

20020587

厚生労働科学研究研究費補助金

効果的医療技術の確立推進臨床研究事業

小児期発症のミトコンドリア脳筋症に対するL-アルギニン
およびジクロロ酢酸療法の効果判定と分子病態を踏まえた
新しい治療法開発に関する臨床研究

平成 14 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 古賀靖敏

平成 15 (2003) 年 4 月

目 次

I 総括研究報告	
小児期発症のミトコントリア脳筋症に対する L-アルギニンおよびシクロロ酢酸療法の効果判定と分子病態を踏まえた新しい治療法開発に関する臨床研究に関する研究	1
古賀靖敏	
(資料)日本におけるミトコントリア脳筋症の発症頻度に関するアンケート調査用紙	
II 分担研究報告	
1 小児期発症のミトコントリア脳筋症筋生検症例の臨床的、病理学的、遺伝学的解析に関する研究	11
後藤雄一	
2 小児期発症のミトコントリア脳筋症に関する臨床的研究に関する研究	13
二瓶健次	
3 ミトコントリア異常症におけるシクロロ酢酸(DCA)治療の検討に関する研究	17
桃井真里子	
4 小児期発症のミトコントリア脳筋症の病態に関する研究	20
杉江秀夫	
5 Leigh 脳症 60 例におけるピルヒン酸代謝障害に関する研究	23
内藤悦雄	
6 近赤外分光法によるミトコントリアミオパチー患者の筋血流、酸素摂取率に関する研究	26
萩野谷和裕	
7 卒中様発作の臨床的分析と低Na血症に関する研究	31
田辺雄三	
8 ミトコントリア脳筋症におけるクレアチン治療の現状に関する研究	40
中野和俊	
9 高乳酸血症と脳卒中様症状を伴うミトコントリア脳筋症の臨床的研究に関する研究	43
松岡太郎	
10 ミトコントリア異常を持つ培養細胞における動態変化に関する研究—細胞内活性酸素発現変化及び遺伝子発現変化—	45
馬嶋秀行	
11 小児の血管内皮機能に関する研究	50
石井正浩	
III 研究成果の刊行に関する一覧表	55
IV 研究成果の刊行物 別刷	63

總 括 研 究 報 告

小児期発症のミトコントリア脳筋症にたいするL-アルギニンおよびシクロロ酢酸療法の効果判断と
分子病態を踏まえた新しい治療に関する研究

主任研究者 古賀 靖敏 久留米大学医学部小児科助教授

研究協力者 秋田幸大、植木勲、西岡淳子、平田孝治、石田香織、西村美紀、久木原博子

研究要旨 ミトコントリア病は、エネルギー産生障害を来し、種々の症状を呈するヒトで最も多い遺伝病である。小児の難病であるにもかかわらず、我が国における本症の診断基準は未だ確立されたものは無く、また本邦における効果的な診断法、および治療方針もない。本研究は、ミトコントリア病の新しい治療法の研究開発が主たる目的である。日本における本症の診断基準、治療指針を策定し、ミトコントリア脳筋症の治療薬開発の為、まず本邦における患者数を把握する意味で、Nation-wide の疫学調査を行った。二次調査では、診断基準、治療指針を策定するためのデータベースとなるような調査項目を作成している。ミトコントリア病の効果的診断システムを確立するために、日本で2カ所のミトコントリア病研究センター（仮称）を設定した。臨床的、病理学的、生化学的、遺伝子検索のすべてが行えるシステムを構築している。また、診断システムの国際的標準化も国際的に進んでいる。新薬開発として、今まで治療法の無かった MELAS 急性期発作に対するL-アルギニン療法を開発し、小規模治験ネットワークを構築、Orphan drug としての申請準備が整った。この治療法は、国際特許を取得しており（古賀靖敏、味の素ファルマ社特許#2002 299575）、主任研究者をプロジェクトリーダーとして日米伊三国での国際共同治験研究へと発展している。高乳酸血症に対するDCA（シクロロ酢酸ナトリウム）療法は、米国での大規模治験の結果、ミトコントリア脳筋症には効果無しという結論が出ているようだが、日本での治験研究に関しては、現在検討中である。今後、MELAS、Leigh 脳症の2病型における日本での診断基準、重症度分類、治療指針に関し、研究を進めていく予定である。

A 研究目的

ミトコントリア病は、ミトコントリアエネルギー産生系の異常により発症する遺伝病であり、現在ではヒトの遺伝性疾患としては最も頻度の高いものと考えられている。そのほとんどは小児期に発症するため、本症は小児科医が日常診療の中で遭遇する病気である。その遺伝的および生化学的異常は、これまでの多くの研究により明らかにされてきている。しかしながら、本症が小児の難病

であるにもかかわらず、我が国を含め世界における本症の診断基準は未だ確立されたものは無く、また効果的な治療方針も決められてはいない。このような状況の中で、本症の効果的診断法を確立し、有効な治療指針を決定する事は、現行の医療制度の中では、社会的医療援助が受けられていない病気に苦しむ患者に光明を与え、後遺障害を予防出来、ひいては日本国の医療費削減に寄与できるものであり、一日も早いミトコントリア病の治

療環境の整備が必要である。申請者らは、脳卒中を来す病型でシクロロ酢酸か症状の軽減につながる事を見出し報告した (Saitoh S et al Neurology 50 531 534, 1998)。また、申請者は、ミトコントリア病では、スーパーオキシサイトが蓄積しそれが酸化ストレスとなり、血管内皮機能の障害と mtDNA 障害を来すことを見いたした。血管内皮機能の改善のために抗酸化剤を投与したところ、患者の血管内皮機能の改善のみでなく、けいれんの消失と共に患者の QOL が有意に改善する事を見いたした。また、脳卒中を来すミトコントリア病の急性期に L-アルギニンを投与し、速やかに脳卒中症状が改善したことを報告した (Koga Y et al Neurology 58 827 828, 2002)。この治療法は、脳卒中を来すミトコントリア病の急性期治療に特効的効果があり、現在小規模多施設研究中であり、Orphan drug として承認申請予定である (2003年5月)。今までに、ミトコントリア病の治療に様々な薬物が試みられているが、未だはっきりした効能評価を受けていない。本研究では、新しい治療法の研究開発を目的に、まず、全国疫学調査を行い我が国における小児期発症のミトコントリア病患者の実数を把握する。現在、臨床症状を標準化した上で、その診断基準および重症度分類、治療指針を作成し、小児慢性特定疾患対象疾病としての治療環境を整備する

