

Fig. 2. Amplified genomic fragments for the 11 exons of the  $E_1\alpha$  subunit gene from two patients were sequenced and analyzed. (A) The genomic sequence for exon 7 of patient 1 has a C→G point mutation at nucleotide 615, resulting in a substitution of leucine for phenylalanine at position 205 (F205L). (B) The genomic sequence for exon 7 of patient 2 has an A→C point mutation at nucleotide 648, resulting in a substitution of phenylalanine for leucine at position 216 (L216F).

resulting in a heterozygote for the L216F mutation (data not shown).

## 5. Discussion

Defects in PDHC are an important cause of congenital lactic acidemia in children. The great majority of PDHC deficiencies result from mutations in the X-linked  $E_1\alpha$  subunit gene [2,3]. The  $E_1$  subunit also contains a TPP binding site that is shared by the  $\alpha$  and  $\beta$  subunits [1,2]. Therefore, the  $E_1\alpha$  subunit plays an important role in the thiamine-dependent decarboxylation of pyruvate. It has been pointed out that the  $E_1\alpha$  subunit carries the TPP binding motif GDG X26/27 NN common to all TPP-utilizing enzymes [1,9], and it is thought to be the region from amino acid 195 in exon 6 to amino acid 225 in exon 7 [9]. Thiamine treatment is very effective for some patients with PDHC deficiency. Among these patients with PDHC deficiency responding to thiamine therapy, five mutations in the  $E_1\alpha$  subunit gene have been reported previously: H44R, R88S, G89S, R263G, and V389fs [4,10–12]. All five mutations are in a region outside the TPP-binding site of the  $E_1\alpha$  subunit. Recently, the roles of specific amino acid residues in these two mutations (H44R and R263G) were investigated using site-directed mutagenesis, and two mutations had an increase in their apparent  $K_m$  value for TPP

[13,14]. Therefore, thiamine responsiveness of these two mutations is supported by a change in the  $K_m$  value for TPP observed in the recent study [13,14].

In this study, we described two clinically thiamine-responsive male patients who had a point mutation (F205L and L216F) within the TPP-binding region of the  $E_1\alpha$  subunit. Unfortunately, it was not possible to analyze the mother of patient 1 for the F205L mutation. We therefore do not know if this is a new or inherited mutation, although this mutation had been identified previously in two patients [15,16]. One patient was a male who died at age 18 months, with evidence of Leigh disease at autopsy [15]. Another male patient (patient 3929) was a 3-year-old child with Leigh disease and psychomotor retardation [16]. Both male patients showed evidence of Leigh disease and the PDHC activities of these two patients were 25% and 36% of the normal controls. The PDHC activities of our patient 1 were 1% and 66% of the normal controls at two different concentrations of TPP as shown in Table 1. In male patients with the same mutation (F205L), their cultured cells showed quite different PDHC activity. These differences might have been due to differences in the TPP concentration in these assays of PDHC activity, or differences in the thiamine concentration in the culture medium, or differences in the cultured cells (skin fibroblasts and lymphoblastoid cells). The concentration of thiamine-HCl in the culture medium used for our studies was  $3 \times 10^{-3}$  mM, but there are culture media with various concentrations of thiamine-HCl ranging from  $3 \times 10^{-5}$  to  $3 \times 10^{-2}$  mM [11]. We previously reported that the PDHC activities of the patient with thiamine-responsive PDHC deficiency (R263G mutation) in the presence of  $1 \times 10^{-4}$  mM TPP was increased to about two times by culturing cells in high-thiamine (0.4 mM) medium [11]. Thus, it is possible that the PDHC activity in the cultured cells with these thiamine-responsive mutations might depend not only on the concentration of TPP in the reaction mixture, but also on the concentration of thiamine in the culture medium or within the cultured cells.

The L216F mutation of patient 2 is novel [3]. The L216F mutation was inherited from his mother, because it was found in the genomic DNA of his mother, and the PDHC activity of his mother was significantly decreased in the presence of low TPP concentration. We believe that the F205L and L216F mutations were the cause of their disease: aside from the presence of an appropriate defect in thiamine-responsive PDHC and  $E_1$  activities, no other mutations were found in the  $E_1\alpha$  subunit gene, and these two mutations were not present in the genomic DNA from 50 unrelated controls. A comparison of the PDH  $E_1\alpha$  amino acid sequence from a variety of different sources (pig heart, rat liver, mouse liver, and yeast) shows that the amino acid 205 and 216 is phenylalanine and leucine, respectively [17–20].

PDHC deficiency is generally diagnosed by measuring the activity of PDHC in the presence of a high concentration of TPP (0.1–0.7 mM) [11]. Two thiamine-responsive

patients showed apparently low activity of PDHC in the presence of low ( $1 \times 10^{-4}$  mM) TPP, as shown in Table 1, but their PDHC activities significantly increased at a high (0.4 mM) TPP concentration. Most strikingly, the PDHC activity of patient 2 increased to within the normal range. Therefore, in order to diagnose this type of thiamine-responsive PDHC deficiency and to prevent a diagnostic error, it is important to measure the activity of PDHC in the presence of a low ( $1 \times 10^{-4}$  mM) as well as a high TPP concentration.

Among the patients with PDHC deficiency caused by mutations within the TPP-binding region, five mutations have been reported previously: A199T, F205L, M210V, W214R, and P217L [3,15,16,21–23]. Because the PDHC activity in patients with these mutations was not measured in the presence of low TPP concentrations, no one knows whether or not these patients have thiamine-responsive PDHC deficiency. These patients are all male, and all the mutations except for the M210V mutation caused Leigh disease. Therefore, it is possible that the PDHC deficiency caused by mutations within the TPP-binding region might lead to Leigh disease. However, our two patients had not developed Leigh disease by the time of their diagnosis. High-dose thiamine therapy might have been effective in preventing Leigh disease in our patient. Recently, the roles of two mutations (M210V and P217A) within the TPP-binding region were investigated using site-directed mutagenesis [24]. The apparent  $K_m$  for M210V mutation increased significantly, but P217A mutation did not affect the apparent  $K_m$  value for TPP. Thus, the different substitutions within the TPP-binding region can cause different functional defects in the E1 enzyme.

No effective therapy for congenital lactic acidemia has been established. In this study, the clinical symptoms in our two patients were improved by high-dose thiamine therapy. The clinical thiamine responsiveness in our patients was confirmed by *in vitro* studies showing a thiamine-responsive functional defect in the activities of PDHC and E1 in the lymphoblastoid cells and the decarboxylation rate in intact cultured lymphoblastoid cells. The DCA-activated PDHC activity in the lymphoblastoid cells was maximal in the presence of a high concentration of TPP. These data suggest that the concomitant administration of a high dose of thiamine and DCA may be required to achieve maximal PDHC activity in patients with thiamine-responsive PDHC deficiency, especially in patients with an acidotic crisis.

