

200936228A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

先天性ケトン体代謝異常症(β -ケトチオラーゼ欠損症、
サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症)の
発症形態と患者数の把握、診断指針に関する研究

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 深 尾 敏 幸

平成 22 (2010) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金研究報告書目次

I. 総括研究報告

先天性ケトン体代謝異常症（ β -ケトチオラーゼ欠損症、サクシニル-CoA：3-ケト酸 CoAトランスフェラーゼ欠損症）の発症形態と患者数の把握、診断指針に関する研究

..... 1

研究代表者 深尾敏幸（岐阜大学）

（資料）先天性ケトン体代謝異常症診断指針

先天性ケトン体代謝異常症 化学診断におけるお願い

II. 分担研究報告

1. ケトン体代謝異常症 患者数把握のための全国調査 7

分担研究者：深尾敏幸（岐阜大学）

2. β -ケトチオラーゼ欠損症の臨床診断に関する研究 9

分担研究者：堀川玲子（国立成育医療センター）

3. β -ケトチオラーゼ欠損症の尿中有機酸分析 15

分担研究者：高柳正樹（千葉こども病院）

4. サクシニル-CoA：3-ケト酸 CoAトランスフェラーゼ欠損症の臨床像 17

分担研究者：新宅治夫（大阪市立大学）

5. β -ケトチオラーゼ欠損症患者における血中アシルカルニチン分析 19

分担研究者：重松陽介（福井大学）

6. タンデムマス・有機酸診断、診断指針作成、症例スクリーニング 21

分担研究者：山口清次（島根大学）

7. 酵素、遺伝子診断（典型例、非典型例、海外の症例を含めて） 25

分担研究者：深尾敏幸（岐阜大学）

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 31

IV. 研究成果の刊行物・別刷 33

I. 厚生労働科学研究費補助金統括研究報告書

先天性ケトン体代謝異常症（ β -ケトチオラーゼ欠損症、
サクシニル-CoA：3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症）
の発症形態と患者数の把握、診断指針に関する研究

研究代表者 深尾敏幸（岐阜大学）

（資料）

先天性ケトン体代謝異常症診断指針
先天性ケトン体代謝異常症 化学診断におけるお願い

統括研究報告書

先天性ケトン体代謝異常症（ β -ケトチオラーゼ欠損症，サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症）の発症形態と患者数の把握，診断指針に関する研究

研究代表者 深尾敏幸 岐阜大学大学院医学系研究科教授

研究要旨

「先天性ケトン体代謝異常症（ β -ケトチオラーゼ欠損症，サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症）の発症形態と患者数の把握，診断指針に関する研究」班において，1）全国アンケート調査による患者数の把握を行い，報告のあった症例はすべて研究班で把握された症例であり，十分な日本症例の把握ができていると考えられた．2）日本における両疾患の臨床的検討，有機酸分析，アシルカルニチン分析結果の検討，酵素遺伝子診断の検討などを行い，成果的な状況を加味して非典型例を含めた診断の指針を作成し，また化学診断を行う先生方に対し「先天性ケトン体代謝 化学診断のお願い」の作成を行った．また酵素診断，遺伝子診断の向上に関する研究も行った．

研究分担者

深尾敏幸・岐阜大学大学院医学系研究科教授
山口清次・島根大学医学部教授
重松陽介・福井大学医学部看護学科教授
高柳正樹・千葉県こども病院医療局長
新宅治夫・大阪市立大学大学院准教授
堀川玲子・国立成育医療センター・第一
専門診療部内分泌代謝科医長

A. 研究目的

小児期にはケトーシスによく遭遇する．一方重篤なケトアシドーシスの中には死亡したり，後遺症を残すような先天性ケトン体代謝異常症が含まれている．先天性ケトン体代謝異常症である β -ケトチオラーゼ（T2）欠損症とサクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ（SCOT）欠損症は，合わせても世界で125例程度，日本で12家系の報告しかない稀な先天代謝異常症である．

研究代表者らは，世界各地から T2 欠損症，SCOT 欠損症の報告例の大半の臨床情報，細胞を集め，診断および分子病態解析を行ってきた．これら疾患の臨床および研究に関して日本の研究代表者らが世界をリードしており，情報発信を続けることが重要である．

これらの疾患は診断が難しい疾患であり，日常診療の中ではいわゆる周期性嘔吐症（自家中毒）と区別がつきにくく診断が適切になされないために重篤なケトアシドーシスを繰り返し，中には精神発達遅滞をきたしたり死亡することもある疾患である．しかし診断さえつければ，高価な治療法を必要とせず，発作を未然に防ぎ正常発達ができる疾患である．そこでこれらの疾患の診断の重要性がある．研究代表

者らにより，両疾患ともに非典型例が存在し，診断されていない例が多く存在する可能性が示唆されている．本研究の目的は，非典型例を含めた発症形態などの臨床像と患者数の把握を行い，世界的な状況を加味して診断の指針を提案することである．

B. 研究方法

1）国内患者把握のためのアンケート調査
実際に日本でどの程度の患者がいるのか？について全国調査を行った．ケトアシドーシス発作を来した症例は開業医や小児科医のいない施設での治療は行われないと考えられ，小児科専門医研修施設へのアンケート調査とした．

2）診断指針作成のための検討
研究班を組織し，図1に示すように1）日本症例を実際に主治医として診療している研究分担者新宅および堀川から詳細なSCOT欠損症，T2欠損症の症例検討をしていただき，臨床診断における問題点を出してもらい，2）患者の化学診断においては，有機酸代謝異常症の疑い日本でこれら疾患が有機酸スクリーニング，タンデムマススクリーニングにかかるため，実際これらの疾患の化学診断に携わった研究分担者山口，重松，高柳がその化学診断の問題点について検討をし，3）酵素診断および遺伝子診断にて確定診断をする立場から研究代表者がその問題点を検討した．また深尾，のところには世界の症例の情報が診断依頼と同時に集まってくるため，その情報も取り入れて「臨床診断，化学診断を含めた診断指針の作成を行った．

3）酵素診断および遺伝子診断のセンター的機能の充実．

日本の症例を含めて酵素診断、遺伝子変異の同定を行う。解析症例数の増加に対応できるよう活性測定法の簡略化、また非特異的症例の解析のための酵素活性の K_m 異常を検出できる系を立ち上げる。患者によっては変異の同定にダイレクトシーケンセス以外の方法も考慮する。CGH アレイによる遺伝子の一部欠失例の変異同定についても検討する。またT2欠損およびSCOT欠損の病態のよりよき理解のために欠損細胞におけるマイクロアレイ解析を行う。

(倫理面への配慮)

臨床情報を収集する場合も連結可能匿名化とする。遺伝子変異解析については『先天性ケトン体代謝異常症の診断と遺伝子解析に関する研究』として岐阜大学医学研究等倫理委員会の承認を既に得ており、十分なインフォームドコンセントを得て、承諾書に署名を得て行った。また今回のアンケート調査においては今回は特に患者の詳細な情報を収集することではなく、診療の経験の有無をたずね、同一患者を複数施設で重複してカウントしないよう名の2アルファベットを示してもらった(イニシャルは避けた)。このようにすることで、疫学調査の指針に触れることなく迅速なアンケート調査を行った。

C. 研究結果

1) 国内患者把握のためのアンケート調査

(分担報告書 深尾敏幸 1)

