

# ジストロフィン遺伝子異常による拡張型心筋症の分子遺伝学的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/4583">http://hdl.handle.net/2297/4583</a>

## ジストロフィン遺伝子異常による拡張型心筋症の分子遺伝学的研究

金沢大学医学部医学科内科学第二講座 (主任: 馬淵 宏教授)

安 田 敏 彦

拡張型心筋症 (dilated cardiomyopathy) のなかには伴性劣性遺伝形式を示す家族歴を有するものが存在し、X連鎖性拡張型心筋症として注目されていたが、近年その原因がジストロフィン遺伝子異常と同定された。一方、ベッカー型筋ジストロフィー症では比較的高率に心筋障害が存在し、DCM病態を呈することが明らかにされた。ベッカー型筋ジストロフィー症では骨格筋障害が軽微なために見逃され、原因不明のDCMと診断されている例も少なくないと推定される。本研究の目的は、男性DCM症例におけるジストロフィン遺伝子変異の保有率を明らかにし、その臨床的特徴を検討することである。男性DCM患者連続50症例を対象として、末梢血リンパ球よりゲノムDNAを抽出し、ChamberlainらとBeggsらの方法を用い、マルチプレックスPCR法によってジストロフィン遺伝子異常を検索・同定した。全例に心エコー図検査を施行し、44例(88%)に心臓カテーテル検査を施行して冠動脈疾患を除外した。その結果、ジストロフィン遺伝子異常は4例(8%)に認められ、エクソン45-48の欠失が2例、45-51、48-52の欠失がそれぞれ1例であった。遺伝子異常例においては、平均年齢は44歳で他のDCM症例の平均60歳に比して若年であり、3例(75%)にDCMや若年での突然死の家族歴を有していた。平均血清CPK値は670 IU/lで他のDCM症例の平均107 IU/lに比し高値であった。また、すべての症例に心臓刺激伝導障害を認めた。心エコー図検査所見は他のDCM症例と差異を認めなかった。本研究において、DCM症例に比較的高率にジストロフィン遺伝子異常が同定された。これらの症例は比較的若年であり、また家族内発症を有する症例では若年死亡例も多く、慎重な対応が必要と考えられた。

**Key words** dilated cardiomyopathy, Becker's muscular dystrophy, dystrophin gene, gene mutation

拡張型心筋症(dilated cardiomyopathy, DCM)は心筋収縮不全を基本病態とし、左室拡張と左室壁の運動低下を特徴とする疾患群である<sup>1)2)</sup>。診断は冠動脈疾患、高血圧性心疾患、弁膜症、先天性心疾患などを除外することで行われ、本症の原因はウイルス感染、免疫異常など種々であると考えられている。

近年、DCM症例の20-35%が家族性に発症することが明らかにされた<sup>3)~5)</sup>。明らかな家族歴を有するDCMの中では常染色体優性 (autosomal dominant, AD) 遺伝形式を示すものが最も多く<sup>6)~8)</sup>、このような多発家系を対象にした連鎖解析の結果、これまでに9p13-q22<sup>9)</sup>、10q21-q23<sup>9)</sup>、1q32<sup>10)</sup>、2q31<sup>11)</sup>、2q11-q22<sup>12)</sup>、15q14<sup>13)</sup>の6種類の原因遺伝子座が同定されている。しかしながら、そのうち遺伝子が同定されたものは、現在のところ15q14のアクチン遺伝子のみである<sup>13)</sup>。一方、AD遺伝形式を示す房室伝導障害症例の原因遺伝子座のうち、拡張型心筋症様の病態を呈するものとして、これまでに3p22-p25<sup>14)</sup>、1p1-q21<sup>15)</sup>が報告されている。最近この1p1-q21は心筋細胞内の核を裏打ちする蛋白ラミン遺伝子であることが同定され、AD型家族性DCMの原因遺伝子の一つとして報告された<sup>16)</sup>。

一方、DCMではAD形式を示すものの他に男性同胞発症例

が時に観察されることがあり、このような場合は伴性劣性 (sex-linked recessive) 遺伝形式が疑われる。X連鎖性拡張型心筋症 (X-linked dilated cardiomyopathy, XLDCM) は、1987年 BerkoとSwift<sup>17)</sup>によって初めて報告され、1993年 Muntoniら<sup>18)</sup>によってジストロフィン遺伝子 (Xp21.2) の異常がXLDCMの原因であることが明らかにされた。

ジストロフィン遺伝子は以前から重症のデュシャンヌ型 (Duchenne muscular dystrophy, DMD) および軽症のベッカー型 (Becker muscular dystrophy, BMD) 筋ジストロフィー症の原因遺伝子として同定されていた<sup>19)</sup>。この遺伝子はX染色体短腕、Xp21領域に存在する全長2.3-3.0Mbpの巨大遺伝子であり、コードされる蛋白は分子量427KDaの棒状の巨大蛋白で、筋細胞膜を裏打ちするように存在し、膜の安定化に重要な役割を果たしている。またN端でF-アクチンと、C端でジストロフィン結合蛋白群および $\alpha$ 、 $\beta$ ジストログリカンを介して細胞外マトリックスであるラミニンと結合し、細胞骨格の役割も果たしている<sup>20)</sup>。DMD/BMDおよびXLDCMはジストロフィンの欠損あるいは不完全な変異蛋白の生成により、筋細胞膜が傷害されて筋細胞が壊死におちいるものと考えられている。DMDとBMD

平成12年11月27日受付、平成13年1月8日受理

Abbreviations: AD, autosomal dominant; BMD, Becker muscular dystrophy; CPK, creatine phosphokinase; DCM, dilated cardiomyopathy; DMD, Duchenne muscular dystrophy; M-PCR, multiplex PCR; XLDCM, X-linked dilated cardiomyopathy

の表現型の差異は遺伝子欠失の大きさではなく、その変異によってフレームシフトを生じ、機能を有さない蛋白が合成される場合には重症型のDMDとなり、フレームが保たれ蛋白の一部のみが欠損しているような場合には軽症型のBMDとなる<sup>21)</sup>。DMDは、通常2-4歳頃歩行異常などで気づかれ、11歳頃より歩行不能となり、心筋障害も著明で20-30歳頃までに心不全などで死亡する極めて予後不良の疾患である。一方、BMDでは発症年齢、臨床経過、予後ともに軽症であり、60歳を過ぎても歩行可能な症例も存在する。

これまで骨格筋障害が比較的軽いBMDでは心筋障害を伴うことはまれであるとされていたが、近年比較的高率に心筋障害が合併することが報告された<sup>22)</sup>。Nigroら<sup>23)</sup>はBMD患者の中には臨床的に明らかな心筋障害が比較的若年にも存在し、これらの患者の心筋病変は拡張型心筋症様であったと報告している。また、BMDにおける心筋障害の進行は個々の患者で必ずしも骨格筋障害の進展と平行しない<sup>24)</sup>。骨格筋障害が比較的軽微であっても心筋障害のみが進展してDCM様の病態を示すこともあり、これらの一部がXLDCMとして診断されるものと推定される。DMD/BMDではXRの家族歴を持つもの以外に孤発例も散在することから、ジストロフィン遺伝子異常による骨格筋障害の乏しいDCMにおいても、XLDCM以外に孤発例が存在する可能性が示唆される。以上のことから、これまで原因不明のDCMと診断された症例のなかに骨格筋障害が軽度なBMD患者が含まれている可能性が強く疑われるが、この点に関しては未だ明らかにされていない。そこで、本研究ではDCMと診断さ