出来るように現在研究を進めている。この研究は、病気で苦しむ多くの患者の医療環境の整備に直接つなかり、患者およびその家族の福祉の向上に寄与できるものである。

B 研究方法

1 ミトコントリア病の分子基盤の解明

患者の遺伝子変異、臓器分布、家系検索による臨床スペクトルの解析、遺伝子異常と臨床型の関連、生化学的機能解析、細胞バンクの設立 (培養皮膚線維芽細胞、EB トランスフォームしたリンパ球、培養筋細胞など)。

2 全国規模でのミトコントリア病疫学調査 (患者数の把握、病型、診断方法、現在の治療法に関しアンケート調査 添付資料) を行った。その結果、入院 200 床以上の 2236カ所の病院にアンケート調査を実施し、46.7%の回収率を得た (小児科 51.2%、神経内科 38.2%)。日本では、719症例のミトコントリア脳筋症患者が存在し、その408例は、小児科で残りは神経内科でフォローされている事が判明した。現在2次調査を送付し、小児期発症のミトコントリア脳筋症のうち、MELAS および Leigh 脳症の2病型に関し、診断基準策定および重症度分類を作成する予定である (図1、図2)。

3 治験対象患者プロフィールの確定と、インフォームト Consent、およびレンストリー作成。

レンストリーを行う患者は、欠損遺伝子の同定、電子伝達系酵素活性のレベル、臓器内変異遺伝子の分布などが確定していることか、その後の治療の効果判定を行う上で重要である。

4 種々の治療方法について臨床的、実験生物学的、薬理的、および生化学的にその作用基盤について検討する

現在までに、ミトコントリア病に関しコエンザイム Q (Q10, ubiquinone, ubidecarenone, idebenone)、menadione, riboflavin、コハク酸、ニコロ酢酸 (dichloroacetate)、L-アルギニン療法、抗酸化剤 (ビタミンC、ビタミンEもしくはその両者)、カルニチン、ステロイド、クレアチンなどが投与されてきた。今回、その使用されるに至った理論的根拠を生化学的基盤を踏まえて、臨床使用例を再評価する (EBM に基づく評価)。ここで、2重盲検による治験プロトコールを作成した。

5 患者における酸化的ストレス (NO_x、8-OH deoxyguanosine、mtDNA deletion など) の解析

実際のミトコントリア病患者での酸化ストレスの指標、薬物による治療効果について検討する。また、ミトコントリア細胞モデルを用いて効果判定を行う。さらに、放射線障害に対する感受性についても評価した。

6 ミトコントリア病診断ネットワークの構築。

(倫理面への配慮)

研究に先立ち、患者には研究の目的および、主旨を十分に説明し、同意が得られた場合のみ、研究に使用する。疫学調査に関しては、指針に準拠して行う。また、多施設共同研究の場合は、基本内容を一致させた上で研究参加施設の倫理委員会の承認を得る。遺伝子解析研究に関しては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守する。

C 研究結果

①ミトコントリア病に対する薬物治療に関して、申請者らは 脳卒中を来す病型で L-アルギニン (Koga Y et al Neurology 58 827 828, 2002) か、ミトコントリア病の病状進展防止に効果があることを見出した。MELAS の急性期の治療薬として有効な L-アルギニンは、日本の古賀靖敏医師をプロジェクターとして、味の素株式会社製造元、スウエーデンのヤンセンオーファン社を発売元として、日本、米国、イタリアの3カ国で Orphan drug 申請を前提とした国際共同治験研究として発展している (図3, 図4)。②治療に関して「ミトコントリア機能異常に起因する疾患における臨床症状発現の予防・治療的組成物」出願番号 特許 2002-299575 として特許を取得した。③ミトコントリア病の診断基準は、世界的に各々の国で認定されたものはなく、この点、世界的に標準化した診断・治療法を策定するために、日本、米国、ヨーロッパを中心に、国際的に統一した診断基準・検索方法を決定するためのカンファレンスを計画している。④世界で初めてミトコントリア脳筋症の Nation-wide survey を行った。日本における本症の発症頻度に関して現在報告中である。⑤ミトコントリア脳筋症では、血管内皮機能の著明な障害が存在することが判明した (図5, 図6)。

D 考察

1) ミトコントリア脳筋症 (MELAS) 急性期発作における L-アルギニン療法の Orphan drug 国内申請

ミトコントリア病に対する薬物治療に関して、申請者らは、脳卒中を来す病型で L-アルギニン (Koga Y et al Neurology 58 827 828, 2002) が、ミトコントリア病の病状進展防止に効果があることを見出した。MELAS の急性期の治療薬として有効な L-アルギニンを Orphan drug としての申請に向けて、全国 6 カ所における小規模治験ネットワークを組織した。その結果、MELAS 急性期発作における L-アルギニン療法 5 例の急性期治療の症例を確保した。今後、Orphan drug 申請が受理され次第、日本における大規模治験を行う予定である。

2) ミトコントリア脳筋症 (MELAS) 急性期発作における L-アルギニン療法の Orphan drug 国際治験

MELAS の急性期の治療薬として有効な L-アルギニンは、日本の古賀靖敏医師をプロジェクターとして、味の素株式会社製造元、スウエーデンのヤンセンオーファノ社を発売元として、日本、米国、イタリアの 3 カ国で Orphan drug 申請を前提とした国際共同治験研究として発展している。平成 15 年度は、この計画を押し進める。