β -ケトチオラーゼ欠損症、サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症はまれな疾患であり、診断されている症例は重篤なケトアシドーシスを来して有機酸分析などをおこなって診断を受けていることが予想され、アンケートを日本小児科学会の専門医研修施設を行うことで十分症例把握が可能であると判断し、小児科学会専門医研修施設523施設にアンケート調査を行った。回答を72.3%から得た。 β -ケトチオラーゼ欠損症、サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症については、過去何年間にと限定せずに尋ね、原因不明の重篤なケトアシドーシスについては過去3年間について尋ねた。アンケートでは β -ケトチオラーゼ欠損症(T2D)が6例、サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症(SCOTD)については3例の臨床経験が回答され、すべて研究班で現在把握されている症例であった。また原因不明の重篤なケトアシドーシスについても、7例中5例は研究班のメンバーが相談を受けたり、有機酸分析などを行った症例であることが明らかになった。

2) 診断指針作成のための検討

A) β -ケトチオラーゼ欠損症の臨床診断の検討 (分担報告書 堀川玲子)

研究分担者堀川らによって検討された症例は、その後の化学診断(分担研究者 高柳, 山口)、遺伝子診断(分担研究者 深尾)の結果、残存活性をもついわゆる“軽症”変異の症例であった。臨床的には生後7か月の児が、感冒と食事摂取不良

により、呼吸窮迫、活気低下を認め、痙攣が出現し、呼吸循環不全と著明な代謝性アシドーシス、低血糖を認め、生命が危ぶまれる呼吸循環不全を伴った重篤なケトアシドーシスに陥った。ケトアシドーシスの重症度が高度であったこととケトン体産生量が大量であったことから、基礎疾患としてケトン体代謝異常が予想された。生化学的検査では、特徴的な尿中チグリルグリシンと2-メチル-3-ヒドロキシ酪酸の排泄増加が発症時には認められず、診断に苦慮した。しかし、その後のケトアシドーシス時に尿中有機酸分析にて2-メチル-3-ヒドロキシ酪酸の上昇を認めたため、T2欠損症が疑われた症例であった。本症例でも発作間欠期は生化学検査異常は認めなかった。また、本症例の新生児マススクリーニング検査時の濾紙血、発作間欠期、発作時の検体のいずれも、特異的といわれるチグリルカルニチンの上昇は明らかではなく、新生児期の診断は困難であったと考えられた。このような症例においては β -ケトチオラーゼ欠損症を考慮して、一度でなく繰り返し、有機酸分析を行う必要性を示した。本症例は今後急性期治療を検討する上で重要な症例である。

B) β -ケトチオラーゼ欠損症の尿中有機酸分析一急性期に指標物質が明確には確認できなかった症例— (分担報告書 高柳正樹)

研究分担者高柳は堀川らの症例の初回発作時に有機酸分析結果について詳細な報告を行った。そして急性期の尿中有機酸分析にて、3-ヒドロキシ酪酸とアジピン酸葉明瞭に確認できたが、2-メチル-3-ヒドロキシ酪酸、アセト酢酸、2-メチルアセト酢酸、チグリルグリシンは確認できなかった。今回われわれの症例で明らかな指標物質が確認できなかった理由として、前処理法としてウレアーゼ法を用いていることから、これら物質が十分には抽出できなかった可能性が一番考えられたと報告している。本症がまれな有機酸代謝異常症であり、高柳は最初2-メチル-3-ヒドロキシ酪酸、アセト酢酸、2-メチルアセト酢酸、チグリルグリシンは確認できなかったことからサクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症をむしろ疑っており、どちらにしてもケトン体代謝異常の可能性を否定しないことが重要で、診断に至ったと考えられた。

C) サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症の臨床診断の検討。

(分担報告書 新宅治夫)

研究分担者新宅は、日本のサクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症の症例のうち残存活性をもたない兄弟例と残存活性をもつ1例の3例を実際に診療しており、世界の既報告の5例と臨床像の比較検討を行った。意識消失を伴う重度のケトアシドーシス発作をおこすが、血糖、乳酸、アンモニア値はほぼ正常で、尿中有機酸分析でもケトン体の増加以外有機酸代謝異常の所見がないため、診断されないこともある。ケトアシドーシスを認め少しでも本症が疑われた場合早期に酵素診断を行い、注意深い経過観察が必要と考えられた。

D) β -ケトチオラーゼ欠損症のタンデムマス

分析による血中アシルカルニチン分析

(分担報告書 重松陽介)

研究分担者重松は、 β -ケトチオラーゼ欠損症の新生児マススクリーニングおよび化学診断の指標について、遺伝子変異で重症変異型 1 例と軽症変異型 4 例の濾紙血中アシルカルニチン濃度を分析した。重症変異型の症例は、C5OH アシルカルニチン (2-methyl-3-hydroxybutyrylcarnitine) と C5:1 アシルカルニチン (tiglylcarnitine) の濃度が増加していたが、軽症変異型の症例では C5OH アシルカルニチンのみ軽度上昇していた。新生児スクリーニングにおいては、軽症例での C5OH アシルカルニチン濃度上昇の程度では効率的にスクリーニングすることが困難であり、C5OH/C2 比を用いるとより精度の高いスクリーニング指標になる可能性を示唆した。軽症変異型の症例ではアシルカルニチン分析では診断できない可能性があることがわかった。

E) β -ケトチオラーゼ欠損症のタンデムマス分析, 有機酸分析の検討

(分担報告書 山口清次)

研究分担者山口は、日本とアジア諸国 (中国, インド, ベトナム, タイ) の β ケトチオラーゼ欠損症例の診断時の尿中有機酸および血中アシルカルニチン分析所見の特徴を検討した。本疾患では、尿中有機酸分析での 2-methyl-3-OH-butyrates と tiglylglycine の増加, 血中アシルカルニチン分析での C5:1 と C5-OH の増加がそれぞれ特徴的である。しかし、日本人症例では尿中有機酸分析を行った 5 例すべてで、急性期にもかかわらず 2-methyl-3-OH-butyrates の軽度増加を認めるのみであり、アシルカルニチン分析でも異常代謝産物の増加は軽度か、全く認められず、最終診断には酵素診断が必要であった。一方、アジアの症例はいずれの分析でもほとんど全例で、安定期であっても異常代謝産物の著明な増加が認められた。以上より、本症の代謝プロフィールには民族差がありうることを示した。伝背景を明らかにするために、今後 genotype/phenotype correlation を検討する必要がある。日本人患者では本症に特徴的なマーカーの濃度が低いため、タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングで見逃す可能性がある。

F) 酵素, 遺伝子診断 (典型例, 非典型例, 海外の症例を含めて)

(分担報告書 深尾敏幸 2)

β -ケトチオラーゼ欠損症について解析した。山口らの報告したベトナムの典型的有機酸所見, アシルカルニチン所見を呈した 8 例, 本症に特徴的なマーカーの濃度が低い非典型的な所見であった日本の 3 例, その中間の所見であったフランスの 2 例を含めて蛋白遺伝子解析を行った。その結果, ベトナム症例において本症で初めてコモン変異を同定した。その変異は R208X というナンセンス変異であり, 残存活性をもたない変異であり, 重傷変異型の有機酸所見, アシルカルニチン所見が典型的であることが改めて示された。日本症例の 3 例は H144P という非常に残存活性の高い変異であり, 軽症変異型の典型例と考えられ, 有機酸, アシルカルニチン分析での診断が難しいこと

とよく一致していた。

G) 診断指針の作成 (添付資料 A)

以上の研究分担者の検討をふまえ, 研究班班会議にて全員で検討して, 「先天性ケトン体代謝異常症の診断指針」を作成した。基本的な臨床像, どのような患者さんで疑うべきか?, 診断的検査として, 血液ガス, 血糖, アンモニアなど第 1 次スクリーニング, 血中ケトン体, 遊離脂肪酸というケトン体代謝評価, 尿有機酸分析や血液アシルカルニチン分析, 確定診断のための検査とわけて解説した。特にフローチャートを用いて理解しやすい形式とし, 有機酸, アシルカルニチン分析の限界について平易に解説した。これは既に小児科専門医研修施設に 523 施設へ送付済みである。