れた患者を対象としてジストロフィン遺伝子変異を検索し、その病因としての頻度、本遺伝子変異に伴う臨床像について検討した。

対象および方法

I. 対象

対象は、金沢大学第二内科および関連施設で診断された男性の拡張型心筋症患者連続50症例である。拡張型心筋症の診断は、心エコー図検査における左室拡張末期径が、年齢、体表面積から求めた予想左室拡張末期径の117%以上であり、左室駆出率が45%以下であること<sup>25)</sup>、および心筋障害を説明しうる明らかな基礎疾患が存在しないこと<sup>1)</sup>、で行った。

II. 方法

1. 高分子DNA抽出

対象者全員からインフォームド・コンセントを得たのち、末梢血を採取した。末梢静脈血10mlをEDTA-2Naを抗凝固剤として採取し4℃にて移送、-20℃にて保存した。この末梢血を室温にて解冻後Triton X-100融解変法<sup>26)</sup>にて高分子DNAを単離した。すなわち、融解液(320mM ショ糖液、1% Triton X-100, 5mM MgCl<sub>2</sub>, 10mM Tris-HCl, pH 7.6)にて赤血球を溶血させ、遠心により沈澱として白血球を集めた。これをプロテアーゼ(Sigma, St. Louis, USA)にて消化後、フェノール-クロロホルム(1:1)で1回、続いてクロロホルム-イソアミルアルコール(24:1)にて2回抽出し、最後にエタノール沈澱によりDNA

Table 1. Sequence of polymerase chain reaction (PCR) primers for ten exons of dystrophin by Begg's method

Exon	Sequence	PCR product size (bp)
pm	F 5'-GAAGATCTAGACAGTGGATACATAACAAATGCATG-3' R 5'-TTCTCCGAAGGTAATTGCCTCCCAGATCTGAGTCC-3'	535
3	F 5'-TCATCCATCATCTTCGGCAGATTAA-3' R 5'-CAGGCGGTAGAGTATGCCAAATGAAAATCA-3'	410
6	F 5'-CCACATGTAGTCAAAAATGTAATGAA-3' R 5'-GTCTCAGTAATCTTCTTACCTATGACTATGG-3'	202
13	F 5'-AATAGGAGTACCTGAGATGTAGCAGAAAT-3' R 5'-CTGACCTTAAGTTGTTCTTCCAAAGCAG-3'	238
43	F 5'-GAACATGTCAAAGTCACTGGACTTCATGG-3' R 5'-ATATATGTGTTACCTACCTGTGGTCC-3'	357
47	F 5'-CGTTGTTGCATTTGTCTGTTTCAGTTAC-3' R 5'-GTCTAACCTTATCCACTGGAGATTG-3'	181
49	F 5'-GTGCCCTTATGTACCAGGCAGAAATTG-3' R 5'-GCAATGACTCGTTAATAGCCTTAAGATC-3'	439
50	F 5'-CACCAAATGGATTAAGATGTTTCATGAAT-3' R 5'-TCTCTCTCACCCAGTCATCACTTCATAG-3'	271
52	F 5'-AATGCAGATTTGGAACAGAGGCGTCC-3' R 5'-TTCGATCCGTAATGATTGTTCTAGCCTC-3'	113
60	F 5'-AGGAGAAATTGCGCCTCTGAAAGAGAACG-3' R 5'-CTGCAGAAGCTTCCATCTGGTTGTTTCAGG-3'	139

Pm, muscle-specific promoter; F, forward primer; R, reverse primer.

Table 2. Sequence of polymerase chain reaction (PCR) primers for ten exons of dystrophin by Chamberlain's method

Exon	Sequence	PCR product size (bp)
4	F 5'-TTGTCGGTCTCCTGCTGGTCAGTG-3' R 5'-CAAAGCCCTCACTCAAACATGAAGC-3'	196
8	F 5'-GTCCTTTACACACTTTACCTGTTGAG-3' R 5'-GGCCTCATTCTCATGTTCTAATTAG-3'	360
12	F 5'-GATAGTGGGCTTTACTTACATCCTTC-3' R 5'-GAAAGCACGCAACATAAGATACACCT-3'	331
17	F 5'-GACTTTCGATGTTGAGATTACTTTCCC-3' R 5'-AAGCTTGAGATGCTCTCACCTTTTCC-3'	416
19	F 5'-TTCTACCACATCCCATTTTCTTCCA-3' R 5'-GATGGCAAAAGTGTGAGAAAAAGTC-3'	459
44	F 5'-CTTGATCCATATGCTTTTACCTGCA-3' R 5'-TCCATCACCTTCAGAACCTGATCT-3'	268
45	F 5'-AAACATGGAACATCCTTGTGGGGAC-3' R 5'-CATTCTATTAGATCTGTCGCCCTAC-3'	547
48	F 5'-TTGAATACATTGGTTAAATCCCAACATG-3' R 5'-CCTGAATAAAGTCTTCCTTACCACAC-3'	506
51	F 5'-GAAATTGGCTCTCCTGCTGGTCAGTG-3' R 5'-GGAGAGTAAAGTGATTGGTGGAAAATC-3'	388

F, forward primer; R, reverse primer.

を分離した。こうして得られたDNAをTris-EDTA緩衝液(10mM Tris-HCl, 1mM EDTA-2Na), (pH 8.0)に溶解の上260nmにおける吸光度測定により濃度を求めた。

## 2. マルチプレックスPCR (multiplex PCR, M-PCR)

Chamberlainら<sup>27)</sup>が報告した10対とBeggsら<sup>28)</sup>が報告した9対の合計19対のプライマーセット(表1, 2)を用いて各々のエクソンを増幅した。Tm値の解析にはMacMelt(tm)ソフトウェア(Bio-Rad Laboratories, Richmond, USA)を使用した。プライマーはDNA合成機モデルABI381A (Applied Biosystems, Inc., Foster City, USA)を用いてベータシアノエチルホスホアミダイド法<sup>29)</sup>にて合成した。アンモニア水に溶解して55℃で一晩静置したうえで-20℃に冷却, 真空下で遠心して乾燥, 再滅菌蒸留水1mlに溶解しカラムNAP-5 (Pharmacia-LKB, Uppsala, Sweden)に通して精製した。さらに200倍に希釈して260nmでの吸光度より濃度を測定し, 10 $\mu$ Mになるように濃度を調整した。