## References

- [1] B.H. Robinson, Lactic acidemia (disorders of pyruvate carboxylase, pyruvate dehydrogenase), in: C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, D. Valle (Eds.), *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th edn., McGraw-Hill, New York, 2001, pp. 2275–2295.
- [2] B.H. Robinson, N. MacKay, K. Chun, M. Ling, Disorders of pyruvate carboxylase and the pyruvate dehydrogenase complex, *J. Inher. Metab. Dis.* 19 (1996) 452–462.
- [3] W. Lissens, D.L. Meirleir, S. Sebeca, I. Liebaers, G.K. Brown, R.M. Brown, M. Ito, E. Naito, Y. Kuroda, D.S. Kerr, I.D. Wexler, M.S. Patel, B.H. Robinson, A. Seyda, Mutation in the X-linked pyruvate dehydrogenase(E1)  $\alpha$  subunit gene (PDHA1) in patients with a pyruvate dehydrogenase complex deficiency, *Human Mutat.* 15 (2000) 209–219.
- [4] E. Naito, M. Ito, E. Takeda, I. Yokota, S. Yoshijima, Y. Kuroda, Molecular analysis of abnormal pyruvate dehydrogenase in a patient with thiamine-responsive congenital lactic acidemia, *Pediatr. Res.* 36 (1994) 340–346.
- [5] N. Kitamori, Y. Itokawa, Pharmacokinetics of thiamin after oral administration of thiamin tetrahydrofurfuryl disulfide to humans, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 39 (1993) 465–472.
- [6] O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.* 193 (1951) 265–275.
- [7] E. Naito, Y. Kuroda, E. Takeda, I. Yokota, H. Kobashi, M. Miyao, Detection of pyruvate metabolism of skin fibroblasts with dichloroacetate, *Pediatr. Res.* 23 (1988) 561–564.
- [8] J. Matsuda, M. Ito, E. Naito, I. Yokota, Y. Kuroda, DNA diagnosis of pyruvate dehydrogenase deficiency in female patients with congenital lactic acidemia, *J. Inher. Metab. Dis.* 18 (1995) 534–546.
- [9] B.H. Robinson, K. Chun, The relationships between transketolase, yeast pyruvate decarboxylase and pyruvate dehydrogenase of the pyruvate dehydrogenase complex, *FEBS Lett.* 328 (1993) 99–102.
- [10] E. Naito, M. Ito, I. Yokota, T. Saijo, S. Chen, M. Maehara, Y. Kuroda, Concomitant administration of sodium dichloroacetate and thiamine in West syndrome caused by thiamine-responsive pyruvate dehydrogenase complex deficiency, *J. Neurol. Sci.* 171 (1999) 56–59.
- [11] E. Naito, M. Ito, I. Yokota, T. Saijo, J. Matsuda, H. Osaka, S. Kimura, Y. Kuroda, Biochemical and molecular analysis of an X-linked case of Leigh syndrome associated with thiamine-responsive pyruvate dehydrogenase deficiency, *J. Inher. Metab. Dis.* 20 (1997) 539–548.
- [12] C. Marsac, C. Benelli, I. Desguerre, M. Diry, F. Fouque, L. De Meirleir, G. Ponsot, S. Seneca, F. Poggi, J.M. Saudubray, M.T. Zabot, D. Fontan, W. Lissens, Biochemical and genetic studies of four patients with pyruvate dehydrogenase E1 $\alpha$  deficiency, *Hum. Genet.* 99 (1997) 785–792.
- [13] S.J. Jacobia, L.G. Korotchkina, M.S. Patel, Characterization of a missense mutation at histidine-44 in a pyruvate dehydrogenase-deficient patient, *Biochim. Biophys. Acta* 1586 (2002) 32–42.
- [14] S.J. Jacobia, L.G. Korotchkina, M.S. Patel, Differential effects of two mutations at arginine-234 in the  $\alpha$  subunit of human pyruvate dehydrogenase, *Arch. Biochem. Biophys.* 395 (2001) 121–128.
- [15] H.-H.M. Dahl, G.K. Brown, Pyruvate dehydrogenase deficiency in a male caused by a point mutation (F205L) in the E1 $\alpha$  subunit, *Human Mutat.* 3 (1994) 152–155.
- [16] K. Chun, N. MacKay, R. Petrova-Benedict, A. Federico, A. Fois, D.E.C. Cole, E. Robinson, B.H. Robinson, Mutations in the X-linked E1 $\alpha$  subunit of pyruvate dehydrogenase: exon skipping, insertion of duplicate sequence, and missense mutations leading to the deficiency of the pyruvate dehydrogenase complex, *Am. J. Hum. Genet.* 56 (1995) 558–569.
- [17] Y. Urata, K. Koike, S. Goto, M. Koike, Novel separation and amino acid sequences of  $\alpha$  and  $\beta$  subunits of pig heart pyruvate dehydrogenase, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 37 (1991) 257–267.
- [18] S. Matsuda, K. Nakano, S. Ohta, T. Saheki, Y. Kawanishi, T. Miyata, The  $\alpha$ -ketoacid dehydrogenase complexes. Sequence similarity of rat pyruvate dehydrogenase with *Escherichia coli* and *Azotobacter vinelandii*  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase, *Biochim. Biophys. Acta* 1089 (1991) 1–7.
- [19] J. Fitzgerald, W.M. Hutchison, H.-H.M. Dahl, Isolation and characterization of the mouse pyruvate dehydrogenase E1 $\alpha$  genes, *Biochim. Biophys. Acta* 1131 (1992) 83–90.
- [20] R.H. Behal, K.S. Browning, L.J. Reed, Nucleotide and deduced amino acid sequence of the alpha subunit of yeast pyruvate dehydrogenase, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 164 (1989) 941–946.

- [21] K. Chun, N. MacKay, R. Petrova-Benedict, B.H. Robinson, Mutations in the X-linked E<sub>1</sub>α subunit of pyruvate dehydrogenase leading to deficiency of the pyruvate dehydrogenase complex, *Hum. Mol. Genet.* 2 (1993) 449–454.
- [22] A. Tripatara, D.S. Kerr, M.M. Lusk, M. Koli, J. Tan, M.S. Patel, Three new mutations of the pyruvate dehydrogenase alpha subunit: a point mutation (M181V), 3 bp deletion (-R282), and 16 bp insertion/frame-shift (K358SVS>TVDQS), *Human Mutat.* 8 (1996) 180–182.
- [23] S.G. Hemalatha, D.S. Kerr, I.D. Wexler, M.M. Lusk, M. Kaung, Y. Du, M. Koli, M. Schelper, M.S. Patel, Pyruvate dehydrogenase deficiency due to a point mutation (P188L) within the thiamine pyrophosphate binding loop of the E<sub>1</sub>α subunit, *Hum. Mol. Genet.* 4 (1995) 315–318.
- [24] A. Tripatara, L.G. Korotchkina, M.S. Patel, Characterization of point mutations in patients with pyruvate dehydrogenase deficiency: role of methionine-181, proline-188, and arginine-349 in the α subunit, *Arch. Biochem. Biophys.* 367 (1999) 39–50.

## アコニターゼ

Aconitase

内藤悦雄

Key words: アコニターゼ, TCAサイクル, 鉄-硫黄クラスター, ミトコンドリア電子伝達系酵素, コハク酸脱水素酵素

## 1. 概念・定義

アコニターゼ(アコニット酸ヒドラーゼ, EC4.2.1.3)は, TCAサイクル内で3つの基質(クエン酸, アコニット酸, イソクエン酸)の相互転換を触媒する酵素である。また, アコニターゼはその活性中心に鉄-硫黄クラスターを含み,  $[4Fe-4S] \rightleftharpoons [3Fe-4S]$ の変換を行う。活性型酵素は4Fe-4Sを含んでおり, 3Fe-4Sでは不活性である。

これまでにアコニターゼの活性低下が認められた報告例としては, アコニターゼとコハク酸脱水素酵素(succinate dehydrogenase: SDH)の活性低下を伴った症例<sup>1,2)</sup>と高乳酸血症を伴い, アコニターゼとSDH活性低下を呈した先天性ミオパチーの9家系19人がある<sup>3)</sup>。また, 近年二次的なアコニターゼ活性低下を示す疾患として, Friedreich失調症(FRDA)が注目されており, その病因に関して様々な研究がすすめられている<sup>4-6)</sup>。

## 2. 分類

アコニターゼには, 細胞質内とミトコンドリア内に存在する2つのアイソザイム(ACO1: サイトゾールアコニターゼ, ACO2: ミトコンドリアアコニターゼ)が知られており, これらは構造的にも機能的にも類似している。ACO1遺

伝子は9番染色体(p22-p13)に<sup>7)</sup>, ACO2遺伝子は22番染色体(q11.21-q13.31)に存在する<sup>8)</sup>。

## 3. 病因

Hallerらが報告したアコニターゼとSDHの活性低下例<sup>9)</sup>では, TCAサイクルにおけるNADH産生能が低下し, 筋肉での酸化リン酸化の障害が病因と推定されていたが, その後の研究により, 鉄-硫黄クラスターを含む蛋白群での合成, プロセッシング, アッセムプリングの異常により発症することが判明した<sup>9)</sup>。