H) 「先天性ケトン体代謝 化学診断におけるお願い」の作成 (添付資料 B)

実際に代謝異常症が疑われた場合に最初に相談窓口となる化学診断 (有機酸分析やアシルカルニチン分析) を行っている施設である。班会議では著しいケトアシドーシスが有る場合に先天性ケトン体代謝異常症が診断として考えられることをコメントしてもらうのが, 診断への確実なステップであるという結論になり, 先天性ケトン体代謝 化学診断におけるお願い」を作成した。これは診断指針と異なり, 代謝専門家を対象にして, 有機酸分析, アシルカルニチン分析の解釈上の注意を記載したもので, 今後スクリーニングを行っている施設に配布する予定である。

I) 酵素診断, 遺伝子診断の向上の検討

明らかに β ケトチオラーゼ (T2) 欠損症やサクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ (SCOT) 欠損症と酵素診断にてわかっているも, 通常の方法 (ゲノム遺伝子, cDNA レベル) では遺伝子変異が同定できない症例が複数存在し, それは遺伝子診断における問題点となっている。今回高密度 CGH マイクロアレイを T2 遺伝子, SCOT 遺伝子用に作成した。エクソン配列にはほぼ 10 塩基間隔で, イントロン, フランキング領域は 80 塩基間隔で設定し, 遺伝子内欠失を容易に検出することを試みた。ポジティブコントロールとして T2 欠損症で, エクソン 2-4 を含む欠失をホモで持つ症例とエクソン 8-9 を含む重複症例の DNA を混合した仮想患者 DNA (GK300) を作成して用いた。T2 欠損症で変異が不明な GK03, 一方の変異の同定できない GK64, GK51, エクソン 11 が増幅できない GK55 を対象とし, SCOT 欠損症では一方の変異が同定できない GS19, GS20, GS22, 変異が同定されていない SCOT 欠損疑い例 3 例を対象に行った。結果としてポジティブコントロールではエクソン 2-4 を含む欠失とエクソン 8-9 を含む重複が予想通り検出され, 本方法の有用性は示せたが, 変異未同定の症例では新たな欠失, 重複などはこれまでの検出条件では同定されず, 更なる解析を必要とした。

D. 考察

本研究班は, 難治性疾患克服事業の研究奨励分野として採択され, 1 年間 (厳密には半年) 活動した。図 2 にその活動のサマリーを示すが, 計画

したことのほとんどを実施することができ、有意義な研究班活動であったと自己評価している。この研究班で明らかになった重要な点は、 β -ケトチオラーゼ欠損症に日本症例は変異が残存活性をもつ変異であるために、非典型的な有機酸プロフィール、アシルカルニチンプロフィールを持つ例がほとんどで、これら解析の専門家においても教科書的な知識とにギャップがあるということであった。そのため急遽診断指針の作成のみでなく、「先天性ケトン体代謝 化学診断におけるお願い」という専門家向けをお願いを作成した。これで1名でも多くの先天性ケトン体代謝異常症の児が適切に診断されればと期待している。診断さえ適切につければ、安価なグルコースで治療できる先天性ケトン体代謝異常症をいかにして見逃さず、すべての症例が適切に診断され、後遺症なく成長してもらえるかということについてさらに今後活動していきたい。

E. 結論

平成 21 年度難治性疾患克服研究事業、研究奨励分野の「先天性ケトン体代謝異常症 (β -ケトチオラーゼ欠損症、サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症) の発症形態と患者数の把握、診断指針に関する研究」班にて、非典型例を含めた発症形態などの臨床像と患者数の把握を行い、成果的な状況を加味して診断の指針を作成し、また化学診断を行う先生方に対する「先天性ケトン体代謝 化学診断のお願い」の作成を行った。

F. 健康危険情報 該当なし

G 研究発表

1. 論文発表

1) Thümmel S, Dupont D, Acquaviva C, Fukao T, de Ricaud D. Different Clinical Presentation in Siblings with Mitochondrial Acetoacetyl-CoA Thiolase Deficiency and Identification of Two Novel Mutations. *Tohoku J Exp Med* 220:27-31, 2010

2) Fukao T, Zhang G, Matsuo N, Kondo N: CpG islands around exon 1 in Succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) gene were hypomethylated even in human and mouse hepatic tissues where SCOT gene expression was completely suppressed. *Molecular Medicine Reports* 3:355-359, 2010

3) Fukao T, Nguyen HT, Nguyen NT, Vu DC, Can NTB, Pham ATV, Nguyen KN, Kobayashi H, Hasegawa Y, Bui TH, Niezen-Koning KE, Wanders RJA, de Koning T, Nguyen LT, Yamaguchi S, Kondo N. A common mutation, R208X, identified in Vietnamese patients with

mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) deficiency *Mol Genet Metab* in press

2. 学会発表

1) Fukao T, Naiki Y, Tanaka, Kondo N. An exonic splicing mutation identified in a beta-ketothiolase-deficient patient. 11th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, August 29-September 2, San Diego, USA, 2009

2) Nguyen Thi Hoan, Nguyen Ngoc Khanh, Vu Chi Dung, Bui Phuong Thao, Can Thi Bich Ngoc, Khu Khanh Dung, Seiji Yamaguchi, Toshiyuki Fukao, Nguyen Thanh Liem. Clinical and laboratory features of mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) deficiency in Viet Nam. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. March 7-10, Fukuoka, Japan, 2010

3) Toshiyuki Fukao, Hoan Thi Nguyen, Nhan Thu Nguyen, Ngoc Thi Bich Can, Dung Chi Vu, Anh Thi Van Pham, Khanh Ngoc Nguyen, Hironori Kobayashi, Yuki Hasegawa, Thao Phuong Bui, Liem Thanh Nguyen, Seiji Yamaguchi, Naomi Kondo. A common mutation R208X identified in Vietnamese patients with mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) deficiency. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. March 7-10, Fukuoka, Japan, 2010

4) 深尾敏幸, 近藤直実, 内木康博, 堀川玲子, 田中藤樹. エクソン内 1 塩基置換により, Exonic splicing Enhancer 配列に影響し, エクソンスキップを来したミトコンドリアアセトアセチル-CoA チオラーゼ (T2) の 1 症例. 第 54 回日本人類遺伝学会 8 月 24 日-26 日 東京, 2009

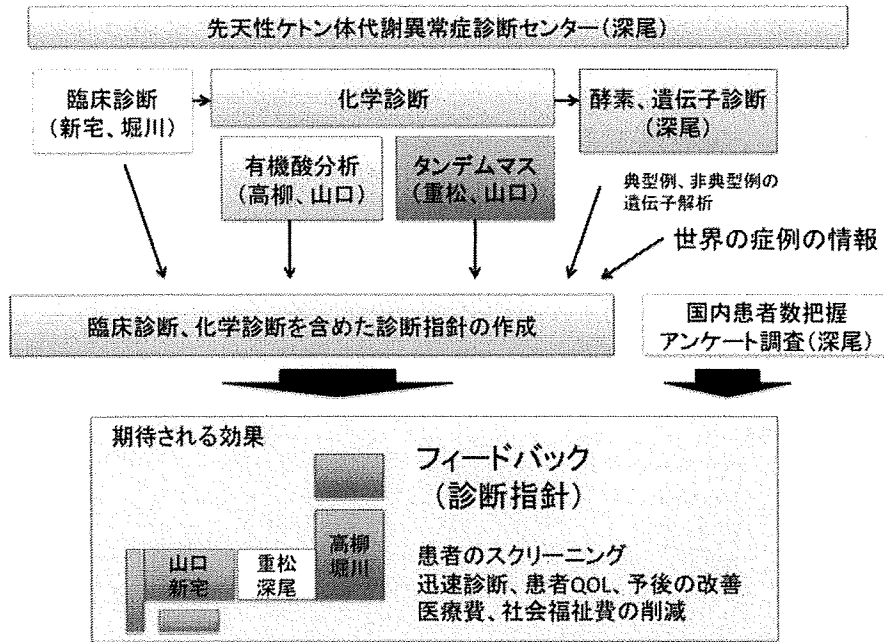
5) 深尾敏幸, 堀川玲子, 内木康博, 田中藤樹. 近藤直実, β -ケトチオラーゼ欠損症の分子病態: Exonic splicing enhancer 変異の解析. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会 11 月 5 日-7 日 東京, 2009