3) ミトコントリア病の診断基準・診断方法の国際的標準化

ミトコントリア病の診断基準・診断方法は、世界的に各々の国で認定されたものはなく、この点、世界的に標準化した診断・治療法を策定するために、日本、米国、ヨーロッパを中心に、国際的に統一した診断基準・検索方法を決定するためのカンファレンスを計画している。

4) 世界で初めてミトコントリア脳筋症の一次調査による Nation wide survey を行った。日本における本症の発症頻度に関して現在報告中である。また、二次調査により、より臨床的な検索を行い、病気のステーション分類を行い、公的医療援助

の方向性を検討する。

5) ミトコントリア脳筋症の成人特定疾患への医療支援事業

入院 200 床以上の 2236 カ所の病院にアンケート調査を実施し、46.7% の回収率を得た (小児科 51.2%、神経内科 38.2%)。その結果、日本では、719 症例のミトコントリア脳筋症患者が存在し、その 408 例は、小児科で残り神経内科でフォローされている事が判明した。現在 2 次調査を送付し、小児期発症のミトコントリア脳筋症のうち、MELAS および Leigh 脳症の 2 病型に関し、診断基準策定および重症度分類を作成している。小児期発症した MELAS は、成人期に達しており、成人特定疾患への医療支援事業が必要である。

6) 市民公開講座、医師への啓蒙活動

病気の診断、社会援助を得るためにも本症の啓蒙活動が必要であり、今後啓蒙活動を広く行っていく。

E 結論

日本における本症の診断基準、治療指針を策定し、ミトコントリア脳筋症の治療薬開発の為、まず本邦における患者数を把握する意味で、Nation-wide の疫学調査を行った。二次調査では、診断基準、治療指針を策定するためのデータベースとなるような調査項目を作成している。ミトコントリア病の効果的診断システムを確立するために、日本で 2 カ所のミトコントリア病研究センター (仮称) を設定した。臨床的、病理学的、生化学的、遺伝子検索のすべてが行えるシステムを構築している。また、診断システムの国際的標準化も国際的に進んでいる。新薬開発として、今まで治療法の無かった MELAS 急性期発作に対する L-アルギニン療法を開発し、小規模治験ネットワークを構築、Orphan drug としての申請準備が整った。この治療法は、国際特許を取得しており (古賀靖敏、味の素ファルマ社特許 # 2002 299575)、主任研究者をプロジェクトリーダー

一として日米伊三国での国際共同治験研究へと発展している。高乳酸血症に対するDCA（シクロ酢酸ナトリウム）療法は、米国での大規模治験の結果、ミトコントリア脳筋症には効果無しという結論が出ているようだが、日本での治験研究に関しては、現在検討中である。今後、MELAS、Leigh 脳症の2病型における日本での診断基準、重症度分類、治療指針に関し、研究を進めていく予定である。

F 健康危険情報

特になし

G 研究発表

1 論文発表

- 1) Koga Y, Ishibashi Masatoshi, Ueki Isao, Yatsuga Shuichi, Fukiyama Ryo, Akita Yukihiko, Matsuishi Toyojiro Effects of L-arginine on the acute phase of strokes in three patients with MELAS Neurology 58 287-288, 2002
- 2) Koga A, Koga Y, Akita Y, et al Mitochondrial RNA processing intermediates showed dominant negative effects in mitochondrial myopathies Neuromuscular Dis 13 259-62, 2003

2 学会発表

- 1) Koga Y, Koga A, Akita Y, et al Mitochondrial RNA processing intermediates showed dominant

negative effects in mitochondrial myopathies International Congress of Neuromuscular Disorders Vancouver, Canada July 6, 2002

- 2) Koga Y, Koga A, Akita Y, Ueki I, Fukiyama R, Matsuishi T L-arginine ameliorates the cerebral hemodynamics in the acute episodes of MELAS 127th American Neurological Association Annual meeting, New York, NY USA October 15 2002
- 3) 古賀靖敏 ミトコントリア DNA とその機能、第43回日本歯科放射線学会総会、ワークショップ8「細胞放射線感受性変化におけるミトコントリアの役割」、平成14年10月18日、長崎

H 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1 特許取得

「ミトコントリア機能異常に起因する疾患における臨床症状発現の予防・治療的組成物」出願番号 特許 2002-299575 として特許を取得した。

2 実用新案登録

なし

3 その他

なし

【添付資料】

整理番号 _____

ミトコンドリア病に関する全国疫学調査

病院名 _____ 診療科 (小児科、内科、神経内科)