DNA断片の増幅にはM-PCR法を用いた。高分子DNA 5 $\mu$ gを鋳型DNAとして, Chamberlainら<sup>27)</sup>が報告した25 p Mのプライマー10セットと終濃度200 $\mu$ Mの各デオキシヌクレオチド(dATP, dCTP, dGTP, TTP), 5単位のTaqポリメラーゼ(東洋紡, 東京)を0.01%ゼラチンを含む緩衝液(終濃度10mM Tris-HCl, pH 8.3, 50mM KCl, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>)に加え, 反応液が計50 $\mu$ lとなるように再滅菌蒸留水を加え攪拌した。遠心して反応液を集め, 50 $\mu$ lのミネラルオイル(Sigma)を滴下して蒸発を防ぎ, サーマルサイクラーを用いて94℃6分の後, 94℃30秒, 53℃30秒, 65℃4分を23サイクル行った後, 最後に65℃7分の反応を行った。

次にBeggsら<sup>28)</sup>が報告した9対のプライマーセット25 p Mを用いて同様の条件でM-PCRを施行した。

## 3. 電気泳動

増幅したDNA断片は, エチジウムブロマイドを加えた1.4%アガロースゲルに鎖長マーカーとして $\Phi$ -X174/*Hae*III消化物(東洋紡, 東京)と共に3.7V/cmで120分間泳動した。各エクソンの泳動速度の違いからそれぞれのエクソンが分離することを利用して, 欠失エクソンを同定した。

## 4. 臨床データの解析

全例に心エコー図検査を施行し, 左室拡張末期径, 収縮末期径, 心室中隔壁厚および左室後壁厚を計測し, Teichholz法<sup>30)</sup>により左室駆出率を算出した。

48例に心臓カテーテル検査を施行し, いずれも冠動脈疾患が存在しないことを確認した。

全例, 慢性期に末梢血を採取し, 血清クレアチンホスホキナーゼ(creatine phosphokinase, CPK)値を測定した。

筋力は徒手筋力テスト(manual muscle tests)による6段階記録法にて行った。

## 5. 家系内調査

ジストロフィン遺伝子異常が認められた家系においては家系図を作成し, 可能な限り家族歴を調査した。ジストロフィン遺伝子はX染色体上に存在するため, 母親が保因者となっている可能性が高く, とくに母方の家系は慎重に調べた。

## 6. 統計学的解析

結果は平均±標準偏差で示した。ジストロフィン遺伝子異常群とその他のDCM群間の比較はFisherの直接確率法, および独立するStudent t検定法を用いて検討した。危険率が5%未満

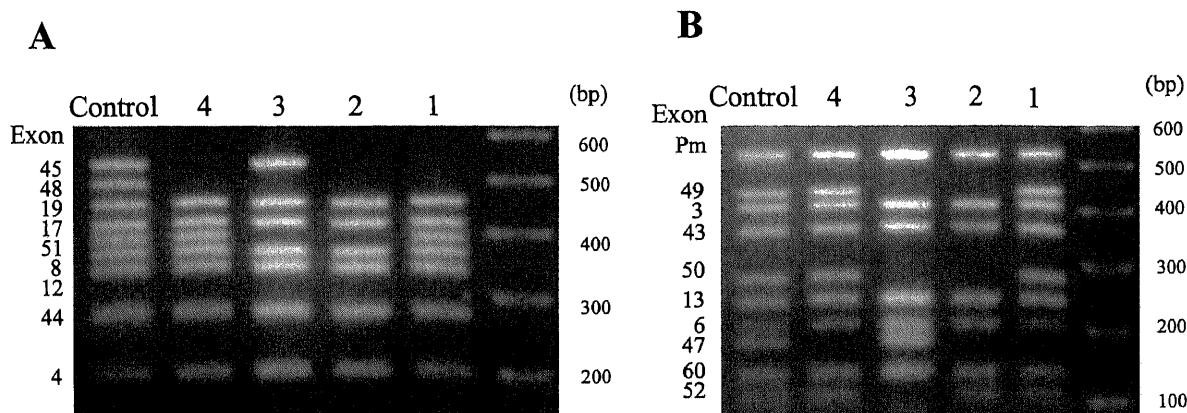


Fig. 1. The result of dystrophin gene analyses by means of Chamberlain method (A) and Beggs method (B). Deletion in the dystrophin gene was detected in 4 patients (8%). The patient No.1 and No.4 had the deletion of exon 45-48, the patient No.2 had the deletion of exon 45-51, and the patient No.3 had the deletion of exon 48-52. Exon 48 was common deletion in the dystrophin gene in these patients.

Table 3. Clinical Characteristics

Patient No.	Age (year)	Family history	Serum CPK (IU/l)	Muscular strength	Conduction deficiency
1	57	yes	438	5/5	RBBB
2	43	yes	96	5/5	LBBB
3	44	no	1392	5/5	Complete AV block
4	33	yes	754	5/5	LBBB
$\bar{x} \pm SD$	$44 \pm 10^*$	$75\%^*$	$670 \pm 551^{**}$		
The other DCM patients	$60 \pm 11$	20%	$107 \pm 64$		

CPK, creatine phosphokinase; RBBB, right bundle branch block; LBBB, left bundle branchblock; AV, atrio-ventricular.

\*  $p < 0.05$ . \*\*  $p < 0.001$ .

の場合 ( $p < 0.05$ ) を統計学的に有意差ありと判定した。

### 成 績

#### I. ジストロフィン遺伝子欠失の解析

男性拡張型心筋症患者50例に対するM-PCR法による検討の結果、図1に示すように4症例(8%)においてそれぞれ複数のエクソンにおよぶ遺伝子の欠失が検出された。症例1および症例4ではエクソン45から48、症例2ではエクソン45から51、症例3ではエクソン48から52の欠失が同定された。エクソン48はジストロフィン遺伝子異常例全例に共通して欠失していた。

#### II. ジストロフィン遺伝子欠失症例における臨床像の検討

##### 1) 臨床的特徴

臨床的特徴を表3に示す。ジストロフィン遺伝子欠失4例中3例(75%)の家系内にDCMと診断された者や、突然死、心不全死などDCMを疑わせる者が存在していた。遺伝子欠失4症例の血清CPK値は平均 $670 \pm 551$  IU/lであり、その他のDCM症例の平均 $107 \pm 64$  IU/lに比し有意に高値であった。四肢筋力は、遺伝子欠失4症例とも正常であった。心電図所見では、症例1では右脚ブロック、症例2および4では左脚ブロック、症例3

では完全房室ブロックを伴っており、すべての症例で何らかの心臓刺激伝導障害を合併していた。

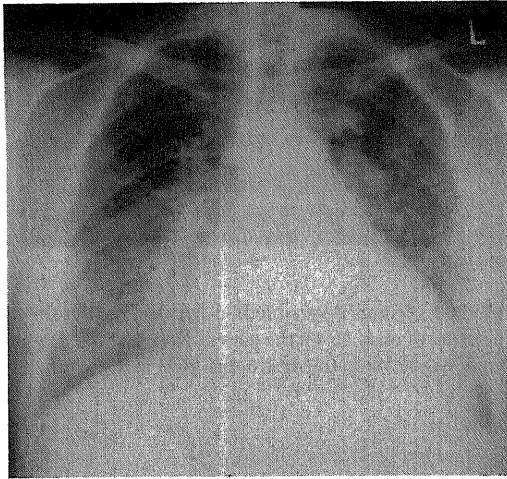
##### 2) 心エコー図所見

症例2の心エコー図所見を図2に示す。表4に示すように、遺伝子欠失4症例の心室中隔厚および左室後壁厚は各々 $8.5 \pm 0.6$  mmおよび $8.8 \pm 0.3$  mmで、その他のDCM症例の $10.3 \pm 2.7$  mmおよび $10.3 \pm 2.4$  mmに比し薄い傾向にあったが、統計学的に有意ではなかった。遺伝子欠失4症例の平均左室拡張末期径は $63.5 \pm 10.1$  mmでその他のDCM症例における平均 $63.4 \pm 9.3$  mmと差がなかった。遺伝子欠失4症例の平均左室収縮末期径は $56.8 \pm 9.6$  mmでその他のDCM症例の平均 $53.4 \pm 8.8$  mmに比しやや大きく、左室駆出率は平均 $20 \pm 13\%$ でその他のDCM症例の平均 $29 \pm 11\%$ に比しやや低い傾向にあったが、統計学的に有意ではなかった。

