

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の患者数把握と、
治療指針作成および長期フォローアップ体制確立のための研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大竹 明

平成22（2010）年 3月

目 次

I. 総括研究報告	
日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の患者数把握と、 治療指針作成および長期フォローアップ体制確立のための研究 研究代表者 大竹 明（埼玉医科大学医学部小児科）	1
（資料）長鎖脂肪酸代謝異常症のアンケート調査用紙	
II. 分担研究報告	
1. 新生児ミトコンドリア疾患 極長鎖アシル-CoA脱水素酵素（VLCAD）欠損症について 遠藤文夫（熊本大学医学薬学研究部 小児科学）	15
2. 脂肪酸代謝異常症の新生児スクリーニング導入の倫理的課題について 奥山虎之（国立成育医療センター 臨床検査部）	18
3. 本邦における Carnitine palmitoyltransferase I（CPT I）欠損症の臨床像について 高柳正樹（千葉こども病院 医療局長）	20
4. タンデムマス法によって発見された長鎖脂肪酸代謝異常症例の検討 長谷川有紀（島根大学医学部 小児科）	22
5. 迅速酵素活性測定+遺伝子解析による 極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素（VLCAD）欠損症の確定診断 但馬 剛（広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学）	26
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	35

〔I〕 総括研究報告

日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の患者数把握と、
治療指針作成および長期フォローアップ体制確立のための研究
総括研究報告

研究代表者 大竹 明 埼玉医科大学医学部 小児科 教授

研究要旨

遠藤は日齢2に心室細動で発症した極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素（VLCAD）欠損症最重症型新生児例を迅速に確定診断し、救命に成功した。奥山は脂肪酸代謝異常症を新生児マス・スクリーニング（NBS）に組み入れる場合の倫理面を考察した。高柳は9例のカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ I（CPT I）欠損症を確定診断した。長谷川はタンデムマス分析で合計17例を脂肪酸代謝異常症疑いと診断した。但馬は4例のVLCAD 疑い症例を解析して2例を確定診断した。大竹はアンケート調査により日本ではCPT II 欠損症とVLCAD 欠損症で長鎖脂肪酸代謝異常症の2/3以上を占めることを明らかにすると共に、突然死症例より2例の脂肪酸代謝異常症を診断した。以上より長鎖脂肪酸代謝異常症は早期発見こそが最重要で、そのためのタンデムマスを用いたNBSの重要性が明らかとなった。

研究分担者

遠藤文夫

（熊本大学医学薬学研究部 小児科学）

奥山虎之

（国立成育医療センター 臨床検査部）

高柳正樹

（千葉こども病院 医療局長）

長谷川有紀

（島根大学医学部 小児科）

但馬 剛

（広島大学大学院医歯薬学総合研究科
小児科学）

症例数が急増しているが、全体像の把握は未だ完全と言うにはほど遠い。そこで本研究においては長鎖脂肪酸代謝異常症の（1）患者数と病状の現状把握、（2）新規の診断基準の作成、（3）病態に合わせた治療指針の作成、（4）今後の長期フォローアップ・支援体制の確立を目的とする。本疾患の管理は、例外はあるものの、基本的には難しくない。今後、タンデムマス法を利用した新生児マス・スクリーニングの進展に伴い新規患者の大幅な増加が見込まれる今こそ、大規模なコホートスタディに基づく正確な病像の把握と、それに準拠した新規の診断・フォローアップ指針の作成が急務と考える。

A. 研究目的

長鎖脂肪酸代謝異常症は、従来から乳児突然死症候群、ライ症候群、インフルエンザ脳症などに紛れて診断のできないまま亡くなる例が多かった。タンデムマス法を中心とする診断法の進歩と相俟って最近診断