すなわち, アコニターゼ遺伝子の異常ではなく, アコニターゼの活性中心に含まれる鉄-硫黄クラスターの異常に基づく二次的な活性低下と考えられる。その理由としては, TCAサイクル内酵素活性の低下を示したのは, 鉄-硫黄クラスターをその構造内に含んでいるアコニターゼだけであり, ミトコンドリア電子伝達系酵素では鉄-硫黄蛋白を含んでいる複合体Iと複合体IIIはともに異常を示したが, 鉄-硫黄蛋白を含まない複合体IVの機能は正常であった。更に, ミトコンドリアの顆粒状沈着物には鉄が多量に含まれていることがあげられる。

また, FRDAではアコニターゼ活性低下とともにミトコンドリア電子伝達系酵素活性低下を伴い<sup>4-6)</sup>, ミトコンドリア内の鉄代謝酵素と考えられているfrataxinの異常が病因である<sup>4-6)</sup>。こ

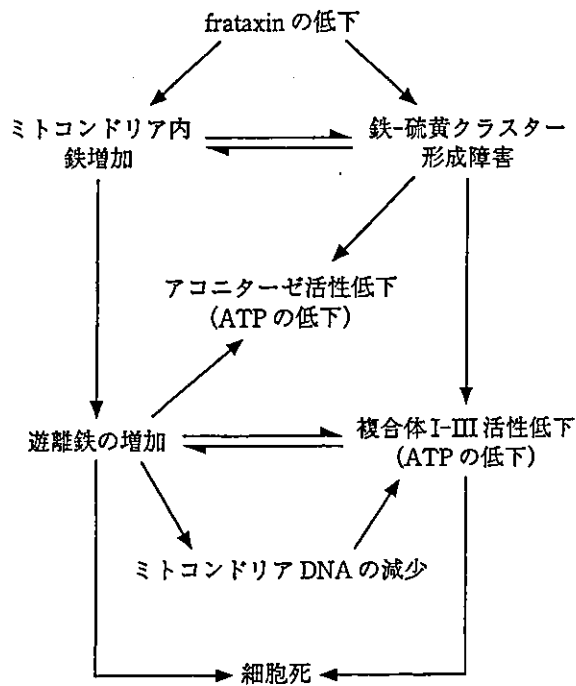


図1 アコニターゼとミトコンドリア電子伝達系酵素との関連  
(文献<sup>9)</sup>より改変)

の frataxin をコードする遺伝子は第9番染色体長腕に存在し、大部分の症例では最初のイントロンにおいて GAA のリピート数が著明に延長している。正常人ではその数は 20 以下であるが、患者では 200 以上に延長している。この frataxin の低下により、鉄-硫黄クラスターの形成障害からアコニターゼ活性の低下とともにミトコンドリア電子伝達系酵素活性の低下を来し、ミトコンドリア内の鉄の増加を引き起こす。遊離鉄レベルの増加と呼吸鎖の障害により、更にアコニターゼ活性を阻害するために、酸化的リン酸化が障害される。このようなアコニターゼ活性低下とミトコンドリア電子伝達系酵素活性の低下は ATP の産生能低下を来し、ついには細胞死を引き起こすと考えられている(図1)。

## 文献

- 1) Mckusick VA: 255125 Myopathy with deficiency of succinate dehydrogenase and aconitase. In: Mendelian Inheritance in Man. Catalogs of Human Genes and Genetic Disorders, 12th ed, p2506-2507, Johns Hopkins Univ Press, Baltimore, 1998.
- 2) Haller RG, et al: Deficiency of skeletal muscle succinate dehydrogenase and aconitase. Pathophysiology of exercise in a novel human muscle oxidative defect. *J Clin Invest* 88: 1197-1206, 1991.
- 3) Drugge U, et al: Hereditary myopathy with lactic acidosis, succinate dehydrogenase and aconitase deficiency. *J Med Genet* 32: 344-347, 1995.
- 4) Rotig A, et al: Aconitase and mitochondrial iron-sulphur protein deficiency in Friedreich ataxia. *Nat Genet* 17: 215-217, 1997.
- 5) Bradly JL, et al: Clinical, biochemical and molecular genetic correlations in Friedreich's ataxia. *Hum Mol Genet* 9: 275-282, 2000.
- 6) Puccio H, Koening M: Recent advances in the molecular pathogenesis of Friedreich ataxia. *Hum Mol Genet* 9: 887-892, 2000.
- 7) Rouault TA, et al: Cloning of the cDNA encoding an RNA regulatory protein; the human iron-responsive element-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 7958-7962, 1990.
- 8) Mirel DB, et al: Characterization of the human mitochondrial aconitase gene (ACO2). *Gene* 213: 205-218, 1998.
- 9) Hall RE, et al: Mitochondrial myopathy with succinate dehydrogenase and aconitase deficiency. Abnormalities of several iron-sulfur proteins. *J Clin Invest* 92: 2660-2666, 1993.

## Leigh 脳症

## 母系遺伝性 Leigh 脳症

Maternally inherited Leigh syndrome

内藤悦雄

Key words: Leigh 脳症, 母系遺伝, ミトコンドリア DNA 変異, 高乳酸血症, MRI 像

## 1. 概念・定義

Leigh 脳症は、1951年にイギリスの神経学者 Leigh が特徴的な神経病理学的所見を認めた7カ月男児例を subacute necrotizing encephalomyelopathy(亜急性壊死性脳症)として報告したことから始まる<sup>1)</sup>。本症には高乳酸血症を伴うことが報告されたため、本症の病因としてビルビン酸代謝障害の関与が注目されだした。一方、高乳酸血症を伴う神経疾患である MELAS, MERRF の病因がミトコンドリア DNA (mtDNA) の異常に基づくことが報告されてから、Leigh 脳症と mtDNA 異常との関連性が推測されだした。

Holt らが neurogenic weakness, ataxia, retinitis pigmentosa (NARP) の家系で、mtDNA 8993T→G 変異を初めて報告した。その後 Tatuch らは1992年に mtDNA 8993T→G 変異を有する家系内に Leigh 脳症患者が存在することを見いだした<sup>2)</sup>。更に、本症を引き起こす種々の mtDNA 変異が相次いで報告された。

本症の概念は中枢神経系の特徴的な病変から発展したため、その確定診断には剖検所見が必要であったが、近年画像診断の進歩により生前にも診断されるようになってきた(図1)。



図1 Leigh 脳症患者の MRI 像(T<sub>2</sub>強調)  
mtDNA 8993T→G 変異を有する Leigh 脳症患者の MRI 像。両側の被殻と尾状核を中心に異常信号を認める。

## 2. 分類

Leigh 脳症を来す病因疾患の遺伝形式は常染色体劣性遺伝, X連鎖遺伝, 母系遺伝などが知

表1 Leigh脳症を来すミトコンドリアDNA変異

変異の種類	変異の領域	Leigh脳症以外の疾患	文献
1) 3243A→G	tRNA <sup>Lys</sup>	MELAS	6)
2) 8344A→G	tRNA <sup>Lys</sup>	MERRF	7)
3) 8363G→A	tRNA <sup>Lys</sup>	MERRF	8)
4) 8851T→C	ATPase 6	—	9)
5) 8993T→C	ATPase 6	—	10)
6) 8993T→G	ATPase 6	—	2)
7) 9176T→C	ATPase 6	—	11)
8) 9176T→G	ATPase 6	—	12)
9) 11777C→A	ND4	—	13)
10) 13513G→A	ND5	MELAS	14)
11) 14459G→A	ND6	LHON	15)
12) deletion	3.6kb	Pearson症候群	16)

MELAS: mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes, MERRF: myoclonic epilepsy with ragged-red fibers, LHON: Leber's hereditary optic neuropathy

られている。SURF-1 遺伝子異常症は常染色体劣性遺伝を示し、ピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDHC) の E1 $\alpha$  サブユニット異常症は X 連鎖遺伝を示す<sup>3)</sup>。また、mtDNA は母親由来であり、この変異に基づく疾患は母系遺伝を呈する。本稿では、母系遺伝を示す mtDNA 異常に基づく Leigh 脳症を中心に述べる。

### 3. 病 因

本症の病因としては、血液中および髄液中の乳酸・ピルビン酸が増加していることから、ピルビン酸代謝経路を主としたエネルギー代謝障害が考えられている。すなわち、脳にはエネルギー代謝障害に特に鋭敏な部位が分布しており、エネルギー代謝に支障を生じると共通した反応が出現すると推測されている<sup>4)</sup>。