##### 3) 家系調査

図3に示すように症例1の家系では、2歳および30歳で突然死した兄弟2名が認められた。症例2では兄が他院でDCMと診断されており、44歳で心不全死していた。また、30歳で突然死した従兄弟が存在していた。症例3では、30歳で心不全により死亡した従兄弟が認められた。症例4にはDCMと診断され

A



B

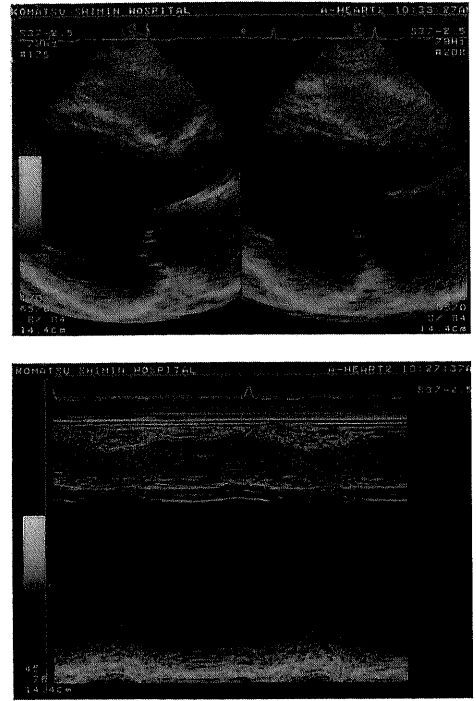


Fig. 2. Chest roentgenogram (A) and ultrasonic echocardiograms (B) of the patient No.2. Ultrasonic echocardiograms demonstrate left ventricular dilatation and severe systolic dysfunction (ejection fraction 8%).

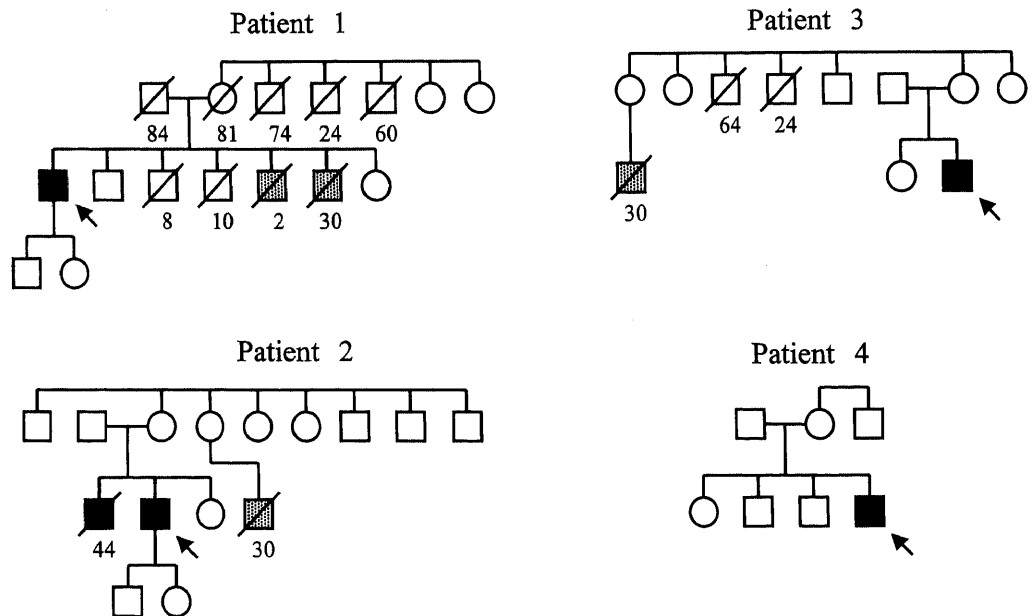


Fig. 3. The pedigrees of the four patients with dilated cardiomyopathy associated deletion mutation in the dystrophin gene. The arrow in the pedigree indicates the proband. The square and the circle in the pedigree indicate male and female, respectively. The number in the pedigree demonstrates age of death; ■, diagnosed DCM; ▨, sudden death (suspected DCM); ▩, deceased.

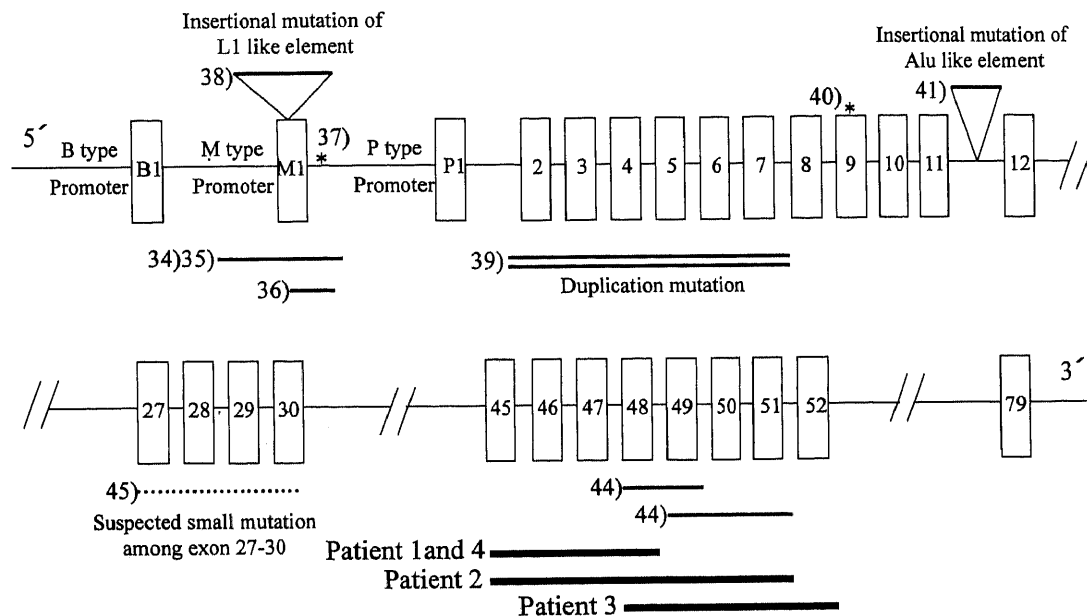


Fig. 4. Location of dystrophin gene mutation in X-linked dilated cardiomyopathy (XLDCM). The number in square indicates exon number; Bar under the gene map, deletion mutation; Star mark, point mutation.