6) 丸山慎介, 豊島光雄, 鍛田直美, 深尾敏幸, 堀川玲子, 内木康博, 田中藤樹. 近藤直実, β -ケトチオラーゼ欠損症の分子病態: Exonic splicing enhancer 変異の解析. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会 11 月 5 日-7 日 東京, 2009

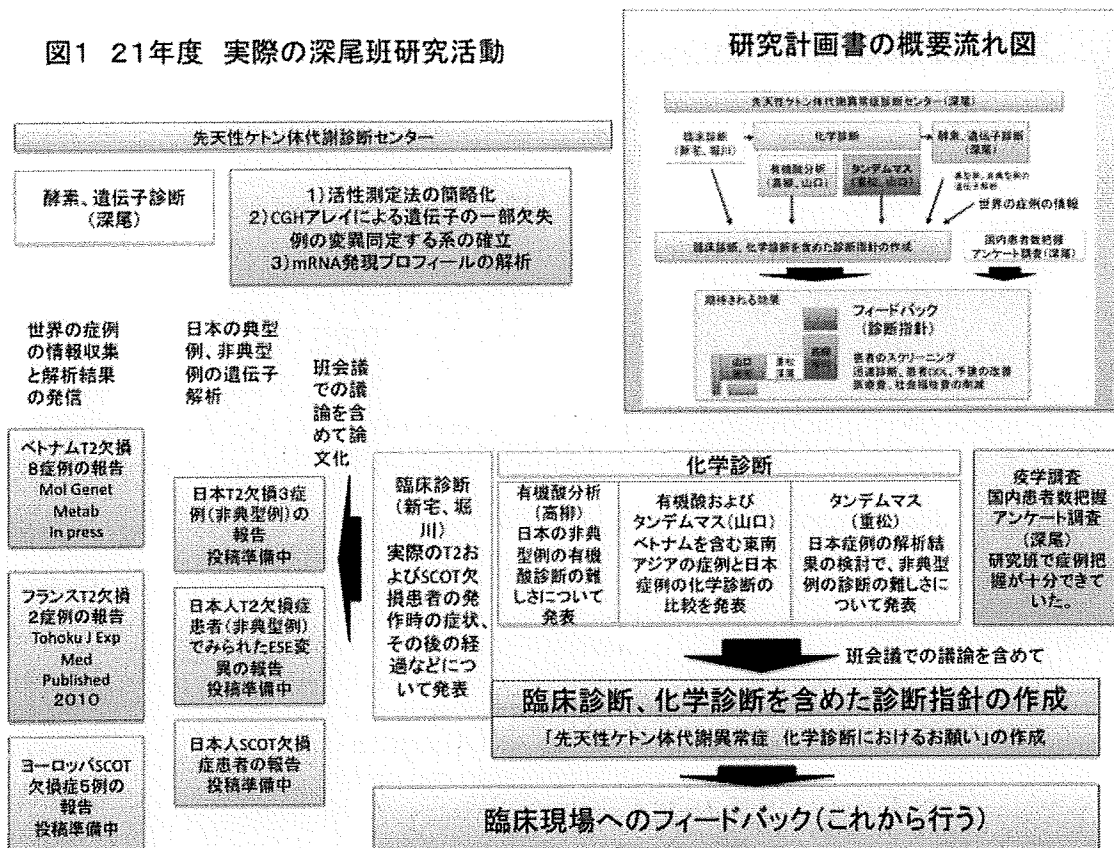
H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

本年度最初に計画した研究班の研究概略図



本年度事後評価に提出した研究実績をいれた研究概略図



先天性ケトン体代謝異常症 診断指針

β -ケトチオラーゼ欠損症

サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoAトランスフェラーゼ欠損症

臨床症状

基本的な臨床像

ケトン体の利用が障害されるため、ケトン体の産生が促進される空腹、発熱、感染などに際して、著しいケトン体の蓄積が生じ、ケトアシドーシス発作をきたす。発作間欠期には全く無症状である。

どのような患者さんにおいてケトン体代謝異常（利用障害）を疑うか？

- 1) 新生児期に、ほ乳不良、嘔吐、筋緊張低下、not doing wellなどで発症して、著しい代謝性アシドーシスをきたした症例。
- 2) 乳児期（特に5～6ヶ月以降）および幼児期に、呼吸器感染症（上気道炎を含む）、急性胃腸炎などに続いて、嘔吐、多呼吸、意識障害などをきたし、著しい代謝性アシドーシスをきたした症例。
- 3) 通常空腹や発熱に対する反応としてはケトーシスが強い症例。
- 4) 元気で無症状なのに、尿ケトンが何度も陽性の症例。