これまでに培養皮膚線維芽細胞、生検筋、培養リンパ球を用いて、エネルギー産生に関するピルビン酸代謝経路の種々の生化学的異常および mtDNA 変異が報告されている<sup>4,5)</sup>。これまでに報告された Leigh 脳症を来した mtDNA 変異を表 1 に示す<sup>2,6-16)</sup>。ATPase 6 領域をコードしている mtDNA 8993T→G 変異を 90% 以上有する重症例では Leigh 脳症を発症しており、この変異を有する培養細胞では ATP 産生能が低下

していた。したがって、Leigh 脳症の発症はエネルギー産生に重要な酵素の機能障害の程度と密接に関連していると考えられる<sup>4,5)</sup>。

### 4. 病 態

臨床的には、以下の3所見を呈する場合には本症を疑い精査を実施することが望ましい。

(1) 2歳以前から発症する精神運動発達遅滞 (特に退行を伴う症例)。

(2) 血中および髄液中乳酸・ピルビン酸の高値。

(3) CTあるいはMRI検査で大脳基底核部を中心とした左右対称性病変の存在。

である。

この特徴的な中枢神経系病変(脳病理組織学的には神経細胞の脱落、グリア細胞の増加、網細血管の増生などを認める壊死性あるいは軟化性病変が脳幹部、大脳に左右対称に局在)を呈する Leigh 脳症は種々の病因に基づく症候群と考えられる。

また、初発症状としては食事摂取障害が最も多く、低年齢ほど顕著である。運動発達遅延あるいは退行、筋緊張低下がこれに次いで多く、眼球運動異常、視神経萎縮、視力障害などの眼症状、精神発達遅延が多い。その他の症状とし

ではけいれん、呼吸障害、小脳症状などがある。

## 5. 診断と鑑別診断

### a. 生化学的検査

本症の大部分の症例では血液中および髄液中の乳酸・ピルビン酸が増加しているが、血液中乳酸値に比して、髄液中乳酸値がより高値を示す症例が多い<sup>4)</sup>。なお、mtDNA異常症では乳酸とピルビン酸の比(L/P比、正常では10前後)が高値を示すことが多いが、PDHC異常症のL/P比は正常であり、これらの鑑別診断には有用である。また、血清アミノ酸分析ではアラニンが高値であり、筋生検による組織化学染色では、高乳酸血症と中枢神経症状を示すMELAS、MERRF、CPEOなどの疾患では高頻度に見られ、ミトコンドリア異常の存在を示唆するragged-red fiberはLeigh脳症では認められない。

### b. 画像診断

本症の大部分ではCTやMRIにより特徴的な中枢神経病変が描出され、生前の診断が可能である。最もよくみられる変化は大脳基底核に限局した両側対称性の変化であり、MRIのT<sub>2</sub>強調画像で高信号(図1)、T<sub>1</sub>強調画像で低信号ないし正常の所見が得られ、CTでは低吸収域を示す。

なお、明らかな壊死性変化が出現する以前の限局した浮腫性病変をMRIでは早期に描出できること、CTでは描出困難な脳幹部や深部白質部位をMRIでは描出可能なことより、本症の早期診断にはMRIが非常に有用である。しかし成人発症例がまれにみられたり、初期の画像では大脳の軽度萎縮や小脳萎縮のみを認めた症例でも、時間の経過とともに典型的な左右対称性病変を呈することもあるので、経時的検査も必要である。

### c. 遺伝子診断

mtDNA変異を病因とするLeigh脳症の発生頻度は約20%を占めると考えられており<sup>5)</sup>、現在mtDNA 8993T→G変異の報告が最も多い<sup>4,5)</sup>。これらの症例では母系遺伝をとることが多いが、なかには母親が変異を有していないと思われる

家系も報告されている。

他のmtDNA異常症と同様に本症も正常と変異mtDNAの混在するヘテロプラスミーであり、この変異を有することが直接的に症状の出現には結びつかない。臨床症状の発現はその変異率と深くかかわり合っており、この変異の最重症型がLeigh脳症である。変異を有する家系内では、変異率が90%以上の人がLeigh脳症を呈し、それ以下の変異率では、症状の軽症化が認められる。また、世代を経ることにより変異率が増加したり、ときには減少することがある。

mtDNA変異の遺伝子診断には患者の組織、培養皮膚線維芽細胞、培養リンパ球、血液、濾紙血などを用いて行われている<sup>4,5)</sup>。

## 6. 治療と予後

mtDNA異常によるLeigh脳症患者に対する治療法はまだ確立されていないが、急性発作時の治療と寛解時の維持療法とに大別される。急性発作時では乳酸性アシドーシスに対する治療が中心で、輸液やアルカリ剤の静脈内投与、腹膜灌流、交換輸血、呼吸管理などが行われる。維持療法は乳酸の蓄積防止とエネルギー産生障害の改善を目的として、低炭水化物高脂肪食事療法が試みられている<sup>4)</sup>。その他の治療として電子伝達系のバイパスを作る目的でのビタミンCとビタミンKの投与や呼吸鎖の補酵素であるリボフラビンやCoQ10などの投与が行われている。

最近mtDNA 8993T→G変異を有するLeigh脳症患者に、PDHCの活性化剤であるジクロロ酢酸ナトリウム(DCA)を投与して、臨床症状の改善が認められている<sup>17,18)</sup>。これは変異mtDNAと正常mtDNAとが存在するヘテロプラスミー状態のmtDNA異常症患者では、正常mtDNAを多く有する細胞内のPDHCをDCAにより最大限に活性化させることにより、これらの細胞ではピルビン酸代謝が十分に活性化したためと思われる。したがって、正常mtDNAをある程度有しているLeigh脳症患者では、中枢神経障害が比較的軽度な時期におけるDCA療法は有望な治療法と思われる。



新生児期, 乳児期早期の発症例の予後は悪く, とが多い。  
死亡したり重篤な中枢神経系の後遺症を伴うこ

#### ■ 文 献

- 1) Leigh D: Subacute necrotizing encephalomyelopathy in an infant. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 14: 216-221, 1951.
- 2) Tatum Y, et al: Heteroplasmic mtDNA mutation (T→G) at 8993 can cause Leigh disease when the percentage of abnormal mtDNA is high. *Am J Hum Genet* 50: 852-858, 1992.
- 3) Naito E, et al: Biochemical and molecular analysis of an X-linked case of Leigh syndrome associated with thiamin-responsive pyruvate dehydrogenase deficiency. *J Inher Metab Dis* 20: 539-548, 1997.
- 4) 内藤悦雄: 先天性ミトコンドリア異常症の特殊型と合併症; Leigh脳症. *小児内科* 30: 1167-1170, 1998.
- 5) Rahman S, et al: Leigh syndrome: clinical features and biochemical and DNA abnormalities. *Ann Neurol* 39: 343-351, 1996.
- 6) Vilarinho L, et al: Heterogeneous presentation in Leigh syndrome. *J Inher Metab Dis* 20: 704-705, 1997.
- 7) Silvestri G, et al: Clinical features associated with the A→G transition at nucleotide 8344 of mtDNA ("MERRF mutation"). *Neurology* 43: 1200-1206, 1993.
- 8) Shtilbans A, et al: G8363A mutation in the mitochondrial DNA transfer ribonucleic acid<sup>lys</sup> gene: another cause of Leigh syndrome. *J Child Neurol* 15: 759-761, 2000.
- 9) De Meirleir L, et al: Bilateral striatal necrosis with a novel point mutation in the mitochondrial ATPase 6 gene. *Pediatr Neurol* 13: 242-246, 1995.
- 10) de Vries DD, et al: A second missense mutation in the mitochondrial ATPase 6 gene in Leigh's syndrome. *Ann Neurol* 34: 410-412, 1993.
- 11) Thyagarajan D, et al: A novel mitochondrial ATPase 6 point mutation in familial bilateral striatal necrosis. *Ann Neurol* 38: 468-472, 1995.
- 12) Carrozzo R, et al: The T9176G mtDNA mutation severely affects ATP production and results in Leigh syndrome. *Neurology* 56: 687-690, 2001.
- 13) 小牧宏文ほか: 新しいミトコンドリア DNA 変異: Leigh脳症2例における C11777A 変異の同定. *脳と発達* 33: S300, 2001.
- 14) 須藤 章ほか: Leigh syndrome におけるミトコンドリア DNA 13513G→A 変異の研究. *脳と発達* 33: S186, 2001.
- 15) Kirby DM, et al: Leigh disease caused by the mitochondrial DNA G14459A mutation in unrelated families. *Ann Neurol* 48: 102-104, 2000.
- 16) Santorelli FM, et al: Leigh-type neuropathology in Pearson syndrome associated with impaired ATP production and a novel mtDNA deletion. *Neurology* 47: 1320-1323, 1996.
- 17) Takanashi J, et al: Dichloroacetate treatment in Leigh syndrome caused by mitochondrial DNA mutation. *J Neurol Sci* 145: 83-86, 1997.
- 18) 内藤悦雄ほか: 先天性高乳酸血症の治療: ジクロル酢酸ナトリウム療法. *日本先天代謝異常学会誌* 13: 305-310, 1997.