Table 4. Ecocardiographic findings

Patient No.	IVST (mm)	PWT (mm)	LVDd (mm)	LVDs (mm)	EF (%)
1	9	9	65	58	21
2	9	9	72	69	8
3	8	8	68	54	37
4	8	8	49	46	12
$\bar{x} \pm SD$	$8.5 \pm 0.6$	$8.8 \pm 0.3$	$63.5 \pm 10.1$	$56.8 \pm 9.6$	$20 \pm 13$
The other DCM patients	$10.3 \pm 2.7$	$10.3 \pm 2.4$	$63.4 \pm 9.3$	$53.4 \pm 8.8$	$29 \pm 11$

IVST, interventricular septal wall thickness; PWT, left ventricular posterior wall thickness; LVDd, left ventricular end-diastolic dimension; LVDs, left ventricular end-systolic dimension; EF, ejection fraction.

た者や、心不全死、突然死などDCMを疑わせる家族は認められず、孤発例と考えられた。

考 察

これまでジストロフィン遺伝子異常は拡張型心筋症の病因としてごく少数であろうと考えられてきた。Shigaら<sup>31)</sup>は日本人約100例のDCM症例において検討した結果、ジストロフィン遺伝子変異はまったく発見されなかったと報告した。またMichelsら<sup>32)</sup>は骨格筋障害のない27名のDCM患者にジストロフィン遺伝子解析を施行したが、異常は同定されなかった。しかしごく最近Arbustini<sup>33)</sup>らによって201名の男性DCM患者中13名(6.5%)にジストロフィンの欠陥(10例は遺伝子異常の同定、3例は骨格筋生検から診断)が認められたと報告された。本研究によって我が国のDCMのなかにも比較的高率にジストロフィン遺伝子異常が存在することが示された。

ジストロフィン遺伝子は79のエクソンからなる巨大遺伝子

であるが、XLDCMにおける遺伝子変異はこれまでの報告(図4)ではその5'側に多く、5'側が心筋に特異的な領域と考えられてきた<sup>34)~41)</sup>。ジストロフィン遺伝子の5'端にはB型(脳型)、M型(筋型)、およびP型(プルキンエ細胞型)のプロモーターおよびそれぞれに特異的なエクソン1が存在する。Muntoniら<sup>34)35)</sup>は、M型プロモーターのエクソンM1全領域の欠失を見出し、骨格筋のみでB型、P型プロモーターが活性化し、M型の欠損を代償することで心筋が特異的に障害されると考察した。また、エクソンM1の3'端の欠失<sup>36)</sup>、イントロンM1の5'スプライシング部位の点変異<sup>37)</sup>、ヒトゲノムDNAにしばしばみられる繰り返し配列であるL1がエクソンM1に挿入されている変異<sup>38)</sup>も報告された。さらに5'端付近では、エクソン2から7を含む領域での遺伝子の重複<sup>39)</sup>、エクソン9内のミスセンス変異<sup>40)</sup>、イントロン11内へのAlu様配列の挿入によるスプライシング異常の誘導<sup>41)</sup>が報告された。その他の領域ではXLDCMのジストロフィン遺伝子変異が従来DMD、BMDにおいて遺伝子

欠失の重点領域<sup>42)43)</sup>とされてきた桿状ドメイン中央付近にも認められることが明らかにされ<sup>44)</sup>、実際には変異が同定されていないものの、エクソン27-30の領域内に小変異のある症例もジストロフィン染色などの結果から見出された<sup>45)</sup>。

Muntoniら<sup>44)</sup>はエクソン48, 49の欠失およびエクソン49から51の欠失を有する2例のDCMを報告し、エクソン49の欠失によって心筋特異的障害を呈することからエクソン49が心機能の維持にとって重要な部位であろうと推定した。また、Melaciniら<sup>46)</sup>は、BMDにおいて、エクソン48単独欠失症例では心不全の頻度は少なく、エクソン49を含む欠失症例では高頻度にDCM様病態を呈すると報告し、エクソン49の欠失と心機能障害の関連性を示唆している。本研究におけるジストロフィン遺伝子変異を伴った4症例では、いずれもこの付近での欠失であった。しかしながら、エクソン48が共通して欠失していることは、上記の報告とは異なる結果であった。5'末端付近のプロモーター領域の変異では心筋特異的なM型プロモーターのみが障害されていることから、心筋特異的な障害を生じることが説明されるが、桿状ドメイン中央部付近のエクソン欠失症例の一部がなぜ心筋に特異的な障害をもたらすかは不明である。

ジストロフィン遺伝子異常に伴うDCMの臨床的特徴はいまだ十分に明らかにされていない。本研究では、発症年齢において他のDCM症例に比し若年であった。しかし症例2のように比較的高齢になって心筋障害が見出された例も存在しており、今後の検討が必要である。ジストロフィン遺伝子異常を伴うDCMでは臨床的には明らかな四肢筋力の低下がなくても軽度ながら骨格筋障害も存在することが推測される。XLDCMでは骨格筋生検でBMD様の変化をきたしており、血清CPK値が上昇していることが報告され、血清CPK高値のDCMではジストロフィン遺伝子異常の検索をすべきだと述べられている<sup>34)~45)</sup>。本研究における検討では4例中3例で血清CPKは高値であったが、症例2においては正常であった。本例は自衛隊員で、30歳時に検診で胸部レントゲン上の心拡大と心電図異常を指摘されたがその後も通常の戦術訓練を受けており、42歳時に初めて心不全症状を発症してDCMと診断されている(図2)。このことから、臨床筋力低下がなく、血清CPK値が正常なDCMであってもジストロフィン遺伝子異常が原因であることは否定できないものと考えられた。Arbustiniら<sup>33)</sup>の報告でも、ジストロフィンの欠陥を認めた13症例中12例は血清CPK値の上昇を認め、1例は正常であった。

BMDや特にDMDにおける心臓障害においては、心筋障害が軽度であっても刺激伝導系の異常が多いといわれている。本研究においても、ジストロフィン遺伝子異常によるDCM症例全例がなんらかの伝導障害を有しており、とくに症例3では完全房室ブロックを合併していた。ジストロフィン遺伝子異常における心筋障害の特徴は未だ十分には解明されていない。Melaciniら<sup>46)</sup>は、骨格筋症状がごく軽度の若年BMD患者28例について検討したところ19例(68%)に心筋障害を認め、心エコー図検査上、初期には右室の拡大のみであるがしだいに左室の拡張と左室駆出率の低下をきたしたことを報告している。Yazakiら<sup>24)</sup>はBMD患者において胸部レ線写真上の心陰影が正常であったにもかかわらず、心エコー図検査において明らかな心機能低下が見出された症例を報告し、心エコー検査がBMDの心筋障害の評価と経過観察には最も鋭敏で有用であると述べ

ている。しかしながら、ジストロフィン遺伝子異常例とその他のDCM例の心エコー図上の差異については不明である。本研究における4名のジストロフィン遺伝子異常患者では、その他のDCM群と比較して心エコー図検査上、左室拡張末期径には差がなかったが、左室壁厚がやや薄く左室駆出率が低い傾向にあった。しかしながら、心エコー図上の左室心筋性状には特徴的所見は認められなかった。