診断的検査

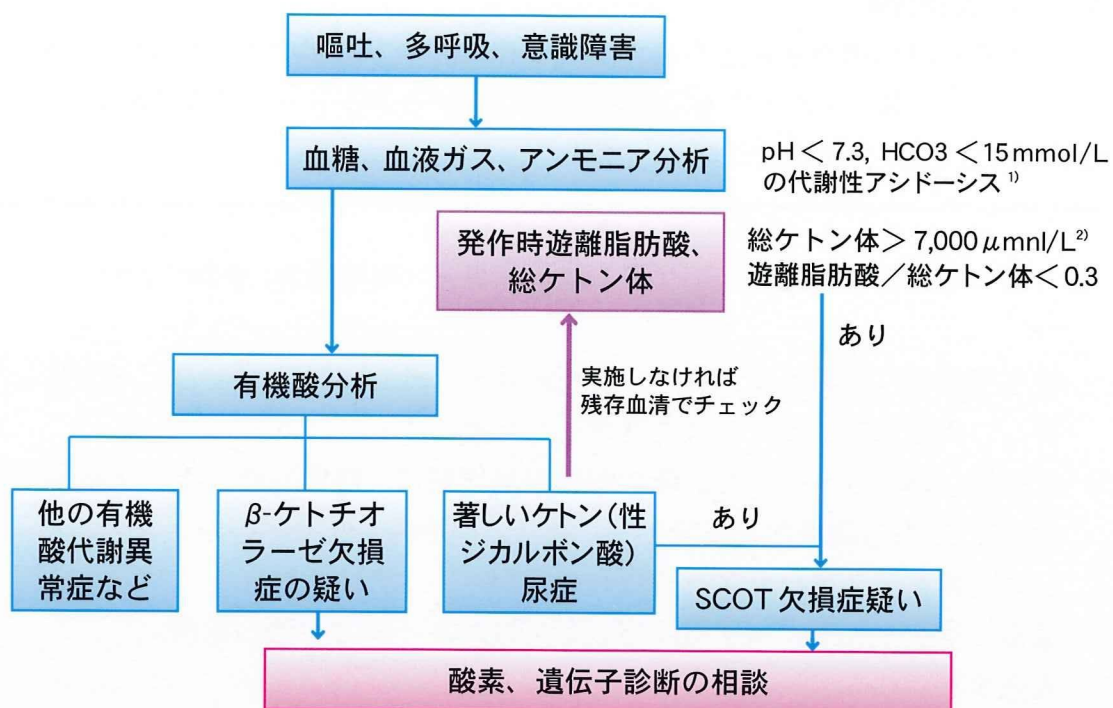
血液ガス、血糖、アンモニアなど第1次スクリーニング検査

まず著しいケトアシドーシス（pH 7.3未満）が存在するかの判定が重要。—これは他の有機酸代謝異常症でも認められるが、生理的な代謝性アシドーシスを超えているかが重要。通常ケトン体利用障害の場合、発作時の血液ガスではpHは6.8～7.2と著しく低い。アンモニアは200～400 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 程度までは上昇することはあるが、2次的な上昇で通常血液透析などを必要としない。通常血糖は正常、時にストレスによる高血糖がみられたり、新生児、乳児期の症例では低血糖のこともある。

血中ケトン体、遊離脂肪酸-ケトン体代謝評価

アシドーシス発作時の遊離脂肪酸、血中ケトン体の同時測定は診断上非常に有用である。

非発作時においても食後2時間などケトン体が本来低いはずの時間帯で著しく高い場合はケトン体利用障害の可能性がある。生理的なケトーシスでは遊離脂肪酸もケトン体と同様に高くなるが、ケトン体利用障害では、ケトン体の値は遊離脂肪酸の値と比して高く、空腹やストレス早期から遊離脂肪酸/ケトン体比は0.3以下となる。この検査は上記3)、4)の症状の患者さんの評価に必要。空腹負荷テストは専門施設において厳重な管理下で行うこと。空腹負荷テストではケトン体利用障害の患者さんでは、15時間空腹でもケトアシドーシスを来すことがあり、慎重に行う必要がある。



1) 通常発作時は pH < 7.2, HCO₃ < 10 mmol/L が多い

2) 通常発作時は総ケトン体 10,000 μmol/L を超えることが多い

尿有機酸分析、血清や血液ろ紙アシルカルニチン分析などの2次スクリーニング

■ 有機酸分析

β-ケトチオラーゼ欠損症では、典型例の場合、発作時、非発作時を問わず尿有機酸分析にて化学診断が可能である。しかし残存活性をもつβ-ケトチオラーゼ欠損症では、診断できないことがある。発作時でも典型的な尿有機酸所見を示さず、「著しいケトン体の排泄、ケトン性ジカルボン酸尿」という返事になることがある。非発作時には 2-methyl-3-hydroxybutyrate

の排泄が極わずかで、正常という判定もありうる。

サクシニル-CoA：3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症では特徴的有機酸はなく、発作時でも「著しいケトン体の排泄、ケトン性ジカルボン酸尿」となる。

発作時尿有機酸分析は、他の著しい代謝性アシドーシスを示す有機酸代謝異常症の否定にとって重要であり、有機酸分析によって「著しいケトン体の排泄、ケトン性ジカルボン酸尿」と原因未定の重篤なケトアシドーシスの場合、 β -ケトチオラーゼ欠損症とサクシニル-CoA：3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症の可能性を常に考えておく必要がある。

■ アシルカルニチン分析

タンデムマスによるアシルカルニチン分析（血清のほうがろ紙より望ましい）でも典型例は診断をうたがうことができるが、上記有機酸分析同様診断できない例があることに注意。

確定診断のための検査（酵素診断と遺伝子診断）

相談窓口 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科／
大学院医学系研究科小児病態学
深尾 敏幸
E-mail : toshi-gif@umin.net
Tel : 058-230-6000（代表）

その他 下記研究班の研究者まで臨床的な問題など相談ください。

酵素診断：ヘパリン加血液からの末梢血単核球、線維芽細胞を用いて行う。 β -ケトチオラーゼ欠損症では血球での測定は参考程度。

遺伝子診断：現在 β -ケトチオラーゼ欠損症では90%以上は通常のゲノムレベルの遺伝子診断で診断可能。SCOT欠損症についてはゲノムレベルでは80%程度の診断率（遺伝子上の欠失の可能性示唆）。現在診断率の向上を検討中。

研究班が存続中は研究として遺伝子診断を受けれます（ただし臨床的、化学診断にて疑われる症例）。

それ以降でも

遺伝子診断—オーファンネット・ジャパン (<http://www.onj.jp/index.html>)
を通して依頼可。

その他 下記研究班の研究者まで臨床的な問題など相談ください。

本指針の内容についての問い合わせ、ご意見等は研究代表者 深尾敏幸 までお願いします。

平成 21 年度難治性疾患克服事業「先天性ケトン体代謝異常症（ β -ケトチオラーゼ欠損症、サクシニル-CoA：3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症）の発症形態と患者数の把握、診断指針に関する研究（H21 - 難治 - 一般 - 173）」班

研究代表者 深尾 敏 幸

（岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学／大学院連合創薬医療情報研究科）

研究分担者

重松 陽介 （福井大学医学部看護学科）
新宅 治夫 （大阪市立大学大学院発達小児医学）
高柳 正樹 （千葉県こども病院）
堀川 玲子 （国立成育医療センター第一専門診療部内分泌代謝科）
山口 清次 （島根大学医学部小児科学）

（文 献）

- 1) 深尾敏幸：ケトン体代謝異常症：特にアセトン血性嘔吐症と鑑別すべきサクシニル-CoA：3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症を中心に。日本小児科学会雑誌 111：723-739, 2007
- 2) Mitchell GA, Fukao T: Chapter 102 Inborn errors of ketone body metabolism. (Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D eds: Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease (8th edition), McGraw-Hill, Inc, New York) 2001, vol 2, pp 2327-2356
- 3) Fukao T, Scriver CR, Kondo N: The clinical phenotype and outcome of mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase deficiency (beta-ketothiolase or T2 deficiency) in 26 enzymatically proved and mutation-defined patients. Mol Genet Metab 72:109-114, 2001
- 4) Fukao T, Zhang G-X, Sakura N, Kubo T, Yamaga H, Hazama H, Kohno Y, Matsuo N, Kondo M, Yamaguchi S, Shigematsu Y, Kondo N: The mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase deficiency in Japanese patients: urinary organic acid and blood acylcarnitine profiles under stable conditions have subtle abnormalities in T2-deficient patients with some residual T2 activity. J Inherit Metab Dis, 26:423-431, 2003
- 5) Fukao T, Shintaku H, Kusubae R, Zhang X-Q, Nakamura K, Kondo M, Kondo N. Patients homozygous for the T435N mutation of succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) do not show permanent ketosis. Pediatr Res 56:858-863, 2004

2 疾患の疾患概要

β-ケトチオラーゼ欠損症

本症は1971年にDaum, Scriverらによってイソロイシンの中間代謝の異常による有機酸代謝異常症としてLancetに初めて報告された疾患である。本症ではイソロイシン中間代謝に働くチオラーゼの欠損が疑われ、それが最終的にはケトン体代謝に働くT2であることが明らかとなり、本症ではイソロイシンの中間代謝のみでなく、ケトン体代謝にも異常があることが明らかとなった。常染色体劣性遺伝性疾患である。

臨床症状と検査

臨床症状は、感染（発熱、嘔吐）が引き金となって、重篤なケトアシドーシスをきたす。2才までに90%が初発発作を起こしており、乳幼児期早期発症の重症アセトン血性嘔吐症のなかに本症が隠れている可能性がある。新生児発症はまれである。さまざまな程度の意識障害を伴う重篤なケトアシドーシスをきたす。発作中に死亡もしくは発作後に精神発達遅滞を生じることがある。