B. 研究方法

以下の3つの集団を対象として、タンデムマス法を用いて候補症例をピックアップ

後、班員が協力して酵素診断・遺伝子診断を行い診断を確定する。3つの集団とは、1) タンデムマス法を用いた新生児マス・スクリーニング（NBS）で疑われた症例、2) 乳児突然死症候群やライ症候群、インフルエンザ脳症などとして急性発症した症例、3) 幼児期以降に筋肉痛、脱力、肝機能障害のエピソードなど骨格筋症状で発症した症例である。同時にアンケート調査（資料参照）を実施し、我が国における長鎖脂肪酸代謝異常症の発生状況を調査し、患者数と病状の現状把握を行う。さらに NBS の拡大傾向の強い米国の現状を調査し、どのような倫理的配慮や社会的要請から行われたかも考察する。これらを総合して本疾患のスクリーニングから確定診断に至る診断支援体制を構築する。

（倫理面への配慮）

アンケート調査等による臨床情報の収集は、埼玉医科大学倫理審査委員会の承認を得て行った。遺伝子解析研究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（平成16年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）に基づいて、これとは別に各研究機関の倫理審査委員会において承認を得て行った。

C. 研究結果

遠藤は日齢2に心室細動で発症した極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素（VLCAD）欠損症最重症型新生児例を迅速に確定診断し、救命に成功した。この症例は新生児マス・スクリーニング（NBS）実施以前に発症した症例であり、NBS システムの開発と共にこのような超重症症例に対する対策も必要である。

奥山は脂肪酸代謝異常症を NBS に取り入

れる場合の倫理面を考察し、考慮されるべき倫理的課題を以下の2点としている。1) 疾患によっては、適切な治療法が確立していないものがある。2) 生化学的な診断で脂肪酸代謝異常症と確認できても、発症しないスクリーニング陽性者が存在し、無用な不安を与えることになる場合がある。以上より脂肪酸代謝異常症の NBS を導入するに当たっては、検査前の十分な説明とインフォームド Consent が必要としている。

高柳は方法論に示した1)群（NBS で発見）から2例、2)群（急性発症）から6例、家族内検索からの1例の合計9例のカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ I（CPT I）欠損症を確定診断し、本症を的確に診断していくための診断システムの確立が重要と述べている。

長谷川はタンデムマス分析で、方法に示した1)群（NBS 出発見）から41例中7例（17%）、2)群（急性発症）から36例中8例（20%）、3)群（慢性発症）から2例中2例（100%）の合計17例を脂肪酸代謝異常症疑いと診断した。脂肪酸代謝異常症を NBS に組み入れて早期診断することの重要性を述べている。

但馬は4例の VLCAD 疑い症例を解析して2例を確定診断し、タンデムマスでスクリーニングされた中から非罹患者をいち早く鑑別する意味でも、迅速な酵素診断法の開発が重要としている。

大竹はアンケート調査により日本では CPT II 欠損症と VLCAD 欠損症で長鎖脂肪酸代謝異常症の2/3以上を占めることを明らかにすると共に、突然死症例より2例の脂肪酸代謝異常症を診断した。

大竹はこれと平行して、長鎖脂肪酸代謝

異常症と鑑別が最も重要な疾患の一つであるミトコンドリア呼吸鎖異常症の診断と分子病理に関する研究も行ったので、その結果も簡単に以下に記す。

(1) 合計 292 家系 298 症例から 432 検体（皮膚線維芽細胞 194 検体、肝臓 102 検体、筋肉 94 検体、心臓 27 検体、腎臓 7 検体、脾臓 2 検体など）のご提供を頂いた。261 家系 267 名において BN-PAGE を用いたイムノブロットと活性染色、および *in vitro* 酵素アッセイを用いた蛋白レベルの解析が終了し 103 家系 110 名を呼吸鎖異常症と診断した（診断率 110/267=41.2%）。その内訳は、単独酵素異常症 65 例（特に呼吸鎖 I 異常症が 44 例）、複合型酵素異常症 42 例等である。酵素診断と臨床診断の関係を図 1 に示すが、臨床症状が非常に多岐にわたっている事が分かる。