ジストロフィン遺伝子異常に伴うDCMにおける心筋の病理組織学的変について明らかではない。DMD患者の心臓病理組織学的変化については、心筋細胞の変性および線維化が両側の心房、心室の広汎な領域で観察され、特にこうした心筋病変は左室後壁から側壁にかけて強いと報告されている<sup>47)</sup>。またYazakiら<sup>24)</sup>も、BMD患者の心筋変性は左心系に圧倒的に強いことを報告している。この理由としては、一般に筋ジストロフィーの骨格筋病変が四肢近位部の抗重力筋に優位に生じていることから、仕事量の差が筋障害の程度の違いに関与していることが推測される。したがって、左心系と右心系の筋障害における程度の相違も、体循環を担う左心系と肺循環を担う右心系の仕事量の相違に起因しているのではないかと推定される。ジストロフィン遺伝子異常に伴うXLDCMにおける心筋の病理組織学的変化も上記の特徴があると推測されるが、Arbustiniら<sup>33)</sup>はジストロフィンの欠陥が同定されたDCM患者の右心室内膜心筋生検を用いて検討したが特徴的な所見は得られなかったと報告している。今回の研究では剖検心や生検心筋組織を得ることができず、これらの点について言及することができなかった。

家族歴の検討において、症例2では兄が他院で施行された心エコー上、左室拡張末期径71mm、収縮末期径67mm、左室駆出率12%と著明な左室壁運動障害を認め、冠動脈造影上狭窄が認められないことおよびその他心筋障害を説明する病態が存在しないことから原因不明の拡張型心筋症と診断されていたが、44歳で心不全死している。症例1および症例3でも家系に若年で心不全死や突然死例が認められた。このようにジストロフィン遺伝子欠失例においては、若年発症で家系内に若年死亡例が存在していることから、早期診断と、より慎重な対応が必要と考えられた。一方、DCMにおけるジストロフィン遺伝子異常は家族内発症をもつXLDCMのみならず孤発例にも存在する<sup>48)49)</sup>。本研究においても4例のジストロフィン遺伝子異常者のうち1例は孤発例と考えられた。Arbustiniら<sup>33)</sup>は、ジストロフィンの欠陥を認めた13症例中8症例は孤発例であったと報告しており、DCMではより詳細な家系調査と検索が必要と考えられた。

DMDと異なって、BMDにおける心筋障害はその進行様式が個々の患者で非常に異なり、骨格筋障害と心筋障害の進行様式は必ずしも並行しない。心筋障害を合併したBMD患者の臨床経過は、小児期から思春期に四肢筋の萎縮と脱力で発症し、その後骨格筋障害の進行とともに心筋障害も加わり、30-40歳代までに高度な四肢筋障害に加えて難治性の心不全が出現する。これに対し病初期から心筋障害が顕著で、骨格筋障害が軽くほとんど進行しない患者が存在することが報告されてきた。Yazakiら<sup>24)</sup>はBMD患者の一部に経過中骨格筋障害がごく軽度であっても、10歳代の初診時にすでに心筋障害が存在し、以降心筋障害のみが進行する患者の存在していることを報告した。Nigroら<sup>23)</sup>も68名のBMD患者について、3年から18年の経過



観察を行い、心筋障害の頻度とその程度を検討している。彼らの報告では、臨床的に明らかな心筋障害は16歳以下でも15%存在し、本障害の頻度は40歳以上の患者では73%に達し、これらの患者の心筋病変は拡張型心筋症様であったとしている。また、骨格筋障害を初期、中期、進行期に分類して心筋障害を検討した結果では、各病期の患者における拡張型心筋症様の病変の出現頻度はそれぞれ2%、4%、49%であった。したがって彼らも、BMDでは骨格筋障害と心筋病変の進展様式が必ずしも一致せず、骨格筋障害が軽度の時期から重篤な心筋病変を示す患者がいることを強調している。そのためDCM症例のなかにも骨格筋障害が軽度のジストロフィン遺伝子異常患者が含まれている可能性が考えられる。本研究によって4例(8%)に本遺伝子異常が同定されたが、Arbustiniら<sup>33)</sup>の報告を上回り、予想以上に多い数字であった。このことから、我が国のDCM患者のなかにもジストロフィン遺伝子異常を持つ患者が多数含まれているものと推定される。本研究結果から、家系内発症例や血清CPKが高値のDCMではジストロフィン遺伝子異常を疑って積極的に遺伝子検索を行うことが重要であると思われる。一方、ジストロフィン遺伝子異常を伴うDCM症例の中には孤発例や血清CPK正常値例も認められたことから、家系内発症例や血清CPK高値が認められないDCM例でも本遺伝子異常を持つ可能性は否定できない。今後、ジストロフィン遺伝子異常によるDCM症例の臨床的特徴がさらに解明され、遺伝子治療などを含む本疾患に特異的な治療法が開発される可能性を考慮すると、今後全DCM症例に対するジストロフィン遺伝子異常のスクリーニングが重要になるであろう。

今回の研究ではChamberlainら<sup>27)</sup>とBeggsら<sup>28)</sup>のプライマーセットで合計19個のエクソンをMultiplex PCR法にて増幅した。この方法ではサザンブロット法で検出される欠失の98%が発見できることが知られている<sup>50)</sup>。しかし検出するエクソンの数が実際の1/3以下であるため、欠失を見逃す可能性は否定できない。またPCRで増幅された産物のDNA量は、鋳型となったジストロフィンのエクソンのゲノムDNA量とは関連がないため定量性がなく、したがって重複による遺伝子異常は検出できない。また本法ではエクソン内の点変異など微小な変異は同定できない。実際にはこれらの異常を見逃している可能性は否定できず、さらに多くのジストロフィン遺伝子異常患者が含まれているかもしれない。しかしながら、これらの本研究における限界を有するものの、前述のごとく本法は高感度でジストロフィン遺伝子欠失を見出すことが報告されており、男性DCM患者におけるジストロフィン遺伝子異常のスクリーニングには最も適していると考えられた。

## 結 論

日本人男性DCM患者において、ジストロフィン遺伝子欠失をM-PCR法を用いて検討し、以下の結果を得た。

1. 男性DCM患者連続50症例中、ジストロフィン遺伝子欠失が4例(8%)に同定され、比較的高率であった。
2. ジストロフィン遺伝子欠失はエクソン45-48が2症例、45-51、48-52が各々1症例ずつで、エクソン48の欠失は共通していた。
3. ジストロフィン遺伝子欠失を伴う症例は比較的若年で家族内発症を有する症例が多いが家系内に若年死亡例も多く、慎重な対応が必要と考えられた。