記入者 _____ 職名 _____

ミトコンドリア病のサブタイプ別患者数 計 _____ 名

1) MELAS _____ 名

2) Kearns-Sayre 症候群 (CPEO) _____ 名

3) MERRF _____ 名

4) Leigh 脳症 (MILS) もしくは NARP _____ 名

5) Pearson 症候群 _____ 名

6) MNGIE 症候群 _____ 名

7) LHON (レーバー遺伝性視神経萎縮症) _____ 名

8) DM/deafness _____ 名

9) 精神異常を伴う他の病型 _____ 名

10) 精神運動発達遅滞を伴う他の病型 () _____ 名

11) 分類不能の病型 () _____ 名

12) 電子伝達系酵素異常を伴う他の病型

complex I _____ 名

complex II _____ 名

complex III _____ 名

complex IV _____ 名

complex V _____ 名

複合欠損症 _____ 名

13) 核の遺伝子異常が判明したミトコンドリア病患者数 _____ 名

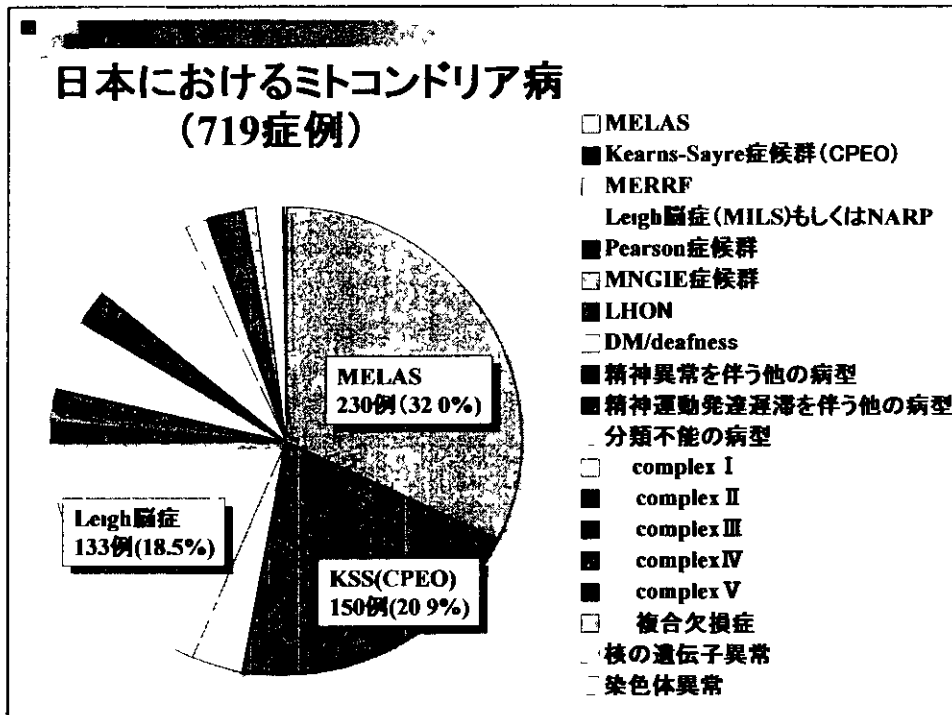
14) 染色体異常を伴うミトコンドリア病患者数 _____ 名

ミトコンドリア病に関する全国疫学調査 一次アンケート

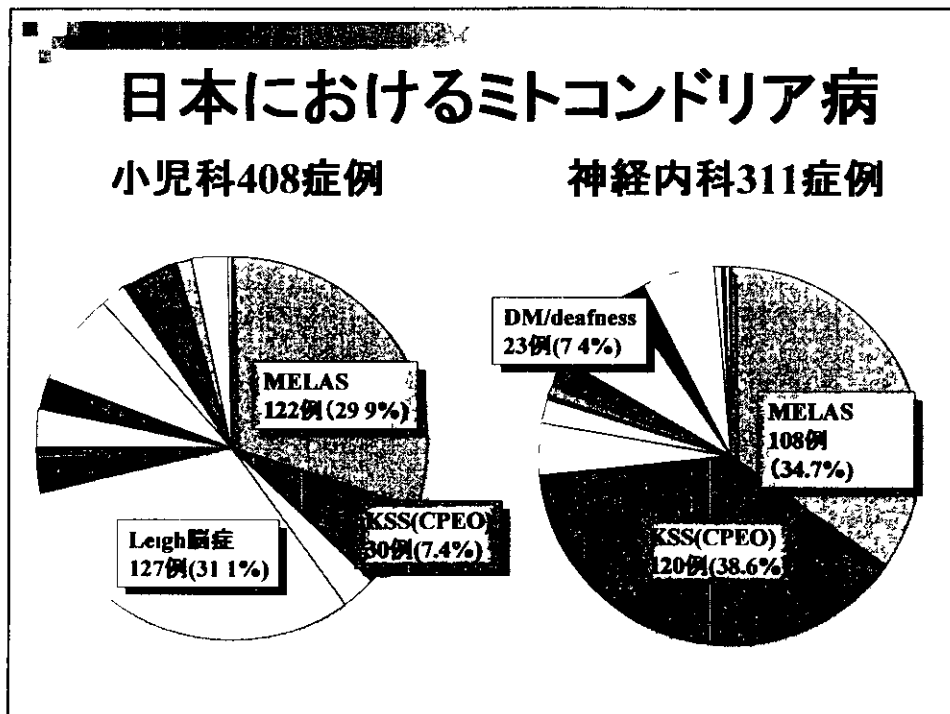
研究班班長 久留米大学医学部小児科 古賀靖敏

〒830-0011 福岡県久留米市旭町 67 Fax 0942-38-1792

【図1】



【図2】

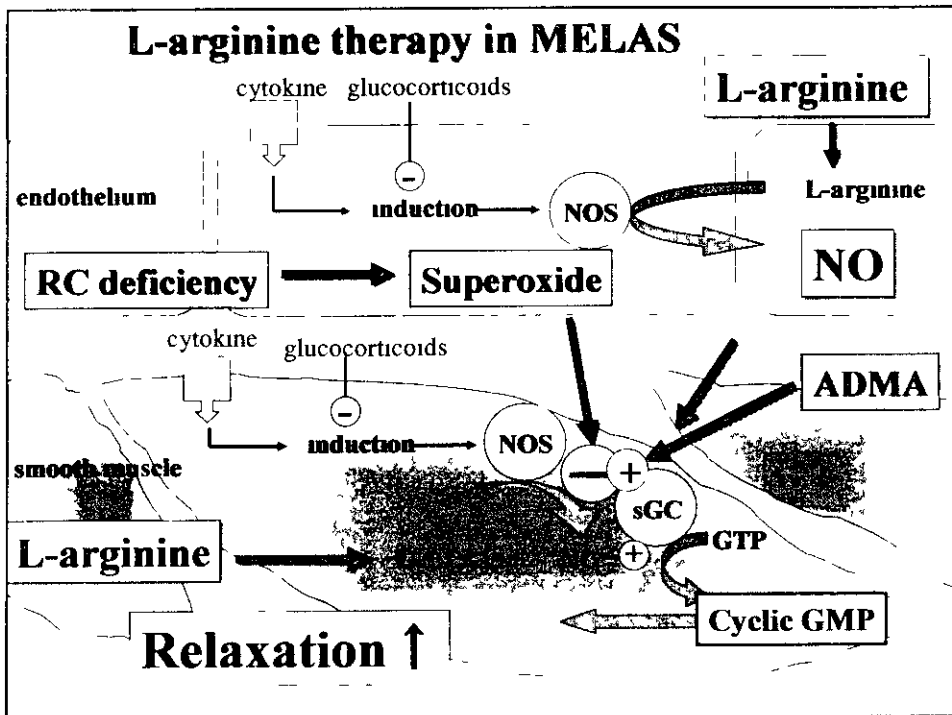