## Leigh 脳症

## 複合体 IV 欠損症—SURF1 遺伝子変異

Cytochrome c oxidase deficiency—SURF1 mutations

内藤悦雄 小川由紀子

Key words: Leigh 脳症, 複合体 IV 欠損症, SURF1 遺伝子, 電子伝達系酵素

## 1. 概念・定義

複合体 IV (チトクローム c 酸化酵素, cytochrome c oxidase: COX) はミトコンドリア電子伝達系の最終段階で, チトクローム c を酸化して二酸化炭素と水に分解する酵素である。本酵素活性は生化学的にも, また組織化学的にも証明できるので, 本酵素欠損症の研究は進んでいる。

複合体 IV は 13 個のサブユニットからなり, 3 個のミトコンドリア DNA (mtDNA) 由来のサブユニット (I-III) と 10 個の核 DNA 由来のサブユニット (IV-XIII) からなり, また本酵素複合体の集合には幾つかの核 DNA 由来の因子が関与することが知られている<sup>1)</sup>。そのため複合体 IV 欠損症は mtDNA の変異でも核 DNA の変異でも生じる。

近年の研究により, 常染色体劣性遺伝を示す複合体 IV 欠損症患者において遺伝子変異が相次いで明らかにされてきた<sup>1)</sup>。

## 2. 分類

複合体 IV 欠損症の病因遺伝子により, 母系遺伝を示す mtDNA の変異と常染色体劣性遺伝を示す核 DNA の変異に分けられる<sup>1)</sup>。

mtDNA の 3 個のサブユニット (I, II, III) の

変異は, それぞれ 2-4 症例ずつが報告されている<sup>1,2)</sup>。これらの臨床像は Leber 視神経萎縮症, 特発性鉄芽球性貧血, 脳症, 筋症, ミオグロビン尿症, MELAS, 運動ニューロン疾患類似症状などである。また, 発症年齢も乳幼児期から学童期・成人になって初めて症状の出現をみる症例も報告されている<sup>1,2)</sup>。

一方, 核 DNA の変異では, 複合体 IV の構造蛋白を構成する 10 個のサブユニット (IV-XIII) には, 遺伝子異常は報告されていない<sup>1)</sup>。しかし, 複合体 IV の集合に関与する 4 種類の因子 (SURF1, SCO2, SCO1, COX10) には種々の変異が相次いで報告された<sup>1,3-8)</sup>。これらは複合体 IV のホロ酵素複合体を形成する際に, 非常に重要な働きを担っており, これらの因子における変異により Leigh 脳症 (SURF1), 新生児期発症の肝不全を伴う脳症 (SCO1), 乳児期発症の心筋症を伴う脳症 (SCO2), 尿細管機能障害を伴う脳症 (COX10) などの重篤な症状が報告されている。複合体 IV のホロ酵素複合体の形成過程とその集合に関与する種々の因子を図 1 に示した (図 1)。

SURF1 は S2 から S3 への形成過程で働くと考えられており, 最近, この SURF1 遺伝子異常を有する患児が Leigh 脳症を伴った複合体 IV 欠損症を呈することが明らかにされたので<sup>3,4)</sup>, 本

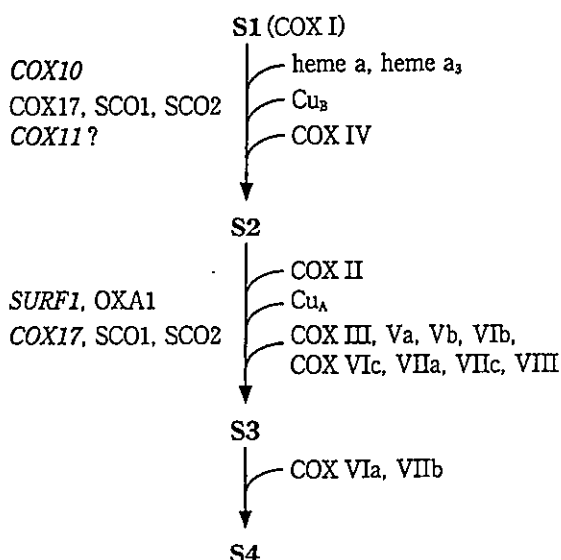


図1 複合体IVのホロ酵素複合体の形成過程

S1, S2, S3は3種類のサブ複合体を示し, S4はホロ酵素複合体を示す。右側には酵素構造蛋白を示し, 左側には酵素複合体の集合に関与する因子を示した。(文献<sup>1)</sup>より改変)

稿ではこれらを中心にして述べる。

### 3. 病 因

Leigh脳症は、基底核、視床、視床下部、中脳などに左右対称性の壊死性病変を来す疾患である<sup>9)</sup>。その病因として、生体のエネルギー産生に重要な代謝経路であるピルビン酸代謝障害により生じ<sup>10)</sup>、また複合体IV欠損症はそのうち約15%を占めると考えられている<sup>11)</sup>。

Leigh脳症を伴う複合体IV欠損症は一部の症例を除いて、大部分は常染色体劣性遺伝をとると考えられていた。しかし、複合体IVの構造蛋白である核DNA由来の10個のサブユニット(IV-XIII)に変異を有する症例は、これまでに報告されていない<sup>11)</sup>。また本症患者の培養細胞の融合による検討では、本症の多数例が同一の遺伝子における異常である可能性を示唆された<sup>12)</sup>。そこで複合体IVの集合に関与する因子が注目されて、Tirantiら<sup>3)</sup>やZhuら<sup>4)</sup>により第9番染色体に存在するSURF1がLeigh脳症の病因遺伝子であることが明らかにされた。

これまでに報告された約30種類のSURF1遺伝子変異を3種類に分類して表1に示した<sup>13,14)</sup>。

### 4. 病 態

SURF1遺伝子異常によるLeigh脳症患者は、乳幼児期(生後4-17カ月)に発育・発達の停止に続き、筋力、筋緊張低下を伴う知的退行がみられるようになる。随伴する症状として、嘔吐、呼吸障害、嚥下障害、小脳失調、企図振戦、ジストニア、錐体路障害、けいれん、眼振、多毛など多彩である<sup>3,12)</sup>。肥大型心筋症、Fanconi症候群を伴う腎不全を伴った例もある。多くの症例は筋力低下、知的退行が進行し、呼吸不全、感染などで発症後数年で死亡する<sup>3,12)</sup>。

### 5. 診断と鑑別診断

本症の大部分の症例では血液中および髄液中の乳酸・ピルビン酸が増加しているが、血液中乳酸値に比して、髄液中乳酸値がより高値を示す症例が多い。なお、SURF1遺伝子異常による複合体IV欠損症では乳酸とピルビン酸の比(L/P比、正常では10前後)が高値を示すことが多い。しかしピルビン酸脱水素酵素複合体(PDHC)異常症では正常のL/P比を示すので、これらの鑑別診断には有用である<sup>10)</sup>。