初回発作までは通常まったく無症状で、発作間歇期も無症状で一般検査所見も正常である。低血糖や高アンモニア血症を発作時に認めることも有る。

本症の発作時は通常のアセトン血性嘔吐症や飢餓などへの反応性のケトosisとは程度が異なり血液ガスではpHが7.2を容易に下回る。

診断

診断のためのステップとして、著しいケトアシドーシスのため有機酸代謝異常症が疑われ、尿有機酸分析や血液アシルカルニチン分析が行われる。重要なことは、有機酸分析やアシルカルニチン分析ではっきりした所見はなくても、サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症との鑑別を含めて活性測定などを行うことである。

有機酸分析：典型例では2-メチルアセト酢酸、2-メチル-3-ヒドロキシ酪酸(2M3HB)、チグリルグリシンが尿中に増加し、尿有機酸分析で化学診断可能である。典型例では間歇期でも診断可能であるが、残存活性をもつ軽症変異例では、ごくわずかな2M3HBの排泄があるのみで注意が必要。

タンデムMSによるアシルカルニチン分析：C5:1, C5 OH アシルカルニチンの増加から疑われるが、軽症変異例では診断が困難なこともある。

酵素診断：線維芽細胞、リンパ球を用いてカリウムイオン非存在下と存在下でのアセトアセチル-CoAチオラーゼ活性を測定し、T2の特徴であるカリウムイオン存在下で上昇する活性のないことで診断される。剖検臓器による活性測定も可能である。

遺伝子診断：本症の遺伝子変異は多様性に富み、高頻度変異は認められない。このため遺伝子診断は全エクソンシーケンスを行う。

治療

発作時治療：十分なブドウ糖補給が重要。通常のケトアシドーシスの治療に準じてアシドーシス補正を行うが、重曹投与の過剰による高ナトリウム血症で脳出血を来した症例もあり、注意が必要である。

非発作時の治療：重篤な発作を防ぐことが大切。蛋白異化の亢進する感染時、絶食時などに早期に経静脈ぶどう糖輸液を行って発作を未然に防ぐことが重要である。日常の管理として、摂取蛋白質制限(1.5~2.0g/kg/day)が行われる。Lカルニチン投与が有効であるという報告もある。

予後

本症は、適切な診断がつけば、安価な薬物“グルコース”で重篤な発作を防ぐことができ、成長とともに発作をきたさなくなる(報告例では最終発作10歳)疾患である。重症発作後に精神運動発達遅滞を一時来した症例でもその後キャッチアップしている症例もみられる。女性では無事出産をされている例が複数報告されている。

サクシニル-CoA : 3- ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症

1972年にTildon博士らにより最初の症例が報告され、これまでに20数例が報告されてきた。常染色体劣性遺伝形式をとる。日本では1995年に本邦初症例を新宅、深尾らが報告した。

臨床症状と検査所見

臨床症状は、感染（発熱、嘔吐）が引き金となって、重篤なケトアシドーシスをきたす。本症では約半数が新生児期の異化亢進に伴い初回発作を来しており、新生児ケトアシドーシスの重要な鑑別疾患となる。新生児期に発症しない場合6ヶ月～2才頃に初発発作を起こしており、乳幼児期早期発症の重症アセトン血性嘔吐症のなかに本症が隠れている可能性がある。発作中に死亡もしくは発作後に精神発達遅滞を生じることがある。低血糖を発作時に認めることも有るが、新生児期を除くとまれ。

本症の発作時は通常のアセトン血性嘔吐症や飢餓などへの反応性のケトーシスとは程度が異なり血液ガスではpHが7.2を容易に下回る。ほかの原因による強いケトアシドーシスと臨床的には区別がつかない。嘔吐、筋緊張低下、さまざまな程度の意識障害が認められる。呼吸性の代償のため多呼吸を呈する。

発作間歇期全例まったく臨床症状はない。しかし、重症遺伝子型（残存活性のない変異の症例）では尿ケトンは通常陽性（permanent ketonuria）で、血中のケトン体は食後でも異常高値をとり、permanent ketosis がみられ診断に有用である。残存活性をもつSCOT欠損症患者でも、発作は典型的SCOT欠損症と同程度であるにもかかわらず、permanent ketonuria, ketosis は認められない。日本の残存活性をもつ兄弟例では2日間の尿ケトン検査で尿ケトン陰性のほうが多かった。

診断

臨床診断と化学診断：本症は、ケトーシス、ケトアシドーシスが臨床的に生理的な反応のレベルを超えていると考えられる症例で考慮されるべきである。有機酸分析ではSCOT欠損症に特異的な有機酸は存在しないため、他疾患の除外診断として重要である。

確定診断：培養線維芽細胞、末梢血リンパ球を用いた酵素診断が必要。遺伝子診断も可能である。

治療

発作時の治療：他のケトアシドーシスと同様であるが、肝臓におけるケトン体産生の亢進をおさえるためには十分な糖分の補給が必須である。またアシドーシス補正も重要であるが、重炭酸ナトリウムの投与過剰で高ナトリウム血症をきたし、脳内出血する可能性があり注意が必要である。

間歇期の治療：重篤なケトアシドーシスをいかにおこさないかが重要である。空腹時間を短くすることが基本的な対応となる。夜の間食により夜間の空腹を避けることが試みられて成功している例もある。飢餓をさけ、胃腸炎などで摂食不能時や、発熱など異化亢進時などケトン産生ストレスの時には早期のブドウ糖輸液により重篤なケトアシドーシスを防ぐことである。早期受診、早期対応で安価なグルコースでの治療が可能。

予後

初期の症例は死亡しており、また同胞の乳幼児期の発作によると考えられる死亡が4症例にて報告されている。診断さえはつきりすれば重篤な発作を予防できる疾患と考えられる。また多くの間歇的に症状を呈する有機酸代謝異常症と同様に加齢とともに発作をきたしにくくなる傾向があると考えられる。そのためいかに発作をきたしやすい時期を乗り切るかが重要と考えられる。

先天性ケトン体代謝異常症 化学診断におけるお願い

有機酸分析およびタンデムマス分析を行っている先生方に、先天性ケトン体代謝異常症に関する β -ケトチオラーゼ欠損症、サクシニル-CoA：3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症の診断に関するお願いを以下のようにまとめました。

多くの場合、最初先天性ケトン体代謝異常症の疑いの症例は先生方のところに有機酸代謝異常症や脂肪酸代謝異常症の疑いをもって、検体を送られてくると考えます。そのため早期診断のためには先生方のご協力が必要と考えております。

よろしく申し上げます。

要点

- 1) β -ケトチオラーゼ欠損症では tiglylglycine, 2-methyl-3-hydroxybutyrate, 2-methylacetoacetate がすべて認められるという典型例のみではない。
- 2) ケトン性ジカルボン酸尿で、臨床情報から代謝性アシドーシスが著しい場合 (pH < 7.2 など)、SCOT 欠損症を含むケトン体代謝異常の可能性があるのでコメントしていただきたい。

尿有機酸分析

発作時の尿有機酸分析

発作時の尿有機酸分析では β -ケトチオラーゼ欠損症では、2-methyl-3-hydroxybutyrate 排泄の増加が認められる。tiglylglycine と 2-methylacetoacetate の排泄増加も見られれば、診断はほぼ確実。発作時には大きなケトン体のピーク (3-hydroxybutyrate, acetoacetate) のピークのため特徴的 2-methyl-3-hydroxybutyrate が目立たず、一見ケトン体排泄が目立つのみの場合がある。またこれまで特徴とされてきた tiglylglycine は排泄増多が認められない場合があることに注意が必要。著しいケトン体の排泄が有る場合は質量分析法で 2-methyl-3-hydroxybutyrate があるかどうかの確認が必要となる。ケトン体が動員されているので、ジカルボン酸尿が存在する。