【143】

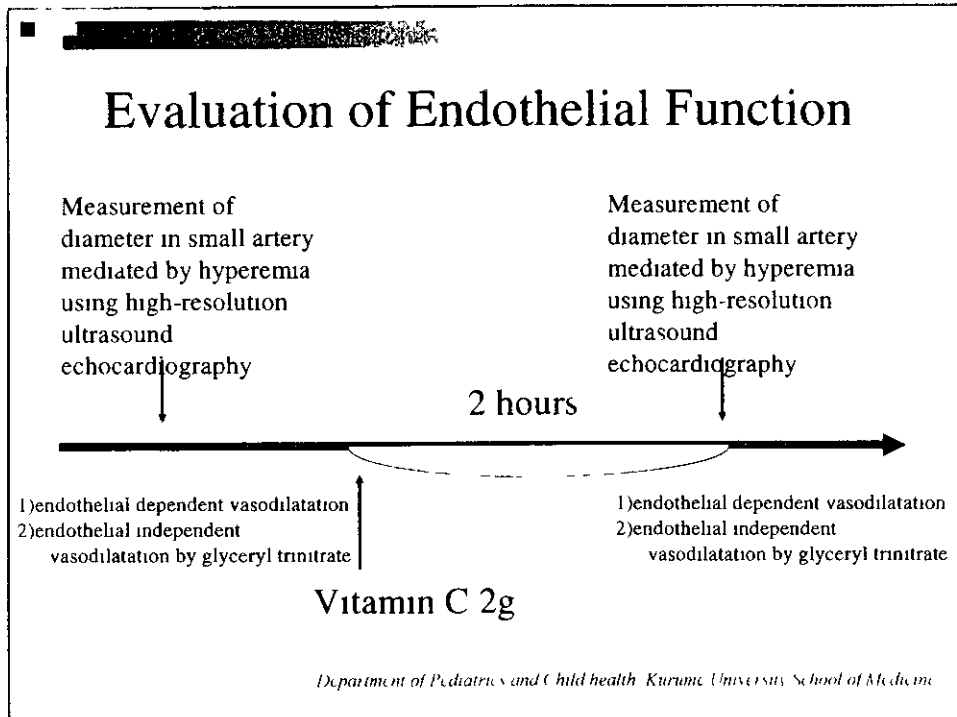
L-アルギニンがMELASに有効と考えた理論的根拠

- 1) 筋肉内中小動脈にSSV(strongly SDH reactive blood vessels)が観察され、電子顕微鏡的観察で異常ミトコンドリアが中膜平滑筋層および血管内皮細胞に存在する。
- 2) 脳内中小動脈の閉塞性病変がセグメント的に存在する(剖検症例での報告)。
- 3) 電子伝達系酵素活性低下による活性酸素化合物の蓄積でNOの相対的低下が存在する。
- 4) L-アルギニンは、血管内皮機能における動脈の拡張機能に中核的役割を担う。
- 5) MELAS発作時ではL-アルギニンが有意に低値である。
- 6) MELASでは血管内皮機能不全が存在する。

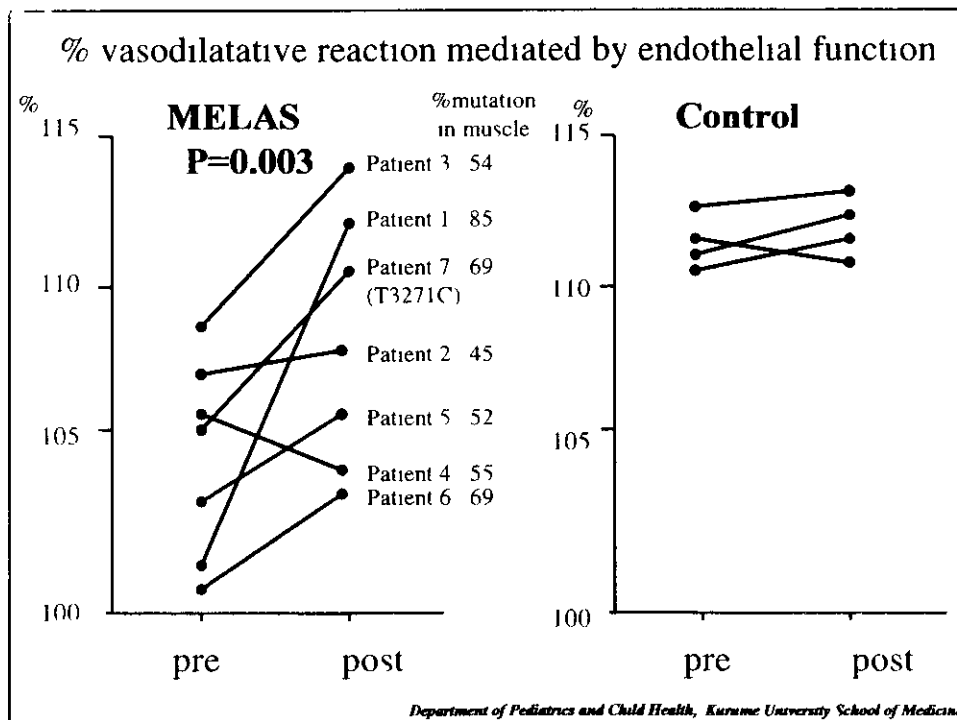
【144】



【表 5】



【表 6】



分 担 研 究 報 告

厚生労働科学研究費補助金（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業）
分担研究報告書

小児期発症のミトコントリア脳筋症筋生検症例の臨床的、病理学的、遺伝学的解析
—ミトコントリア DNA 全周シーケンスによる病因検索—

分担研究者 後藤雄一 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第二部部长

研究協力者 小牧宏文、三牧正和、赤沼 順、加藤万由子、湯浅宗光
国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第二部