血中アミノ酸分析ではアラニンが高値である。また、筋生検による組織化学染色では複合体IVの著明な低下が認められるが、高乳酸血症と中枢神経症状を示すMELAS, MERRF, CPEOなどの疾患では高頻度にみられ、ミトコンドリア異常の存在を示唆するragged-red fiberが本症では認められない<sup>3)</sup>。筋肉、皮膚線維芽細胞、培養リンパ球を用いた酵素活性では、複合体IV活性は著明な低下(正常対照の20%以下)を示している<sup>3,12,14)</sup>。

本症の大部分ではCTやMRIにより特徴的な中枢神経病変が描出され、生前の診断が可能である。最もよくみられる変化は大脳基底核に限局した両側対称性の変化であり、MRIのT<sub>2</sub>強調画像で高信号、T<sub>1</sub>強調画像で低信号ないし正常の所見が得られ、CTでは低吸収域を示す。なお、明らかな壊死性変化が出現する前の限局した浮腫性病変をMRIでは早期に描出できること、CTでは描出困難な脳幹部や深部白質部

表1 SURF1 遺伝子異常の分類

	A: 欠失/挿入変異		B: ミスセンス/ナンセンス変異			C: スプライシング変異		
	ホモ 接合体	ヘテロ 接合体	ホモ 接合体	ヘテロ 接合体		ホモ 接合体	ヘテロ 接合体	
37_38ins	1	0	74G→A	0	1	240+1G→T	1	1
312_321del311_312insAT	3	9	244C→T	1	0	323+2T→C	0	1
367delAG	1	0	370G→A	0	1	515+2T→G	0	1
550delG	0	1	371G→A	0	1	516-2_516-1delAG	1	0
552delG	2	0	604G→C	0	1	588+1G→A	0	1
574_575insCTGC	1	2	640C→T	0	1	588+1delG	0	1
587_588insCAGG	0	2	688C→T	1	1	751_6T→G	0	1
758_759delCA	1	0	737T→C	0	2	752-3C→G	0	1
772_773delCC	0	1	751C→T	1	1			
790_791delAG	0	1	808G→T	0	1			
802del26bp insGG	0	1	820T→G	0	1			
814_815delCT	0	1						
845_846delCT	2	7						
868_869insT	2	0						
計	13	25	計	3	11	計	2	7

(文献<sup>13,14)</sup>より改変)

位をMRIでは描出可能なことより、本症の早期診断にはMRIが非常に有用である。

## 6. 治療と予後

SURF1 遺伝子異常に基づく Leigh 脳症患児に対する治療法はまだ確立されていないが、急性発作時の治療と寛解時の維持療法とに大別される。急性発作時では乳酸性アシドーシスに対する治療が中心で、輸液やアルカリ剤の静脈内投与、腹膜灌流、交換輸血、呼吸管理などが行われる。維持療法は乳酸の蓄積防止とエネルギー

産生障害の改善を目的として、低炭水化物高脂肪食事療法が試みられている。また、種々の病因による高乳酸血症患者の治療薬として、PDHCの活性化剤であるジクロロ酢酸ナトリウム(DCA)が用いられているので<sup>15)</sup>、中枢神経障害が比較的軽度な時期の本症患児には、DCA療法は試みる価値はあると思われる。

新生児期、乳児期早期からの発症例の予後は悪く、死亡したり重篤な中枢神経系の後遺症を伴う。

## ■ 文 献

- 1) Shoubridge EA: Cytochrome c oxidase deficiency. *Am J Med Genet* 106: 46-52, 2001.
- 2) Karadimas CL, et al: Recurrent myoglobinuria due to a nonsense mutation in the COX I gene of mitochondrial DNA. *Neurology* 55: 644-649, 2000.
- 3) Tiranti V, et al: Mutations of SURF-1 in Leigh disease associated with cytochrome c oxidase deficiency. *Am J Hum Genet* 63: 1609-1621, 1998.
- 4) Zhu Z, et al: SURF1, encoding a factor involved in the biogenesis of cytochrome c oxidase, is mutated in Leigh syndrome. *Nat Genet* 20: 337-343, 1998.
- 5) Papadopoulou LC, et al: Fatal infantile cardioencephalomyopathy with COX deficiency and mutations in SCO2, a COX assembly gene. *Nat Genet* 23: 333-337, 1999.
- 6) Jaksch M, et al: Mutations in SCO2 are associated with a distinct form of hypertrophic cardiomyopathy and cytochrome c oxidase deficiency. *Hum Mol Genet* 9: 795-801, 2000.
- 7) Valnot I, et al: Mutations of the SCO1 gene in mitochondrial cytochrome c oxidase(COX) defi-

- ciency with neonatal-onset hepatic failure and encephalopathy. *Am J Hum Genet* 67: 1104-1109, 2000.
- 8) Valnot I, et al: A mutation in the human heme A: farnesyltransferase gene (COX10) causes cytochrome c oxidase deficiency. *Hum Mol Genet* 9: 1245-1249, 2000.
  - 9) Leigh D: Subacute necrotizing encephalomyelopathy in an infant. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 14: 216-221, 1951.
  - 10) 内藤悦雄: 先天性ミトコンドリア異常症の特殊型と合併症; Leigh脳症. *小児内科* 30: 1167-1170, 1998.
  - 11) Rahman S, et al: Leigh syndrome: clinical features and biochemical and DNA abnormalities. *Ann Neurol* 39: 343-351, 1996.
  - 12) Munaro M, et al: A single cell complementation class is common to several cases of cytochrome c oxidase-defective Leigh's syndrome. *Hum Mol Genet* 6: 221-228, 1997.
  - 13) Pequignot MO, et al: Mutations in the SURF1 gene associated with Leigh syndrome and cytochrome c oxidase deficiency. *Hum Mutat* 17: 374-381, 2001.
  - 14) Ogawa Y, Naito E: Three novel SURF-1 mutations in Japanese patients with Leigh syndrome. *Pediatr Neurol*, 2002. (in press)
  - 15) 内藤悦雄ほか: 先天性高乳酸血症の治療: ジクロル酢酸ナトリウム療法. *日本先天代謝異常学会誌* 13: 305-310, 1997.

## ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体欠損症

Pyruvate dehydrogenase complex deficiency

内藤悦雄

Key words: ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体, 高乳酸血症, E1 $\alpha$  遺伝子変異, ビタミンB<sub>1</sub>, ジクロロ酢酸ナトリウム

## 1. 概念・定義

ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体(PDHC)は、嫌氣的解糖系によりグルコースから産生されたピルビン酸を、アセチルCoAに変換してTCAサイクルに送り込むエネルギー代謝上非常に重要な酵素複合体である<sup>1)</sup>。

ピルビン酸デヒドロゲナーゼ(E1), リポ酸アセチルトランスフェラーゼ(E2), リポアミド脱水素酵素(E3), E1ホスファターゼ, E1キナーゼおよびプロテインXの6つの蛋白質から構成されている<sup>1)</sup>。また, E1は $\alpha$ サブユニット(E1 $\alpha$ )2個と,  $\beta$ サブユニット(E1 $\beta$ )2個からなる四量体である。PDHC欠損症の病因蛋白質としてはE1<sup>2)</sup>, E2<sup>3)</sup>, E3<sup>4)</sup>, E1ホスファターゼ<sup>5)</sup>, プロテインX<sup>6)</sup>が報告されている。

## 2. 分類

PDHC欠損症のうちE1異常に基づくものが最も多く, すべてがE1 $\alpha$ 欠損症によるものであり, 現在までE1 $\beta$ 欠損症は見いだされていない<sup>6)</sup>。これまでに130例においてE1 $\alpha$ 遺伝子変異が同定されている<sup>7)</sup>。E3欠損症はこれまで7例が報告されているが, E2欠損症は1例が, プロテインX欠損症は4例が報告されているにすぎない。また8例において, E1ホスファターゼ欠損症の可能性が示唆されているが, その酵素

活性の低下が証明されているものは3例である<sup>8)</sup>。

## 3. 病 因

本症ではミトコンドリアでのATP産生が低下し, 組織がエネルギー不足に陥るとともに過剰となったピルビン酸から生じる乳酸が蓄積して乳酸性アシドーシスが生じる。エネルギー消費量が多い中枢神経系でのエネルギー不足と, 乳酸性アシドーシスによる細胞障害が本症の病因である。