一方 SCOT 欠損症は発作時には大きなケトン体のピーク (3-hydroxybutyrate, acetoacetate) のピークが認められるが、 β -ケトチオラーゼ欠損症でみられる 2-methyl-3-hydroxybutyrate 排泄の異常は認められない。SCOT 欠損症ではケトン体排泄量に比べジカルボン酸の量が通常のケトン性低血糖症や周期性嘔吐症より少ないことが期待される。むしろ他のケトアシドーシスを来す有機酸代謝異常症の否定が重要であり、原因不明の重症ケトアシドーシスが有る場合、ケトン体代謝異常症の疑いを残すことが診断において重要。

非発作時の尿有機酸分析

典型的 β -ケトチオラーゼ欠損症では非発作時でも 2-methyl-3-hydroxybutyrate, tiglylglycine が認められ、診断可能である。一方残存活性のある β -ケトチオラーゼ欠損症では発作間欠期の尿有機酸分析ではほとんど異常が認められないことがある。非発作時の尿有機酸所見から β -ケトチオラーゼ欠損症を否定してはいけない。

注意) 稀な疾患として 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase 欠損症があり、本症では 2-methyl-3-hydroxybutyrate, tiglylglycine が尿中に排泄され、有機酸パターンとしては β -ケトチオラーゼ欠損症と似るが、臨床的には精神運動発達遅滞を主症としており異なる。また本症はまだ日本で報告がない。

血清および血液ろ紙アシルアシルカルニチン分析

β -ケトチオラーゼ欠損症では tiglylcarnitine (C5 : 1), 2-methyl-3-hydroxybutyryl-carnitine (C5OH) の増加で疑うことはできるが、残存活性をもつ β -ケトチオラーゼ欠損症の非発作時では、異常が軽微で診断できない可能性がある。このため新生児マススクリーニングをタンデムマスで行う場合も、すべての本症患者を同定することは難しいと考えられる。

平成 21 年度難治性疾患克服事業「先天性ケトン体代謝異常症 (β -ケトチオラーゼ欠損症、サクシニル-CoA : 3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症) の発症形態と患者数の把握、診断指針に関する研究 (H21 - 難治 - 一般 - 173)」班

研究代表者 深尾 敏 幸

(岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 / 大学院連合創薬医療情報研究科)

研究分担者

重松 陽介	(福井大学医学部看護学科)
新宅 治夫	(大阪市立大学大学院発達小児医学)
高柳 正樹	(千葉県こども病院)
堀川 玲子	(国立成育医療センター第一専門診療部内分泌代謝科)
山口 清次	(島根大学医学部小児科学)

Ⅱ. 厚生労働科学研究費補助金分担研究報告書

先天性ケトン体代謝異常症（ β -ケトチオラーゼ欠損症、サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症）の発症形態と患者数の把握、診断指針に関する研究

分担研究課題：ケトン体代謝異常症 患者数把握のための全国調査

分担研究者（代表） 深尾敏幸 所属 岐阜大学

研究要旨

今回日本における β ケトチオラーゼ欠損症，サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ（SCOT）欠損症の患者数の把握，さらに原因不明の代謝性アシドーシスの症例の経験について全国調査を行った．アンケートでは β -ケトチオラーゼ欠損症が 6 例，サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症については 3 例の臨床経験が回答され，すべて研究班で現在把握されている症例であった．また原因不明の重篤なケトアシドーシスについても，7 例中 5 例は研究班のメンバーが相談を受けたり，有機酸分析などを行った症例であることが明らかになった．

A. 研究目的

今回先天性ケトン体代謝異常症の発症形態と患者数の把握，診断指針に関する研究班において，どの程度の症例が研究班で把握できているのか？今後どのようにして疾患を啓蒙していくべきかについて考える資料とするため，日本における β ケトチオラーゼ欠損症，サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ（SCOT）欠損症の診断されている患者数の把握，さらに原因不明の代謝性アシドーシスの症例の経験について調査を行った．

B. 研究方法

β -ケトチオラーゼ欠損症，サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症はまれな疾患であり，診断されている症例は重篤なケトアシドーシスを来して有機酸分析などをおこなって診断を受けていることが予想され，アンケートを日本小児科学会の専門医研修施設に行うことで十分症例把握が可能であると判断し，右に示すようなアンケート用紙を上述の小児科専門医研修施設 523 施設に送付して，調査を行った．

今回は特に患者の詳細な情報を収集することではなく，診療の経験の有無をたずね，同一患者を複数施設で重複してカウントしないよう名の 2 アルファベットを示してもらった（イニシャルは避けた）．このようにすることで，疫学調査の指針に触れることなく迅速なアンケート調査を行った．

（倫理面への配慮）

今回の調査では個人情報を含まない形で行われた

C. 研究結果

結果を右にまとめた．回答を 72.3% から得た． β -ケトチオラーゼ欠損症，サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症については，

過去何年間にと限定せずに尋ね，原因不明の重篤なケトアシドーシスについては過去 3 年間について尋ねた．

先天性ケトン体代謝異常症の実態把握のためのアンケート

都道府県 _____ 貴病院名 _____

ご記入いただいた先生 _____

貴院で以下の患者さんの経験はあるでしょうか？

- 1) β -ケトチオラーゼ欠損症（ある なし）
- 2) サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症（ある なし）
- 3) 過去 3 年間で原因不明の重篤なケトアシドーシス症例（ある なし）

1～3 ですべてなしとお答えいただいた先生 ありがとうございます

1～3 でどれかでありと答えられた場合以下にご記入お願いします．どの疾患をご経験ですか？上記 1～3 の記号と，病院間でのダブルカウントを防ぐため名前の最初と最後のアルファベット 2 文字（ふかおとしゆきの場合，名前の TOSHIYUKI の下線の 2 文字 TI）を下の表へお願いします．備考としてもし有機酸分析を依頼されておれば，どちらに依頼されたかお教えいただくと幸いです（例 岐阜大学，千葉こども病院）

疾患名 (上記 1-3 の番号)	名前のアルファ ベット 2 文字	備考(有機酸分析、タンデムマス分析)

送付枚数: 523 枚(小児科専門医研修施設)
 宛名不明返却: 6 枚
 回答得たもの: 378 枚(72.3%)
 症例なし: 364 枚
 症例あり: 14 枚

症例あり T2D 6例
 SCOTD 3例
 不明のケトアシドーシス(3年間) 7例

アンケートでは β -ケトチオラーゼ欠損症 (T2D) が6例, サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症 (SCOTD) については3例の臨床経験が回答され, すべて研究班で現在把握されている症例であった。また原因不明の重篤なケトアシドーシスについても, 7例中5例は研究班のメンバーが相談を受けたり, 有機酸分析などを行った症例であることが明らかになった。

D. 考察

現在研究班で把握している β -ケトチオラーゼ欠損症は9例で, サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症は6例 (疑い3例) である。今回のアンケートではこれ以上の症例は報告されず, 確定診断のためには研究代表者らでの活性測定などの確定診断が必要なことから考えると当然とも言える。一方研究班で確定診断された症例がすべて把握されているのが本ケトン体代謝異常症の特徴であるともいえる。