研究要旨

(1) シクロロ酢酸 (DCA) の投与により症状の増悪を呈したと考えられる Leigh 脳症の 1 女児例を報告した。Leigh 脳症の原因、重症度は様々であり、早期発症例など症例によっては DCA の投与により病状の悪化を来す危険性が考えられ慎重な投与が必要と考えられる。

(2) *in vitro* での薬物効果についてミトコントリア障害を持つ細胞を用いて細胞内カルシウム濃度を指標にして検討した。この方法を応用する事で病的細胞と正常細胞の比較を行い、臨床応用への基礎データを提供できる可能性がある。

A 研究目的

ミトコントリア DNA の変異には、大きく分けて量的異常と質的異常がある。量的異常とは、1 細胞内に数千コピー存在しているミトコントリア DNA のコピー数が減少することによって起こる病態であり、最近 Thymidine phosphorylase、Thymidine kinase、Deoxyguanosine kinase 等の核 DNA にコートされている遺伝子の変異が報告されている。一方、質的異常には、欠失・重複（構造異常）と点変異があり、病的点変異は現在までに蛋白コート領域で 40 個あまり、リボソーム RNA と転移 RNA 領域で 50 個あまり知られている。特徴的な事は、同じ点変異でありながらまったく異なる臨床型を示したり、逆に別の点変異が類似した表現型を示したりすることが知られているものの、ミトコントリア DNA 全周の塩基配列を調べることは、ルーチン検査として行われていない。そこでわれわれは、ミトコントリア DNA 全周塩基配列の決定法を改良し、短時間で結果を得られる方法を樹立し、実際に興味深い 2 つの点変異について新しい知見を得たので、報告する。

B 研究方法および結果

1 ミトコントリア DNA 全周のシーケンス
調べたいミトコントリア DNA を、まず、全体を 2 分割出来るプライマーを用いた long PCR 法で増幅する。この 2 組のプライマーでは、ローゼロ細胞から産物ができないことを確認してある（核 DNA に存在するミトコントリア DNA 類似配列の増幅を否定）。そこで、得られた 2 つの PCR 産物（11.2 kb、6.5 kb）を鋳型にして、96 反応のサイクルシーケンスを行い、ABI3700 で塩基配列を決定した。これにより、1 回の泳動でミトコントリア DNA の全周の配列

を決定できた。

2 複合体 I 欠損症を示した Leigh 脳症の 2 例
Leigh 脳症患者の骨格筋を用いて、上記方法によるミトコントリア DNA の塩基配列決定を行ったところ、ND4 サブユニットの 11777 塩基に、C から A への置換をヘテロプラスミーで認めた。この変異により ND4 の 340 番目のアルギニンがセリンに置換するか、興味深いことに同じアミノ酸は遺伝性視神経萎縮症（レーヘル病）でもっとも頻度の高い 11778 変異ではヒスチジンに置換するものであった。両者の電子伝達系機能に及ぼす影響を比較するために、サイプリントを用いた研究を行ったところ、11777 変異の方が 11778 変異と比較して、複合体 I 活性を強く低下させることが判明した。

2 11778 変異と 12192 変異を併せ持ったレーヘル病+心筋症の症例

患者は 51 歳の女性で、46 歳で糖尿病を発症、50 歳で高血圧、腎不全、51 歳で急性の視力低下と肥大型心筋症を呈した。患者の血液から、レーヘル病で良く認める 11778 変異 (ND4 領域内) と同時に、12192 変異 (ヒスチジン転移 RNA 領域) をホモプラスミンクに認めた。

D 考察

1 核 DNA に存在するミトコントリア類似配列の増幅を除外し、真にミトコントリア DNA の塩基配列を決定する方法を確立した。

2 11777 変異をもつ Leigh 脳症患者を発見した。同じアミノ酸が変異するにもかかわらず、11777 は Leigh 脳症の表現型、11778 はレーヘル病の表現型をとる理由は不明である。

3 12912 変異はすでに心筋症患者で比較的頻度の高い変異として報告されていた (Shin, et al Am J Hum Genet 67 1617, 2000)。レーヘル病に心筋症を発症した症例の報告がなく、こ

の患者の心筋症発症には12912変異が深く関わっている可能性がある。また、糖尿病や腎病変には、11778変異と12912変異の相乗効果による可能性も考えられた。

E 結論

ミトコンドリア DNA 全周の塩基配列を迅速に決定する方法を確立した。この方法を用いることで新しい変異を持つ例の発見ができるなど、ミトコンドリア DNA 点変異の持つ医学的意味を研究する重要な手段になる。

F 研究発表

1 論文発表

【原著】

英文

- 1 Komaki H, Fukazawa T, Houzen H, Yoshida K, Nonaka I, Goto Y A novel D104G mutation in the adenine 1 gene in autosomal dominant progressive external ophthalmoplegia patients with mitochondrial DNA with multiple deletions *Ann Neurol* 2002 , 51 645-648
- 2 Ikezoe K, Nakagawa M, Chuanzhu Yan, Kira J, Goto Y, Nonaka I Apoptosis is suspended in muscle of mitochondrial encephalomyopathies *Acta Neuropathol* 2002 , 103 531-540
- 3 Yamasoba T, Goto Y, Oka Y, Nishino I,

Tsukuda K, Nonaka I Atypical muscle pathology and a survey of cis-mutations in deaf patients harboring a 1555 A-to-G point mutation in the mitochondrial ribosomal RNA gene *Neuromuscular Disorders* 2002,12 506-512

4 Fujitake J, Mizuta H, Fujii H, Ishikawa Y, Sasamoto K, Goto Y, Nonaka I, Tatsuoka Y Leber's hereditary optic neuropathy with intracranial arteriovenous malformation a case report *Acta Neurol Belg* 2002,102(2) 82-6

5 Mimaki M, Ikota A, Sato A, Komaki H, Akanuma J, Nonaka I, Goto Y A double mutation (G11778A and G12192A) in mitochondrial DNA associated with Leber's hereditary optic neuropathy and cardiomyopathy *J Hum Genet* 2003,48(1) 47-50

