⁾があることから、新生児期における父親由来CDMの呼吸障害が軽度であることは、父親由来CDMの生命予後が母親由来CDMと比較して良好であることを示している。この呼吸障害が、保因者の性別によって差がみられることは、呼吸理学療法の視点からも有益な情報となりうる可能性がある。また、精神発達遅滞はみられるものの、母親由来CDMと比較すると重度ではないので、この点でも生命予後が母親由来CDMと比較して良好だといえる。

子に伝達されるCTGリピート数に関しては、父親由来CDMと母親由来CDMともに保因者よりもCTGリピート数が増加し表現促進現象が認められた。しかし、保因者のCTGリピート数は大きな差がみられなかったにも関わらず、患児のCTGリピート数は父親由来CDMが母親由

来CDMと比較して明らかに少なく、この点では保因者の性別の違いが患児に影響していることが考えられた。

父親由来CDMに関する報告⁵⁻¹¹⁾の多くは、母親由来CDMと比較して父親由来CDMの臨床症状が軽度であるとしている。その原因としてDNAのメチル化の影響も考えられていたが、父親由来CDMと母親由来CDMの両者にDNAのメチル化の違いはみられなかったとされている²⁰⁾。母胎の影響として、ミトコンドリアDNAの影響²¹⁾や、胎盤を介しての胎内での影響²²⁾が考えられているが、現在のところ原因は明らかにされていない。Jansenら²³⁾はmRNAのレベルでは父親由来CDMと母親由来CDMでは、差がみられないと報告している。

今回の研究ではCDMの保因者が母親の場合と比較して、父親が保因者であった子の臨床症状が軽度でCTGリピート数が少なく、保因者の性別による違いがみられた。この保因者の性別によって患児の臨床症状の重症度が異なることは、患者の予後予測をする上で重要な意味をもつと考えられる。特に、運動発達と精神発達に差が見られたことは保健医療学領域における療育を展開する上で、重要な情報になると考えられ、就学や就労の可否やそのレベルを含めたゴール設定に関与すると思われる。また、CDMは胎児期、出産時の一時期を越えると予後が良好であり、今後は父親由来CDMと母親由来CDMの車椅子処方時期や人工呼吸器導入時期などの経過を長期的に観察することが、より効果的なりハビリテーションを提供する上で重要だと考えられる。DMにおける保因者の性別が、子に与える影響に関しては、未だに原因が特定できないが、単純な遺伝的問題の他に遺伝的要因以外の因子が関与している可能性が高く、今後、父親由来CDMにおける症例の検討や分子生物学的視点からの検討が更に必要だと考えられる。

本研究の一部は(財)札幌医科大学学術振興会の平成14年度一般助成金を受けて行った。

文 献

- 1) Brook JD, McCurrach ME, Harley HG, et al. Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell* 68 : 799-808, 1992
- 2) Mahadevan MS, Amemiya C, Jansen G, et al. Structure and genomic sequence of the myotonic dystrophy (DM kinase) gene. *Hum Mol Genet* 2 : 299-304, 1993
- 3) Harper PS. *Myotonic Dystrophy*: WB Saunders, 1983
- 4) Harper PS. Congenital myotonic dystrophy in Britain. I. Clinical aspects. *Arch Dis Child* 50 :