しかし本邦においては, 他の報告で述べるように海外と比べて非典型例が多いことを考えると診断に至らずにフォローされている例もあると考えられ, 啓蒙の意味でも診断指針の作成, 配布は意味があると考えられる。ケトン体代謝異常症は診断さえつければ, 食事指導, 生活指導と早期の安価なグルコース治療が有効であり, 正常発達を期待できる疾患であり, 今後も啓蒙と診断センター的役割を研究班がになっていく必要があると考えられた。

E. 結論

ケトン体代謝異常症である β -ケトチオラーゼ欠損症, サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症の患者数把握のためのアンケート調査を実施し, すべての症例が研究班で把握されていることが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Thümmel S, Dupont D, Acquaviva C, Fukao T, de Ricaud D. Different Clinical Presentation in Siblings with Mitochondrial Acetoacetyl-CoA Thiolase Deficiency and Identification of Two Novel Mutations. *Tohoku J Exp Med* 220:27-31, 2010

2) Fukao T, Zhang G, Matsuo N, Kondo N: CpG islands around exon 1 in Succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) gene were hypomethylated even in human and mouse hepatic tissues where SCOT gene expression was completely suppressed. *Molecular Medicine Reports* 3:355-359, 2010

3) Fukao T, Nguyen HT, Nguyen NT, Vu DC, Can NTB, Pham ATV, Nguyen KN, Kobayashi H, Hasegawa Y, Bui TH, Niezen-Koning KE, Wanders RJA, de Koning T, Nguyen LT, Yamaguchi S, Kondo N. A common mutation, R208X, identified in Vietnamese patients with mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) deficiency *Mol Genet Metab* in press

2. 学会発表

1) Fukao T, Naiki Y, Tanaka, Kondo N. An exonic splicing mutation identified in a beta-ketothiolase-deficient patient. 11th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, August 29-September 2, San Diego, USA, 2009

2) Nguyen Thi Hoan, Nguyen Ngoc Khanh, Vu Chi Dung, Bui Phuong Thao, Can Thi Bich Ngoc, Khu Khanh Dung, Seiji Yamaguchi, Toshiyuki Fukao, Nguyen Thanh Liem. Clinical and laboratory features of mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) deficiency in Viet Nam. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. March 7-10, Fukuoka, Japan, 2010

3) Toshiyuki Fukao, Hoan Thi Nguyen, Nhan Thu Nguyen, Ngoc Thi Bich Can, Dung Chi Vu, Anh Thi Van Pham, Khanh Ngoc Nguyen, Hironori Kobayashi, Yuki Hasegawa, Thao Phuong Bui, Liem Thanh Nguyen, Seiji Yamaguchi, Naomi Kondo. A common mutation R208X identified in Vietnamese patients with mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) deficiency. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. March 7-10, Fukuoka, Japan, 2010

4) 深尾敏幸, 近藤直実, 内木康博, 堀川玲子, 田中藤樹. エクソン内1塩基置換により, Exonic splicing Enhancer 配列に影響し, エクソンスキップを来したミトコンドリアアセトアセチル-CoA チオラーゼ (T2) の1症例. 第54回日本人類遺伝学会 8月24日-26日 東京, 2009

5) 深尾敏幸, 堀川玲子, 内木康博, 田中藤樹. 近藤直実, β -ケトチオラーゼ欠損症の分子病態: Exonic splicing enhancer 変異の解析. 第51回日本先天代謝異常学会総会 11月5日-7日 東京, 2009

6) 丸山慎介, 豊島光雄, 鎌田直美, 深尾敏幸, 堀川玲子, 内木康博, 田中藤樹. 近藤直実, β -ケトチオラーゼ欠損症の分子病態: Exonic splicing enhancer 変異の解析. 第51回日本先天代謝異常学会総会 11月5日-7日 東京, 2009

F

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

先天性ケトン体代謝異常症（ β -ケトチオラーゼ欠損症、サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症）の発症形態と患者数の把握、診断指針に関する研究

分担研究課題： β -ケトチオラーゼ欠損症の臨床診断に関する研究
(ACAT 1 の新規遺伝子変異を認めた軽症 β ケトチオラーゼ欠損症の 7 か月乳児例)

分担研究者 堀川玲子 所属 国立成育医療センター内分泌代謝科

研究要旨

β ケトチオラーゼ (T2) 欠損症は、発熱や感染、摂食不良時などの蛋白異化亢進によるイソロイシン負荷とケトン体産生亢進によるケトアシドーシスを主徴とする、常染色体劣性のケトン体代謝異常症である。診断は、尿の有機酸分析と血中アシルカルニチン分析による生化学診断と、皮膚線維芽細胞を用いた酵素診断、遺伝子診断にて行う。今回我々は本邦 6 例目の T2 欠損症女児を経験した。発症は急激で重篤であり、生化学所見は非特異的であったため診断に苦慮した。遺伝子変異もスプライシング異常をもたらす新規変異であった。確定診断に基づく適切な栄養指導によりその後の重篤な代謝不全の予防が可能であった。

A. 研究目的

β ケトチオラーゼ (T2) は、肝臓では脂肪酸 β 酸化、イソロイシンの中間代謝に働く酵素であり、また肝外組織においてはケトン体の利用にも働く。T2 欠損症は、発熱や感染、摂食不良時などの蛋白異化亢進によるイソロイシン負荷とケトン体産生亢進によるケトアシドーシスを主徴とする、常染色体劣性遺伝疾患であり、報告症例数の少ない稀少疾患と位置づけられている。診断が確定されれば、食事療法と代謝不全時の迅速な対応が可能となり、予後は良好である。

診断は、尿の有機酸分析と血中アシルカルニチン分析による生化学診断と、皮膚線維芽細胞を用いた酵素診断、遺伝子診断にて行う。

今回我々は本邦 6 例目の症例を経験した。初発症状は重篤であり、生化学検査では、重篤な発作時の検体での診断が困難であり、皮膚線維芽細胞を用いた酵素診断と遺伝子診断が確定診断に必要であった。

本研究では、本症例の診断上の問題点を検討し、T2 欠損症の診断基準作成にフィードバックすることを目的とした。

B. 研究方法

T2 欠損症と診断された 7 ヶ月女児を対象に、その臨床経過の特徴を検討した。また、診断確定のため、尿有機酸分析・血中アミノ酸分析・アシルカルニチン分析、皮膚線維芽細胞を用いた酵素活性の検討、遺伝子検査を行い、それぞれの検査所見について診断における有用性と注意点を検討した。

皮膚線維芽細胞は、生検した皮膚より既報の方法で分離培養した。遺伝子検査は、培養線維芽細胞よりゲノム DNA および RNA を抽出し、ダイレクトシーケンス法にて行った。遺伝子の発現解析は、スプライシング異常の有無を確認するため野生型ゲノム DNA のエクソン 9-11 をサブクローニングし、本症例で確認された一塩基置換を挿入し、発現実験を行った。発見された変異のアレル特異性を検討するため、アレル特異的 mismatch プライマーを用い、RT-PCR を行った。

(倫理面への配慮)

本研究においては、すでに健康保険法上で承認されている医療行為や実施するすべてにおいて、保護者に対するインフォームドコンセントを行い、同意を得て行った。

遺伝情報解析については、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に則り施設内倫理委員会にて審査・承認を得、保護者に対するインフォームドコンセントを行い、文書同意を得て行った。

C. 研究結果

症例

主訴 意識障害

家族歴 特記すべきことなし

周産期歴および既往歴

在胎 38 週 4 日、3,452g、51cm にて出生。新生児仮死なし。新生児マスキリーニングは異常を指摘されていない。哺乳・食事摂取は良好。3-4 ヶ月健診の受診なし。離乳食として市販の