6 Sakuta R, Honzawa S, Murakami N, Goto Y, Nagai T Atypical MELAS associated with mitochondrial tRNA(Lys) gene A8296G mutation *Pediatr Neurol* 2002 Nov,27(5) 397-400

7 Komaki H, Akanuma J, Iwata H, Takahashi T, Mashima Y, Nonaka I, Goto Y (2003) A Novel mtDNA C11777A Mutation in Leigh Syndrome *Mitochondrion* 2002 2 293-304

小児期発症のミトコントリア脳筋症 30 症例の臨床的研究

分担研究者 二瓶健次 国立成育医療センター神経内科 医長

研究要旨 ミトコントリア脳筋症の治療、ケアへの示唆を得る目的で、これまでわれわれが経験してきたミトコントリア脳筋症の 30 例について臨床症状を概観した。内訳は MELAS15 例、MARF1 例、KSS1 例、Leigh7 例、その他 3 例、分類不能 3 例であった。発症後の臨床症状は多彩で、MELAS については 55 回の発作症状の誘因について検討した。治療は CoQ10、アハン、ビタミン剤 (B1,B2,C,H など)、ステロイド、シクロ酢酸などが用いられた。死亡は 8 例で、腎不全、心不全が多い。

A、研究目的

これまでわれわれが経験してきたミトコントリア脳筋症についてその臨床症状を概観することにより、今後の治療、ケアへの示唆を得ることを目的とした。

B、研究方法ならびに対象

国立小児病院神経科、国立成育医療センター神経科に入院した 30 例について検討した。臨床症状による内訳は表 1 に示したごとく、MELAS が 15 名(男 7 名、女 8 名)で最も多く、Leigh 脳症が 7 名で、MERRF・KSS がそれぞれ 1 名ずつであった。両側の基底核の低吸収域を認め、発達遅滞や痙攣を認め臨床的に Leigh 脳症が疑われた症例に関しては確定診断がなされないのを除外した。CPT(carnitine parmitoyle transefrase 欠損症や CCO (cytochrome C)欠損症の良性タイプをその他として分類し、血清や髄液にて乳酸値が高値を示し臨床的にはミトコントリア脳筋症が強く疑われたものの筋生検でミトコントリア異常を認めなかった症例を分類不能とした。この中で同胞かミトコントリア病である症

例は MELAS の 3 組 6 症例と CCO 欠損症の 1 組 2 症例の計 8 症例であった。母親の狭心症などの心疾患が 3 例、網膜色素変性症が 1 例、また流産既往は 4 例に認めた。その他、父親の難聴、母方祖母の難聴が各 1 例あり、また MELAS の症例については承諾を得られた母親の糖負荷試験をおこない、約半数の症例で糖尿病性パターンを認めた。

C、研究結果ならびに D、考察

各病型における平均初発年齢は Leigh 脳症が最も低く 11 ヶ月、MELAS では兄弟例のため妊娠中から当院産婦人科・新生児科とともにフォローしていた症例が出生時の乳酸値および遺伝子検索から診断した症例もあった。初診時の主訴を病型ごとに表 2 にまとめた。どの病型でも筋症状での受診例は少なく、MELAS では痙攣、低身長、頭痛嘔吐発作、閃輝性暗転を、Leigh 脳症では痙攣、発達遅滞を主訴とする症例が多かった。小脳症状や斜視、眼瞼下垂にて眼科から紹介される症例もあった。

【表 1】 研究対象症例

病型	男	女	合計 (名)
MELAS	7	8	15
MERRF	1	0	1
KSS	0	1	1
Leigh 脳症	3	4	7
その他	2	1	3
分類不能	1	2	3
合計 (名)	15	15	30

【表 2】 各病型における初発症状

	MELAS	MERRF	KSS	Leigh	その他	分類不能
筋力低下・易疲労性	3				1	1
発達遅滞・知的退行	4			5		1
呼吸障害				1	1	
痙攣・ミオクローヌス	5			4	1	
哺乳障害・嚥下障害	1				2	
頭痛嘔吐発作	4					
低身長・多毛	5		1			1
視覚異常	3					
小脳症状		1				1
眼球運動障害・眼瞼下垂	1		1	1		2
症状なし	2			1	1	
合計人数	15	1	1	7	3	3

経過中に出現した症状を表 3 にまとめた。筋症状、知的障害 (退行)、痙攣はどの病型でも多くの症例で認めた。MELAS では腎障害、眼症状、難聴が 15 症例中 10 例で、心筋症や WPW 症候群などの心機能障害は約半数で認め、全身の管理が必要であった。Leigh 脳症では呼吸障害を約半数で認めた。小脳症状や、末梢神経障害、コントロール困難な糖尿病の合併例もあった。

なお、MELAS における計 55 回の発作に

ついて、その誘因を調べたか、何らかの感染か 10 回、運動か 13 回、とくに誘因が見られない場合が 32 例であった。発作時の血中乳酸値は必ずしも高値を示していなかった。

初診時の血中乳酸値は正常例もあったが、多くの症例で 30mg/dl 以上 (正常値 30~170mg/dl) の高値を示しており、ミトコンドリア脳筋症の可能性を示唆していた。診断時には運動負荷をおこない確認をおこな

っている。また、髄液中の乳酸値に関しては、MELAS の頭痛嘔吐発作により受診した症例で特に高く、血清の乳酸値が低いにも関わらず、髄液にて高値を示す症例やもあり、両者での判断が必要であると考えられた。

画像所見では MELAS では初診時に CT にて後頭部の LDA を呈する症例が多く診断的価値があった。Leigh 脳症では 7 例中 6

例で脳萎縮を認め、4 例で初診時に基底核の LDA を呈していた。

筋生検は 30 症例中 26 症例で実施した。結果を【表 4】に示す。MELAS・MARRF・KSS では全例で RRF を認めた。遺伝子異常は MELAS で 5 例、Leigh 脳症で 2 例に認めた。また、MELAS では 46XY(9p+q) の染色体異常を呈する兄弟例があった。