4. 四肢筋力は全例正常であったが、4症例中3例で血清CPKの上昇が認められた。

5. 全例心電図で伝導障害が認められたが、心エコー図検査では他のDCM例との明らかな相違点は認められず、心エコー図上の特徴は見出されなかった。

6. 孤発例や血清CPK値正常例も存在し、このようなDCMでもジストロフィン遺伝子異常の可能性があることが示唆された。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導、後校閲を賜りました恩師馬淵宏教授に深甚なる謝意を表します。また本研究を直接御指導、御教示頂きました金沢大学医学部医学科内科学第二講座清水賢巳助教授に心から謝意を表します。また御助言、御協力を頂きました金沢大学医学部医学科内科学第二講座井野秀一講師に厚く御礼申し上げます。また多大なる御協力を頂きました金沢大学医学部医学科内科学第二講座第四研究室の各位ならびに高分子DNAの採取等に際し御協力を頂いた山本幸夫氏、池多亜沙子氏、谷口尊子氏に感謝いたします。

本研究の一部は第64回日本循環器学会学術集会(2000年、大阪)において発表した。

## 文 献

- 1) Manolio TA, Baughman KL, Rodeheffer R, Pearson TA, Bristow JD, Michels VV, Abelmann WH, Harlan WR. Prevalence and etiology of idiopathic dilated cardiomyopathy (summary of a National Heart Lung, and Blood Institute Workshop). *Am J Cardiol* 69: 1458-1466, 1992
- 2) Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiomyopathy Task Force on the definition and classification of cardiomyopathies. *Circulation* 93:841-842, 1996
- 3) Michels VV, Moll PP, Miller FA, Tajik AJ, Chu JS, Driscoll DJ, Burnett JC, Rodeheffer RJ, Chesebro JH, Tazelaar HD. The frequency of familial dilated cardiomyopathy in a series of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 326: 77-82, 1992
- 4) Keeling PJ, Gang G, Smith G, Seo H, Bent SE, Murday V, Caforio AL, McKenna WJ. Familial dilated cardiomyopathy in the United Kingdom. *Br Heart J* 73: 417-421, 1995.
- 5) Grunig E, Tasman JA, Kucherer H, Franz W, Kubler W, Katus HA. Frequency and phenotypes of familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 31: 186-194, 1998
- 6) Mestroni L, Rocco C, Gregori D, Sinagra G, Lenarda AD, Miocic S, Vatta M, Pinamonti B, Muntoni F, Cafario J, McKenna WJ, Falaschi A, Giacca M, Camerini F. Familial dilated cardiomyopathy: Evidence for genetic and phenotypic heterogeneity. *J Am Coll Cardiol* 34: 181-190, 1999
- 7) Crispell KA, Wray A, Ni H, Nauman DJ, Hershberger RE. Clinical profiles of four large pedigrees with familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 34: 837-847, 1999
- 8) Krajcinovic M, Pinamonti B, Sinagra G, Sinagra G, Vatta M, Severini GM, Milasin J, Falaschi A, Camerini F, Giacca M, Mestroni L. Linkage of familial dilated cardiomyopathy to chromosome 9. *Am J Hum Genet* 57: 846-852, 1995
- 9) Bowles KR, Gajski R, Porter P, Goytia V, Bachinski L, Roberts R, Pignatelli R, Towbin JA. Gene mapping of familial

autosomal dominant dilated cardiomyopathy to chromosome 10q21-23. *J Clin Invest* 98: 1355-1360, 1996

- 10) Durand J-B, Bachinski LL, Bieling LC, Czenuszewicz GZ, Abchee AB, Yu QT, Tapscott T, Hill R, Ifegwu J, Marian AJ. Location of a gene responsible for familial dilated cardiomyopathy to chromosome 1q32. *Circulation* 92: 3387-3389, 1995
- 11) Siu BL, Niimura H, Osborne JA, Fatkin D, MacRae C, Solomon S, Benson DW, Seidman CE. Familial dilated cardiomyopathy locus maps to chromosome 2q31. *Circulation* 99: 1022-1026, 1999
- 12) Jung M, Poepping I, Perrot A, Ellmer AE, Reis A, Osterziel KJ. A family with autosomal dominant dilated cardiomyopathy maps to a novel locus in chromosome 2. *Circulation* 98: Suppl I:I-246. abstract, 1998
- 13) Oslon TM, Michels VV, Thibodeau SN, TaiY-S, Keaying KT. Actin mutations in dilated cardiomyopathy, a heritable form of heart failure. *Science* 280: 750-752, 1998
- 14) Oslon TM, Keating MT. Mapping a cardiomyopathy locus to chromosome 3p22-p25. *J Clin Invest* 97: 528-532, 1996
- 15) Kass S, MacRae C, Graber HL, Sparks EA, McNamara D, Boudoulas H, Basson CT, Baker PB 3rd, Cody RJ, Fishman MC. A gene defect that causes conduction system disease and dilated cardiomyopathy maps to chromosome 1q1-1q21. *Nat Genet* 7: 546-551, 1994
- 16) Fatkin D, MacRae C, Sasaki T, Wolff MR, Porcu M, Francaux M, Atherton J, Vidaillet HJ, Spudich S, Girolami UD, Seidman JG, Seidman CE. Missense mutation in the rod domain of the lamin A/C gene as causes of dilated cardiomyopathy and conduction-system disease. *N Engl J Med* 341: 1715-1724, 1999
- 17) Berko BA, Swift M. X-linked dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 316: 1186-1191, 1987
- 18) Muntoni F, Cau M, Ganau A, Cougiu R, Arvedi G, Mateddu A, Marrosu MG, Cianchetti C, Realdi G, Cao A. Deletion of the dystrophin muscle-promoter region associated with X-linked dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 329: 921-925, 1993
- 19) Koenig M. 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
- 20) Ervasti JM, Campbell KP. Membrane organization of the dystrophin-glycoprotein complex. *Cell* 66: 1121-1131, 1991
- 21) Konig M, Beggs AH, Moyer M, Scherpf S, Heindrich K, Bettecken T, Meng G, Muller CR, Lindlof M, Kaariainen H. The molecular basis for Duchenne versus Becker muscular dystrophy: correlation of severity with type of deletion. *Am J Hum Genet* 45: 498-506, 1989
- 22) Melacini P, Fanin M, Danielli G, Villanova C, Martinello F, Miorin M, Freda MP, Miorelli M, Mostacciolo ML, Fasoli G, Angelini C, Dalla Volta S. Myocardial involvement is very frequent among patients affected with subclinical Becker's muscular dystrophy. *Circulation* 94: 3168-3175, 1996
- 23) Nigro G, Comi LI, Politano L, Limongelli FM, Nigro V, De Rimini ML, Giugliano MA, Petretta VR, Passamano L, Restucci B.