PDHC欠損症の病因遺伝子として最も多いのはE1 $\alpha$ 異常に基づくものである。E1 $\alpha$ 遺伝子はX染色体上(Xp22.1-22.244)に局在している<sup>1)</sup>。E1 $\alpha$ 変異遺伝子の女性ヘテロ接合体ではX染色体の不活化により正常細胞と異常細胞とが混在した組織型を呈するが, 中枢神経系では機能低下を必ずしも相補できないため, 女性ヘテロ接合体患者においても中枢神経系の異常を呈する場合が多い。

また, E1 $\beta$ 遺伝子は3番染色体(3p13-q23)に, E2遺伝子は11番染色体(11q23.1)に, E3遺伝子は7番染色体(7q31-q32)に, E1ホスファターゼの2種類のカタリテック・サブユニットに対する遺伝子(PDP1, PDP2)はそれぞれ8番染色体(8q22-23)と3番染色体(3q27-28)に<sup>9)</sup>, E1キナーゼには4種類のアイソザイム

表1 ビルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体の構成成分とその遺伝子座

構成成分	遺伝子座
1. ビルビン酸デヒドロゲナーゼ(E1)	
$\alpha$ サブユニット(E1 $\alpha$ )	Xp22.1-22.244
$\beta$ サブユニット(E1 $\beta$ )	3p13-q23
2. リポ酸アセチルトランスフェラーゼ(E2)	11q23.1
3. リポアミド脱水素酵素(E3)	7q31-q32
4. E1 ホスファターゼ	
PDP1	8q22-23
PDP2	3q27-28
5. E1 キナーゼ	
PDK4	7q21.3-q22.1
6. プロテインX	11p13

があり、このうち PDK4 遺伝子は7番染色体(7q21.3-q22.1)に、プロテインX遺伝子は11番染色体(11p13)に局在している”(表1)。

#### 4. 病 態

本症の臨床症状は多彩であるが、大別して3群に分けることができる”。

第1群は新生児期・乳児早期に多呼吸、けいれん、意識障害、嘔吐などで発症し、重篤な乳酸性アシドーシスを伴い早期に死亡する症例である。

第2群は精神運動発達遅延、けいれん、筋緊張低下などの症状と高乳酸血症で乳幼児期に発見される症例である。この中には特徴的な中枢神経系の病変を呈する Leigh 脳症や特異顔貌がみられることがある。

第3群は軽度の筋緊張低下や失調と高乳酸血症で幼児期から学童期にかけて感染を契機に発見され、男児に多くみられる。この群には大量のビタミンB<sub>1</sub>投与により乳酸値の低下と臨床症状の著明な改善を呈する症例もある<sup>9)</sup>。

また、PDHC 欠損症女児例では West 症候群を合併する頻度が高いので、West 症候群の女児例では血中乳酸および髄液中乳酸の測定を行い PDHC 異常症の有無を検索することも必要である<sup>10)</sup>。

#### 5. 診断と鑑別診断

##### a. 乳酸・ビルビン酸測定

本症では血中および髄液中の乳酸・ビルビン酸が増加しているが、乳酸/ビルビン酸比は正常(10前後)である。しかし、E1 $\alpha$ 欠損症の女性患者では血中の乳酸・ビルビン酸の増加が認められなくとも、髄液中乳酸・ビルビン酸が増加している場合があるので注意を要する。

##### b. 尿中乳酸測定

尿中乳酸は血中乳酸とは異なり、運動、食事摂取や採血時の啼泣などの影響を受けず、また、室温放置でもほとんど変化しないため本症のスクリーニングには有用である。

##### c. PDHC 活性測定

PDHC 活性は筋、培養皮膚線維芽細胞、培養リンパ球を用いて測定されるが、E1 $\alpha$ 欠損症の女性患者ではX染色体の不活化の著しい偏りにより、用いる組織や細胞によってはPDHC活性が正常な場合があり、酵素診断ができない症例もある<sup>11)</sup>。また、ビタミンB<sub>1</sub>大量投与により臨床症状の改善が得られるビタミンB<sub>1</sub>反応性PDHC異常症の酵素診断には、活性型ビタミンB<sub>1</sub>であるチアミンピロリン酸(TPP)の低濃度存在下でのPDHC活性測定が必要である<sup>9,12-14)</sup>。

##### d. 遺伝子診断

乳酸/ビルビン酸比が正常な高乳酸血症女性患者においては、PDHC活性が正常であってもE1 $\alpha$ 欠損症の可能性があるので、遺伝子診断が

必要である<sup>11)</sup>。

#### e. 鑑別診断

鑑別を要する疾患としては、高乳酸血症を来す電子伝達系酵素欠損症、TCAサイクル異常症、二次的に高乳酸血症を来す各種先天代謝異常症や原因不明の高乳酸血症がある。また、E3欠損症の鑑別すべき疾患としては、E3が共通の構成成分である分岐鎖 $\alpha$ ケト酸脱水素酵素複合体欠損症や $\alpha$ ケトグルタル酸脱水素酵素複合体欠損症などがある。

### 6. 治療と予後

本症の治療法は確立されていないが、急性発作時の治療と寛解時の維持療法とに大別される。急性発作時では乳酸性アシドーシスに対する治療が中心で、輸液やアルカリ剤の静脈内投与、腹膜灌流、交換輸血、呼吸管理などが行われる。

維持療法は乳酸の蓄積防止とエネルギー産生障害の改善を目的として、低炭水化物高脂肪食事療法やPDHCの活性化剤であるジクロロ酢酸ナトリウムの投与が試みられている<sup>15)</sup>。また、E1の補酵素であるビタミンB<sub>1</sub>の大量投与に反応するビタミンB<sub>1</sub>反応性PDHC異常症例が比較的多く見いだされているので、まずこの治療法を試みるべきと思われる<sup>9,12-14)</sup>。

また、E3欠損症ではピルビン酸代謝異常以外に分岐鎖アミノ酸代謝異常、 $\alpha$ ケトグルタル酸代謝異常などが認められ、上記治療以外に分岐鎖アミノ酸制限食やリボ酸の投与が試みられている。

新生児期、乳児期発症例の予後は悪く、死亡したり重篤な中枢神経系の後遺症を伴う。年長児例では生命予後は比較的良好であるが、診察時には既に知的障害を認めることが多い。

### ■ 文 献

- 1) Robinson BH: Lactic acidemia: Disorders of pyruvate carboxylase and pyruvate dehydrogenase. In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th ed (ed by Scriver CR, et al), p2275-2295, McGraw-Hill, New York, 2001.
- 2) Bindoff LA, et al: Familial intermittent ataxia due to a defect of the E1 component of pyruvate dehydrogenase complex. J Neurol Sci 93: 311-318, 1989.
- 3) Robinson BH, et al: Defects in the E2 lipoyltransacylase and X-lipoyl containing component of the pyruvate dehydrogenase complex in patients with lactic acidemia. J Clin Invest 85: 1821-1824, 1990.
- 4) Robinson BH, et al: Deficiency of dihydrolipoyl dehydrogenase (a component of the pyruvate dehydrogenase and  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase complexes): A cause of congenital chronic lactic acidosis in infancy. Pediatr Res 11: 1198-1202, 1977.
- 5) Ito M, et al: Decrease of pyruvate dehydrogenase phosphatase activity in patients with congenital lactic acidosis. Clin Chim Acta 109: 1-7, 1992.
- 6) Robinson BH, et al: Disorders of pyruvate carboxylase and the pyruvate dehydrogenase complex. J Inherit Metab Dis 19: 452-462, 1996.
- 7) Lissens W, et al: Mutations in the X-linked pyruvate dehydrogenase (E1)  $\alpha$  subunit gene (PDHA1) in patients with a pyruvate dehydrogenase complex deficiency. Hum Mutat 15: 209-219, 2000.
- 8) Shinahara K, et al: Cloning of a cDNA for human pyruvate dehydrogenase phosphatase and detection of a mutation in a patient with congenital lactic acidemia. Am J Hum Genet 67: 294, 2000.
- 9) Naito E, et al: Thiamine-responsive lactic acidemia: role of pyruvate dehydrogenase complex. Eur J Pediatr 157: 648-652, 1998.
- 10) Naito E, et al: Gender-specific occurrence of West syndrome in patients with pyruvate dehydrogenase complex deficiency. Neuropediatrics, 2001. (in press)
- 11) Matsuda J, et al: DNA diagnosis of pyruvate dehydrogenase deficiency in female patients with congenital lactic acidemia. J Inherit Metab Dis 18: 534-546, 1995.
- 12) Naito E, et al: Molecular analysis of abnormal pyruvate dehydrogenase in a patient with thiamine-responsive congenital lactic acidemia. Pediatr Res 36: 340-346, 1994.
- 13) Naito E, et al: Biochemical and molecular analysis of an X-linked case of Leigh syndrome associ-