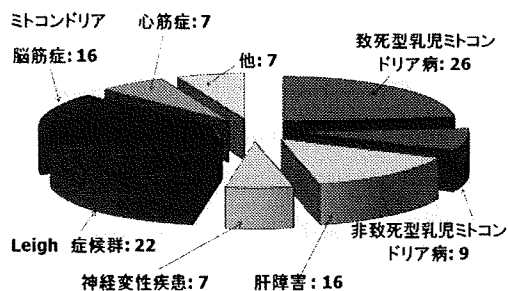


図 1. 酵素診断された患者の臨床診断。

(2) 複合型酵素異常症を中心に mtDNA 枯渇症候群 (MDS) を 15 家系 17 症例に認め、うち肝型 MDS 中 4 家系 6 症例で遺伝子異常を発見できた。内訳は *MPV17* (451insC/S170F) 2 例（兄弟例），*POLG* (I1185T/A957V)+*SUCLG1* (P173A/--) 1 例，*DGUOK* c.143-308_169del1335 homo 2 例（姉妹例），*DGUOK* (L248P/c.143-308_169del1335) 1 例である。特に *DGUOK* c.143-308_169del1335 変異は日

本人のコモン変異の可能性がある。(3) ミトコンドリア遺伝子異常としても既知、未知含めて 20 症例に変異を発見した。結論：BN-PAGE はミトコンドリア呼吸鎖異常症をはじめとする高乳酸血症の鑑別・スクリーニングに大変有用であると思われ、解析の結果日本人にも mtDNA 枯渇症候群と呼吸鎖 I 単独酵素異常症の頻度が高いことが確認された。

D. 考察

長鎖脂肪酸代謝異常症は、早期に診断し簡単な生活指導を行うことにより、その多くで脳症や突然死を避けることが可能である。タンデムマスを用いた NBS とその後の確定診断システム構築の必要性を確認した。

E. 結論

以上よりタンデムマスを用いた NBS の必要性は明らかである。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Ohtake A, Aoki Y, Saito Y, Niihori T, Shibuya A, Kobayashi T, Kure S, Matsubara Y: Non-Hodgkin lymphoma in a patient with cardio-facio-cutaneous syndrome. J Pediatr Hematol Oncol, 32, 2010, in press
- ② Sadakata R, Kodama K, Kaga A, Yamaguchi T, Soma T, Usui Y, Nagata M, Hagiwara K, Kanazawa M, Ohtake A, Hatamochi A: A case of Ehlers-Danlos syndrome type IV, vascular type, demonstrated a newly recognized point mutation in the COL3A1 gene. Inter Med, 49, 2010, in press.
- ③ Komaki H, Nishigaki Y, Fuku N, Hosoya H,

Murayama K, Ohtake A, Goto YI, Wakamoto H, Koga Y, Tanaka M: Pyruvate therapy for Leigh syndrome due to cytochrome c oxidase deficiency. *Biochim Biophys Acta (General Subjects)*, 1800(3): 313-315, 2010

④ Kaji S, Murayama K, Nagata I, Nagasaka H, Takayanagi M, Ohtake A, Iwasa H, Nishiyama M, Okazaki Y, Harashima H, Eitoku T, Yamamoto M, Matsushita H, Kitamoto K, Sakata S, Katayama A, Sugimoto S, Fujimoto Y, Murakami J, Kanzaki S, Shiraki K: Fluctuating liver functions in siblings with MPV17 mutations and possible improvement associated with dietary and pharmaceutical treatments targeting respiratory chain complex II. *Mol Genet Metab*, 97(4): 292-296, 2009

⑤ 内藤幸恵、村山 圭、相澤まどか、大竹明：ミトコンドリア呼吸鎖の酵素活性により診断された新生児ミトコンドリア心筋症。日本未熟児新生児学会雑誌, 21(1):51-55, 2009