Evaluation of the cardiomyopathy in Becker muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 18: 283-291, 1995

- 24) 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冠する臨床病理学的研究. *循環器科* 40: 143-150, 1996
- 25) Henry WL, Gardin JM, Ware JH. Echocardiographic measurements in normal subjects from infancy to old age. *Circulation* 62: 1054-1061, 1992
- 26) Vandenplas S, Wild I, Rabie AG, Brebner K, Ricketts M, Wallis G, Bester A, Boyd C, Mathew C. Blot hybridisation analysis of genomic DNA. *J Med Genet* 21: 164-172, 1984
- 27) Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier JE, Caskey CT. Multiplex PCR for the diagnosis of Duchenne muscular dystrophy. In Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds), *PCR protocols: a guide to methods and applications*, p272-281. Academic Press. New York London, 1990
- 28) Beggs AH, Kunkel LM. Improved diagnosis of Duchenne/Becker muscular dystrophy. *J Clin Invest* 85: 613-619, 1990
- 29) Beaucage SL, Caruthers MH. Deoxynucleoside phosphoramidites- a new class of key intermediates for deoxypolynucleotide synthesis. *Tetrahedron Lett* 22: 1859-1862, 1981.
- 30) Teichholz LE, Cohen MV, Sonnenblick EH, Gorlin R. Study of left ventricular geometry and function by B-scan ultrasonography in patients with and without asynergy. *N Engl J Med* 291: 1220-1226, 1974
- 31) Shiga N, Matso M, Yokoyama Y. Study on mutations affecting the muscle promoter / first exon of the dystrophin gene in 92 Japanese dilated cardiomyopathy patients. *Am J Med Genet* 23:226-227, 1998
- 32) Michels VV, Pastores GM, Moll PP, Driscoll DJ, Miller FA, Burnett JC, Rodeheffer RJ, Tajik JA, Beggs AH, Kunkel LM. Dystrophin analysis in idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Med Genet* 30: 955-957, 1993
- 33) Aubustini E, Marta D, Morbini P, Bello BD, Banchieri N, Pilotto A, Magani F, Grasso M, Narula J, Gavazzi A, Vigano M, Tavazzi L. Prevalence and characteristics of dystrophin defects in adult male patients with dilated cardiomyopathy. *Am Coll Cardiol* 35: 1760-1768, 2000
- 34) Muntoni F, Melis MA, Ganau A, Dubowitz V. Transcription of the dystrophin gene normal tissues and in skeletal muscle of a family with X-linked dilated cardiomyopathy. *Am J Hum Genet* 56: 151-157, 1995
- 35) 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
- 36) Yoshida K, 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
- 37) Milasin J, Muntoni F, Severini GM, Bartoloni L, Vatta M,

- Krajinovic M, Mateddu A, Angelini C, Camerini F, Falaschi A, Mestroni L, Giacca M. A point mutation in the 5' splicing site of the dystrophin gene first intron responsible for X-linked dilated cardiomyopathy. *Hum Mol Genet* 5: 73-79, 1996
- 38) Yoshida K, Makamura A, Yazaki M, Ikeda S, Takeda S. Insertional mutation by transposable element, L1, in the DMD gene results in X-linked dilated cardiomyopathy. *Hum Mol Genet* 7: 1129-1132, 1998
- 39) Bies RD, Maeda M, Roberds SL, Holder E, Bohlmeier T, Young JB, Campbell KP. A 5' dystrophin duplication cause membrane deficiency of alpha-dystroglycan in a family with X-linked cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 29: 3175-3188, 1997
- 40) 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
- 41) Felini A, Galie N, Merlini L, Sewry C, Branzi A, Muntoni F. A novel Alu-like element rearranged in the dystrophin gene causes a splicing mutation in a family with X-linked dilated cardiomyopathy. *Am J Hum Genet* 63: 436-446, 1998
- 42) Beggs AH, Hoffman EP, Snyder JR, Arahata K, Specht L, Shapiro F, Angelini C, Sugita H, Kunkel LM. Exploring the molecular basis for variability among patients with Becker muscular dystrophy: dystrophin gene and protein studies. *Am J Hum Genet* 49: 54-67, 1991.
- 43) Forrest SM, Cross GS, Flint T, Speer A, Robson KJ, Davies KE. Further studies of gene deletions that cause Duchenne and Becker muscular dystrophies. *Genomics* 2: 109-114, 1998
- 44) Muntoni F, Di Lenarda A, Porcu M, Sinagra G, Mateddu A, Marrosu G, Ferlini A, Cau M, Milasin J, Melis MA, Marrosu MG, Cianchetti C, Sana A, Falaschi A, Camerini F, Giacca M, Mestroni L. Dystrophin abnormalities in two patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Heart* 78: 608-612, 1997
- 45) Franz WM, Cremer M, Herrmann R, Grunig E, Fogel W, Scheffold T, Goebel HH, Kircheisen R, Kubler W, Voit. X-linked dilated cardiomyopathy. Novel mutation of the dystrophin gene. *Ann N Y Acad Sci* 752: 470-491, 1995
- 46) Melacini P, Fanin M, Danieli GA, Fasoli G, Villanova C, Angelini C, Vitiello L, Miorelli M, Buja GF, Mostacciuolo ML. Cardiac involvement in Becker muscular dystrophy. *J Am Coll Cardiol* 22: 1927-1934, 1993
- 47) Ferras VJ, Boyce SW. Metabolic and familial diseases. In Silver MD (eds), *Cardiovascular Pathology*, Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, Vol.2, p.945-950, 1983
- 48) 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
- 49) Piccolo G, Azan G, Tonin P, Arbustini E, Gavazzi A, Mora M, Morandi L. Dilated cardiomyopathy requiring cardiac transplantation as initial manifestation of Xp21 Becker type muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 4: 143-146, 1994
- 50) Beggs AH, Koenig H, Boyce FM, Kunkel LM. Detection of 98% of DMD/BMD gene deletions by polymerase chain reaction. *Hum Genet* 86: 45-48, 1990

#### Molecular Genetic Analysis of Dilated Cardiomyopathy Associated with Mutations in the Dystrophin Gene

Toshihiko Yasuda, The Second Department of Internal Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 — *J. Juen Med Soc.*, 110, 96 — 105 (2001)

**Key words** dilated cardiomyopathy, Becker's muscular dystrophy, dystrophin gene, gene mutation

#### Abstract

According to recent genetic analysis, it has been reported that Becker's muscular dystrophy shows mild or subclinical skeletal muscle involvement with overt dilated cardiomyopathy (DCM). Therefore, it was supposed that the patients associated with mutations in the dystrophin gene without overt skeletal muscle involvement must be consisted in those diagnosed as DCM. The patients with DCM were screened to detect the deletion mutation in the dystrophin gene and their clinical characteristics were analyzed. Fifty consecutive male patients with DCM were enrolled for this study. All patients were evaluated by ultrasound echocardiography (UCG) and 44 patients (88%) were undergone to the coronary angiography. Serum sample was obtained from peripheral blood in all patients. Genomic DNA was amplified by multiplex polymerase chain reaction for screening the deletion mutation in the dystrophin gene. Deletion in the dystrophin gene was detected in 4 patients (8%). Two patients had the deletion of exon 45-48, the other had the deletion of exon 45-51, 48-52 respectively. In these patients, 1) Mean age was lower (44 years) than the other DCM patients (60 years). 2) Three (75%) had family history of DCM or sudden cardiac death in young age. 3) Mean serum creatine phosphokinase was higher (670 IU/l) than in the other DCM patients (107 IU/l). 4) All four patients showed conduction disturbances on electrocardiogram. 5) There was no significant difference of UCG data including ejection fraction. The rate of patients with deletion mutation in the dystrophin gene in this study was more frequent than in the previous reports. The patients with DCM associated with mutation in the dystrophin gene tend to be young and to have a family history of young cardiac death.