- ated with thiamin-responsive pyruvate dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 20: 539-548, 1997.
- 14) Naito E, et al: Concomitant administration of sodium dichloroacetate and thiamine in West syndrome caused by thiamine-responsive pyruvate dehydrogenase complex deficiency. *J Neurol Sci* 171: 56-59, 1999.
  - 15) 内藤悦雄, 伊藤道德: 先天性高乳酸血症の治療: ジクロル酢酸ナトリウム療法. *日本先天代謝異常学会誌* 13: 305-310, 1997.

## ミトコンドリア病(狭義)以外のミトコンドリア病

## ピルビン酸カルボキシラーゼ欠損症

Pyruvate carboxylase deficiency

内藤悦雄

Key words: ピルビン酸カルボキシラーゼ, 糖新生系, 高乳酸血症, 高アンモニア血症, シトルリン血症

## 1. 概念・定義

ピルビン酸カルボキシラーゼ(PC)欠損症は、糖新生系の律速酵素の一つであるPCの遺伝的欠損に基づく疾患であり、1968年に Hommesら<sup>1)</sup>によって、初めて報告された常染色体劣性遺伝形式の先天代謝異常症である<sup>2,3)</sup>。

## 2. 分類

Robinsonは、臨床症状から本症を3つのグループに分類している<sup>2)</sup>。

グループA (infantile form) は高乳酸血症と精神発達遅延が主な症状で、生後5カ月までに発症し、高頻度に近位尿細管性アシドーシスが認められる<sup>4)</sup>。

グループB (neonatal form) は新生児期から高乳酸血症、精神発達遅延、高アンモニア血症、シトルリン血症、高リジン血症がみられ、大部分の症例は生後3カ月以内に死亡する最重症型である<sup>5)</sup>。血中アラニン、プロリンの上昇は両グループで共通にみられる。

グループCは生化学的にはグループAと類似しているが、精神発達遅延がほとんどみられない最軽症型であり、これまでに2症例が報告されている<sup>6,7)</sup>。

## 3. 病 因

PCはビオチンを補酵素とする酵素であり、ピルビン酸からオキサロ酢酸を生成し、糖新生系への基質の供給を行っている。また、生成されたオキサロ酢酸はアスパラギン酸に変換されて、尿素サイクルへのアスパラギン酸の供給およびリンゴ酸サイクルでの中間代謝産物の維持にも関与している。このPC活性は、アセチルCoA/CoA比およびATP/ADP比によって調節されており、肝臓、腎臓において最も高く、脳、筋肉、培養皮膚線維芽細胞、培養リンパ球でも認められる<sup>8,9)</sup>。

PC遺伝子は11番染色体上に位置し<sup>10)</sup>、細胞質でサブユニット前駆体として合成され、ミトコンドリア内に輸送され、サブユニットにプロセスされた後、ミトコンドリア内で四量体を形成する<sup>10)</sup>。PCはビオチン酵素で1サブユニット当たり1分子のビオチンが共有結合している。ヒトのPCのcDNAは3,534bpであり、19エクソンから構成されている。これまでにグループAの患児の遺伝子解析が行われ、4種類の変異が報告されている<sup>11,12)</sup>。

アメリカインディアンの15人のPC欠損症では、A610T(エクソン13)変異が13人に、M743I(エクソン14)変異が2人に見つかった。A610T変異は、ピルビン酸との結合部位に存在し、



要する<sup>3)</sup>。

また、アミノ酸分析では血中アラニン、プロリンの増加とともにグループBでは血中シトルリン、リジンの増加およびグルタミン、グルタミン酸、ピログルタミン酸の尿中排泄増加も認められる。

このように、著増する乳酸に比べてピルビン酸の排泄増加が軽度から中等度であること、フマル酸、リンゴ酸、コハク酸の排泄が著増していることから、高乳酸・高ピルビン酸血症を来す他の疾患とはある程度鑑別が可能であるが、確定診断のためにはPC活性の測定による酵素診断が不可欠である。

PC活性は肝臓、腎臓において最も高いが、PCは非常に不安定な酵素であるため、剖検で得られた肝臓などの組織では確実な酵素診断が困難である。そのため、培養皮膚線維芽細胞や培養リンパ球などの培養細胞を用いたPC活性の測定による酵素診断が必要である<sup>6,9)</sup>。

グループAおよびグループBのPC活性は、いずれも正常対照の5%以下と著明な低値を示している<sup>2)</sup>。また、グループCではVan Costerら<sup>6)</sup>の症例では、培養皮膚線維芽細胞のPC活性は正常対照の5%以下であるが、Hamiltonら<sup>7)</sup>の症例では、正常対照の12-16%の残存活性が認められている。PC蛋白の合成による検討では、グループAおよびグループCの患者の培養皮膚線維芽細胞では正常対照とほぼ同量のPC

蛋白合成が認められたが、グループBの10例中6例ではPC蛋白の合成が認められず、4例ではmRNAも産生されていなかった<sup>2,13)</sup>。

## 6. 治療と予後

乳酸性アシドーシスや低血糖が強い急性期の場合には、対症的にグルコース、重曹の投与が行われる。維持療法としては、乳酸の蓄積防止のため糖質の制限、ピルビン酸代謝促進のためビタミンB<sub>1</sub>、ジクロロ酢酸ナトリウム、ビオチンの投与、エネルギー産生障害是正のためクエン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸、ビタミンB<sub>6</sub>の投与が試みられる。

最近、クエン酸とアスパラギン酸の大量投与をグループBの11カ月女児に対して行い、乳酸とケトン体の著明な低下と血清アミノ酸の正常化がみられた。しかし、患児は3歳6カ月で重篤な精神神経発達遅延がみられており、この治療法により代謝障害は是正されたが、神経学的には予後は不良であった<sup>14)</sup>。

本症に対するビオチンの効果は、ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症と異なり、あまり期待できない。特に中枢神経症状に対してはあまり効果はみられない。

本症の出生前診断は、化学診断では困難であり、培養羊水細胞や絨毛細胞を用いた酵素活性の測定により診断されている<sup>15)</sup>。

## ■ 文 献

- 1) Hommes FA, et al: Leigh's encephalomyelopathy: an inborn error of gluconeogenesis. *Arch Dis Child* 43: 423, 1968.
- 2) Robinson BH: Lactic acidemia: disorders of pyruvate carboxylase and pyruvate dehydrogenase. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed (ed by Scriver CR, et al), p 2275-2295, McGraw-Hill, New York, 2001.
- 3) 黒田泰弘, 伊藤道徳: ピルビン酸カルボキシラーゼ欠損症. 高乳酸血症・ピルビン酸血症 臨床化学診断学(松本 勇, 坂元正一編), p 253-254, ソフトサイエンス社, 1995.
- 4) Robinson BH, et al: The molecular basis for the two different clinical presentations of classical pyruvate carboxylase deficiency. *Am J Hum Genet* 36: 283-294, 1984.
- 5) Greter J, et al: Pyruvate carboxylase deficiency with urea cycle impairment. *Acta Paediatr Scand* 74: 982, 1985.
- 6) Van Coster RN, et al: Pyruvate carboxylase deficiency: A benign variant with normal development. *Pediatr Res* 30: 1-4, 1991.
- 7) Hamilton J, et al: A case of benign pyruvate carboxylase deficiency with normal development. *J In-*