- 505-513, 1975
- 5) Ohya K, Tachi N, Chiba S, et al. Congenital myotonic dystrophy transmitted from an asymptomatic father with a DM-specific gene. *Neurology* 44 : 1958-1960, 1994
- 6) Tanaka Y, Suzuki Y, Shimozawa N, et al. Congenital myotonic dystrophy: report of paternal transmission. *Brain Dev* 22 : 132-134, 2000
- 7) Zeesman S, Carson N, Whelan DT, Paternal transmission of the congenital form of myotonic dystrophy type 1: A new case and review of the literature. *Am J Med Genet* 107 : 222-226, 2002
- 8) Ashizawa T, Dunne PW, Ward PA, et al. Effects of the sex of myotonic dystrophy patients on the unstable triplet repeat in their affected offspring. *Neurology* 44 : 120-122, 1994
- 9) de Die-Smulders CE, Smeets HJ, Loots W, et al. Paternal transmission of congenital myotonic dystrophy. *J Med Genet* 34 : 930-933, 1997
- 10) Bergoffen J, Kant J, Sladky J, et al. Paternal transmission of congenital myotonic dystrophy. *J Med Genet* 31 : 518-520, 1994
- 11) Nakagawa M, Yamada H, Higuchi I, et al. A case of paternally inherited congenital myotonic dystrophy. *J Med Genet* 31 : 397-400, 1994
- 12) Lopez de Munain A, Cobo A M, Saenz A, et al. Frequency of intergenerational contractions of the CTG repeats in myotonic dystrophy. *Genet Epidemiol* 13 : 483-487, 1996
- 13) 上田礼子. 日本版デンバー式発達スクリーニング検査-JDDSTとJPDQ: 医歯薬出版, 1983
- 14) Mahadevan M, Tsilfidis C, Sabourin L, et al. Myotonic dystrophy mutation: an unstable CTG repeat in the 3' untranslated region of the gene. *Science* 255 : 1253-1255, 1992
- 15) Harley HG, Rundle SA, MacMillan JC, et al. Size of the unstable CTG repeat sequence in relation to phenotype and parental transmission in myotonic dystrophy. *Am J Hum Genet* 52 : 1164-1174, 1993
- 16) Gourie-Devi M, Chaudhuri J R, Vasanth A, et al. Correlation of clinical profile of myotonic dystrophy with CTG repeats in the myotonin protein kinase gene. *Indian J Med Res* 107 : 187-196, 1998
- 17) 古城徹, 荒畑喜一: 先天性筋緊張性ジストロフィーの臨床的検討と分子遺伝学的解析. *日本臨床* 55 : 150-154, 1997
- 18) Koch MC, Grimm T, Harley HG, et al. Genetic risks for children of women with myotonic dystrophy. *Am J Hum Genet* 48 : 1084-1091, 1991
- 19) Reardon W, Newcombe R, Fenton I, et al. The natural history of congenital myotonic dystrophy: mortality and long term clinical aspects. *Arch Dis Child* 68 : 177-181, 1993
- 20) Shaw DJ, Chaudhary S, Rundle SA, et al. A study of DNA methylation in myotonic dystrophy. *J Med Genet* 30 : 189-192, 1993
- 21) Poulton J. Congenital myotonic dystrophy and mtDNA. *Am J Hum Genet* 50 : 651-652, 1992
- 22) Harper PS, Dyken PR. Early-onset dystrophia myotonica. Evidence supporting a maternal environmental factor. *Lancet* 2 : 53-55, 1972
- 23) Jansen G, Bartolomei M, Kalscheuer V, et al. No imprinting involved in the expression of DM-kinase mRNAs in mouse and human tissues. *Hum Mol Genet* 2 : 1221-1227, 1993

Paternal transmission of myotonic dystrophy in children

Shin KIKUCHI¹, Naoki KOZUKA², Eiji UCHIDA³, Yasuhito SENGOKU², Yoshitaka HORIMOTO¹, Kazuhiro OHYA⁴, Hidekatsu TAKEDA², Nobutada TACHI²

¹ Graduate School of Health Sciences, Sapporo Medical University

² School of Health Sciences, Sapporo Medical University

³ Kokugakuin Junior College

⁴ Department of Pediatrics, Aomori Prefectural, Central Hospital

Abstract

Myotonic Dystrophy (DM), the most common muscular atrophy in adult, is caused by abnormal expansion CTG repeats in 19q13.3. DM is a multisystemic disorder with a high phenotypic variability. The most severe type of DM is Congenital DM (CDM). CDM is transmitted from the affected mother. However, some cases of paternally transmitted CDM have been reported. The intergenerational increase in severity is influenced by the sex. Here, we compared five paternal CDM families with two maternal DM families in terms of the clinical symptoms and the size of CTG repeat expansion. The detection of the number of CTG repeats was performed by non RI-PCR Southern blot hybridization. The clinical features of 13 items were discussed. There was no difference in CTG repeat length and clinical features between the fathers and mothers. Paternal CDM resulted in shorter CTG repeat length and lighter severity of the clinical symptoms in the affected offspring than maternal CDM. When the carrier was the mother, intrauterine or other maternal factors might have been involved in the transmission of the DM.

Key words: Myotonic Dystrophy(DM), Paternal transmission, CTG repeat