

主論文の要旨

**Distinctive distribution of brain volume reductions in  
MELAS and mitochondrial DNA A3243G mutation  
carriers: A voxel-based morphometric study**

Voxel-based morphometric study による MELAS とミトコンドリア  
DNA A3243G 変異保因者に特徴的な脳萎縮の検討

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻  
脳神経病態制御学講座 神経内科学分野

(指導：勝野 雅央 教授)

辻河 高陽

## 【緒言】

ミトコンドリア DNA(mtDNA)上の A3243G 変異は母系遺伝し、その保因者の体細胞は変異型 mtDNA と正常型 mtDNA が混在したヘテロプラスミーとなり、多臓器にわたり様々な重症度の臓器障害を引き起こす。ミトコンドリア脳筋症の亜型である、mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS) では、発症者の約 80%が A3243G 変異を保因し、脳卒中様発作により局所的な病変が繰り返す突発的に生じ、それに応じた神経脱落症状や高次機能障害によって生活の質が徐々に低下していく。一方、脳卒中様発作の病歴がない A3243G 変異保因者においても、一般臓器障害とともに脳萎縮を認めることが知られていた。そこで、今回我々は、A3243G 変異保因者の脳 magnetic resonance imaging (MRI) に対して voxel-based morphometry (VBM) を用いて形態学的な解析を行い、MELAS と脳卒中様発作の病歴がない A3243G 変異保因者に共通した潜在的な脳萎縮領域を同定することを目的とした。

## 【方法】

脳 MRI の 3 次元 T1 強調画像を撮影した A3243G 変異保因者を対象とし、臨床診療情報及び元画像データを後方視的に収集した。MELAS の診断基準は、乳酸アシドーシスと少なくとも 1 回以上の脳卒中様発作の病歴があることとした。その基準を満たさない A3243G 変異保因者を A3243G carrier と定義した。評価項目は高次脳機能検査の MMSE、frontal assessment battery (FAB)、clock-drawing test (CDT) の得点、Japanese Mitochondrial Disease Rating Scale (JMDRS)、血清乳酸値及びピルビン酸値、頭部 CT による頭蓋内石灰化、脳波検査による基礎波とした。VBM は、MATLAB をプラットフォームとして作動する画像解析ソフトウェア Statistical Parametric Mapping (SPM8) と VBM8 を用いて実施した。3 次元 T1 強調画像を灰白質と白質に分割化し、Diffeomorphic Anatomical Registration using Exponentiated Lie Algebra (DARTEL) 法により解剖学的標準化を行った。解析するボクセル値は全脳平均 50 として正規化し、前処理データは年齢、性別、頭蓋内容積を共変量として共分散分析を行った。ジャックナイフ法を用いて個々の解析対象と健常対照群の画像を比較した。A3243G 変異の遺伝子検査は、末梢血からゲノム DNA を抽出し、制限酵素 *Apa I* を用いた PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 法、もしくは蛍光標識 (TAMRA 及び ATTO) をつけた配列特異的なプライマーを用いた gene analysis by fluorescence correlation spectroscopy (gFCS) 法のいずれかで実施した。A3243G 変異を保因する MELAS の無症候性母系親族については、遺伝子検査を実施しなかった。統計解析は、R software (2.15.1) を用いて行い、臨床項目の多群比較は Steel-Dwass 法で行い、統計的有意な閾値は  $p < 0.05$  とした。また、VBM の統計的有意な閾値は  $p < 0.001$  (uncorrected for multiple comparisons) とした。

## 【結果】

4 例の MELAS (平均 34.3 歳)、5 例の A3243G carrier (平均 46.2 歳)、16 例の健常対

照例(平均 47.0 歳)を解析した。MELAS は平均 29.3 歳時を初発とする平均 4.0 回の脳卒中様発作を起こした。5 例の A3243G carrier のうち、4 例が糖尿病、3 例が難聴、1 例が心筋症に罹患し、1 例は MELAS の無症候性母系親族であった。高次脳機能検査のうち、MMSE(30 点満点)においては、MELAS(平均 20.5 点)が A3243G carrier(平均 29.4 点)や健常対照例(平均 29.4 点)に比して得点数が低かった。FAB に 3 群間に得点数の有意な差はみられなかったが、CDT(10 点満点)においては、健常対照例(平均 10.0 点)に対して、MELAS(平均 6.8 点)と A3243G carrier(平均 8.8 点)の両群の得点数が低かった。JMDRS は、MELAS が平均 24.8 点、A3243G carriers は平均 7.4 点であり、MELAS のミトコンドリア病重症度が高い傾向にあった。血清乳酸値は、全例(100%)の MELAS で上昇し、A3243G carrier は全例が正常だった。血清ピルビン酸値は、3 例(75%)の MELAS と 1 例(20%)の A3243G carrier で上昇していた。頭部 CT による頭蓋内石灰化は、3 例(75%)の MELAS と 4 例(80%)の A3243G carrier で認め、脳波の徐波化は、3 例(75%)の MELAS と 3 例(60%)の A3243G carrier で認めた。

VBM 解析の結果、灰白質(図 1)では、全例の MELAS が、左上頭頂小葉、右楔前部、右中側頭回、両側小脳後葉に萎縮を示し、それらの領域は脳卒中様発作の病変領域とは異なった。また、A3243G carrier のうち、3 例が左上頭頂小葉、1 例が右楔前部、2 例が右中側頭回、5 例全例が両側小脳後葉に灰白質の萎縮を示した。白質(図 2)について、全例の MELAS が脳卒中様発作の病変に一致して両側もしくは片側の側頭葉の白質に萎縮を認め、この所見は A3243G carrier には認められなかった。

遺伝子検査結果から白血球のヘテロプラスミー率(mtDNA 中の A3243G 変異の割合)を検討し、PCR-RFLP 法で実施した 2 症例において、サザンブロットのバンド濃淡から MELAS 例が A3243G carrier 例よりヘテロプラスミー率が高いことが示唆された(図 3)。また、gFCS 法で実施した 4 症例において、MELAS の 2 例は各々 84.2 %及び 85.8 %、A3243G carrier の 2 例は各々 59.5 %及び 84.9 %であり、A3243G carrier の中にも MELAS と同様に高い割合のヘテロプラスミー率を示す症例を認めた。

### 【考察】

MELAS と A3243G carrier に共通した灰白質の萎縮領域を同定し、これらは脳卒中様発作に依存しない A3243G 変異による潜在的な脳萎縮の可能性を示唆した。A3243G carrier の灰白質の萎縮の分布や程度は症例間で様々であるが、その一部は脳機能異常に関与している可能性を示唆した。また、MELAS の白質の萎縮は脳卒中様発作の病変を反映していると考えられた。

### 【結語】

MELAS と A3243G carrier に共通する灰白質の萎縮領域を同定した。