【表 3】各病型における経過中症状

	MELAS	MERRF	KSS	Leigh	その他	分類不能
(合計人数)	15	1	1	7	3	3
筋力低下・易疲労性	14	1	1	5	3	2
知的障害	11	1	1	5	1	1
呼吸障害		1	1	4	1	
痙攣・ミオクロームス	9	1	1	5	1	1
頭痛・嘔吐発作	9					
心機能障害	8	1		2	1	1
腎機能障害	10					2
小脳症状	1	1				1
眼症状	10	1	1	4	3	2
難聴	10	1	1	3	2	2
末梢神経障害	3			2		
糖尿病	1		1			

【表 4】筋生検結果

	MELAS	MARRF	KSS	Leigh	その他	分類不能
実施 (名)	13	1	1	6	3	2
RRF(+)	13	1	1	0	0	1
遺伝子異常	5			2		
酵素異常	7			6	3	1
Complex I				1		1
CCO	7			2	2	
CPT				1	1	
PDHC				2		

経過中実施された治療は、CoQ₁₀が最も

表5 症例の転帰

	MELAS	MERRF	KSS	Leigh	その他	分類 不能
死亡	3	1	1	3	—	—
生存	6	—	—	3	2	1
不明	6	—	—	1	1	2
死亡年齢 (平均)	15y0	24y1m	6y9m	6y6m		
死亡原因						
呼吸不全		1	1	3		
腎不全	2					
心不全	1					

多く 30 症例中 21 例、シクロロ酢酸が 12 例、シクロロ酢酸投与では、血中の乳酸の低下が見られた。ステロイドは断続的な経口投与および MELAS 発作時の静脈内投与を 12 例でおこなった。ステロイド投与が発作症状を劇的に改善する例か多くの例で見られた。また、発作の予防に有用であった。アハンが使用可能な時期は 9 例で使用した。チトクローム C を使用した例はなかった。また、抗けいれん剤は 19 例で経過中に投与をおこない、IVH による栄養管理、気管切開下の人工呼吸管理は 2 例でそれぞれおこなった。

経過中 8 症例 (MELAS は平均 15 才 0 ヶ月、Leigh 脳症は 6 才 6 ヶ月) が著明な胸水貯留を伴う重症肺炎、腎不全、心不全等により死亡している (表 5)。現在は 12 名のミトコンドリア脳筋症患者を外来および入院でフォローしている。

E、結論

小児期発症のミトコンドリア脳筋症は現在の種々の治療の試みにもかかわらず、進行性の経過をとり予後不良である例が多い。今後も治療に向けての取り組みが必要である。

F、健康危険情報

とくになし

G、研究発表

- 1、二瓶健次、本田真美 亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) の臨床、医療、56 73 79, 2002
- 2、本田真美、二瓶健次 亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) に対する薬物療法の有用性、小児科、44 234 241, 2003

H、知的財産権の出題、登録状況

なし

小児期発症のミトコントリア脳筋症に関する研究

ミトコントリア異常症におけるシクロロ酢酸(DCA)治療の検討

分担研究者 桃井真里子 自治医科大学小児科 教授
研究協力者 森 雅人、後藤珠子、諏訪清隆、山形崇倫
自治医科大学小児科

研究要旨

ミトコントリア異常症に対するシクロロ酢酸治療(DCA)の臨床的効果を検討した。4例のMELAS患者、1例のLeigh脳症患者にDCAを使用した。MELAS患者に対しては約7年間の使用にても重篤な副作用もなく、臨床症状は改善し、有効な薬剤と思われた。一方、重症Leigh脳症患者への投与では使用後に状態が悪化した。循環動態の不良な患者への投与は身長に検討する必要かあると考えられた。

A 研究目的

我々はこれまでMELASにおける遺伝子異常の解析、MELAS患者におけるDCA治療の短期的効果などを報告してきた。今回はMELAS患者に対する治療が5年から7年と長期間を経過し、その効果、副作用について再度検討を行った。また、Leigh脳症患児にDCAを使用し、急激な状態悪化がみられた。DCA治療は高乳酸血症の治療として用いられるか、ミトコントリア異常症における治療効果は症例毎に異なっている。適切なDCA治療を行うために、これらの症例を検討し、ミトコントリア異常症におけるDCA治療の適応について考察した。

B 研究方法

ミトコントリアDNA3243A→G変異を認める4例のMELAS患者、8993T→G変異を認める重症Leigh脳症の4か月の男児にDCA治療を行った。DCA治療に際しては、自治医科大学倫理委員会の承認を得て、ご家族に十分なインフォームトコンセントを行い使用した。DCAの投与方法は徳島大学小児科方式に準じて、50mg/kg/回を12時間毎に2回内服し、以後半量に減量、DCA血中濃度、乳酸値を指標に維持量を決

定した。臨床症状の評価に加え、血液検査、知能検査、頭部画像所見、脳波、末梢神経伝導速度、聴力検査などを行い、効果の判定と副作用の検討を行った。

C 研究結果

MELAS 4例で投与期間は5年2か月から7年1か月であった。2例において治療中に脳梗塞様発作、そのうち1例にけいれんがみられたが、4例とも脳梗塞様発作、頭痛、腹痛といった急性の発作性の症状は減少し、日常生活のQOLは改善していた。脳梗塞様発作のみられた2例では発作出現前に血中乳酸、ピルヒン酸の増加があり、DCA治療後も髄液中の乳酸、ピルヒン酸値は比較的高値であった。電気生理学的検査、知能検査では4例すべてにおいて難聴、知能検査には改善がみられず、徐々に悪化する傾向にあった。DCAの副作用と考えられたものとして全例に軽度の肝機能障害、1例に末梢神経障害、3例に低カルウム血症が認められた。重症Leigh脳症の乳児では急激に呼吸不全で発症し、循環動態が不良であり、人工呼吸管理のもと使用した。DCA治療開始前には肥大型心筋症が確認されていた。DCA開始後、一時意識状態が改善したが開始3日後に急変し、死亡した。