⑥ Tajima T, Ohtake A (T. T and O. A equally contribute to this work.), Hoshino M, Amemiya S, Sasaki N, Ishizu K, Fujieda K: *OTX2* loss of function mutation causes anophthalmia and combined pituitary hormone deficiency with a small anterior and ectopic posterior pituitary. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(1): 314-319, 2009

⑦ Murayama K, Nagasaka H, Tsuruoka T, Omata Y, Horie H, Tregoning S, Thorburn DR, Takayanagi M, Ohtake A: Intractable secretory diarrhea in a Japanese boy with mitochondrial respiratory chain complex I deficiency. *Eur J Pediatr*, 168(3): 297-302, 2009

他

2. 学会発表

① Ohtake A et al: Diagnoses and molecular bases of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. 2010年3月7日～10日 (Fukuoka, Japan)

② Ohtake A: Diagnoses and molecular bases of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan. China-Japan inborn error metabolism 2009 招待講演 2009年10月22日～10月24日 (首都医科大学附属北京儿童医院, Beijing, China)

③ Ohtake A et al: Diagnoses and molecular bases of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan. 11th International Congress of Inborn Errors of Metabolism 2009年8月29日～9月2日 (San Diego, California, USA)

④ 大竹 明: ミトコンドリア異常症の新しい展開—日本の現状も含めて—。第136回日本小児科学会埼玉地方会特別講演 2009年5月24日 (さいたま市)

他

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

資料1 一次アンケート調査用紙と

その分析結果

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
「日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の患者数把握と、治療指針作成および
長期フォローアップ体制確立のための研究」ご協力をお願い

研究代表者 大竹 明

担当医 殿

初春の候、ますます御健勝のこととお慶び申し上げます。日頃は大変お世話になっております。

さて、このたび、平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）の「日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の患者数把握と、治療指針作成および長期フォローアップ体制確立のための研究」班による調査を実施致すことになりました。

本調査は、長鎖脂肪酸代謝異常症全般の患者実数と病状を正確に把握し、それを基に本症の各病状・病型に応じた治療指針の作成を試みるもので、埼玉医科大学倫理審査委員会の承認を得て行います。これらを基に、スクリーニング→確定診断→病状に応じたきめ細かな治療とフォローアップに至る、全国的なシステム作りを試みたいと考えております。L-カルニチンの補充や空腹を避けるなどの簡単な指針を徹底すれば長鎖脂肪酸代謝異常症の多くの予後は決して悪くないと考えられます。新生児マス・スクリーニングで発見された症例の多くが無症状で経過していることがそれを裏付けますが、特に乳児期の急性発症後に発見された症例の予後がよくないことと考え合わせ、早急に疫学調査を前提とした確定診断または診断支援体制、治療指針、診療ガイドラインの整備が必要と考えこの研究計画を立案する次第です。

つきましては、ご多忙中誠に恐縮に存じますが、貴診療科における該当患者経験数（死亡例も含め）をご記入いただき、1 月 22 日（金）頃までにご返送下さいますよう、お願い申し上げます。なお、該当患者ありの場合、後日二次調査用紙を改めてお送りいたしますので、何卒宜しくお願い申し上げます。

2010 年 1 月吉日

埼玉医科大学小児科
大竹 明

〒350-0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38
TEL:049-276-1218/1220, FAX:049-276-1790/1220
E-mail: akira_oh@saitama-med.ac.jp

長鎖脂肪酸代謝異常症に関する一次アンケート調査

ご施設名	病院	科
ご住所	〒	
ご芳名		

疾患名	略語	該当症例有無 (どちらかに○印)			1.ありの場合は例数	
					疑い例	確定例
脂肪酸の転送・活性化						
カルニチン転送障害		1.あり	2.なし	→	例	例
脂肪酸転送障害		1.あり	2.なし	→	例	例
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ I 欠損症	CPTI	1.あり	2.なし	→	例	例
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ II 欠損症	CPTII	1.あり	2.なし	→	例	例
カルニチン/アシルカルニチントランスロカーゼ欠損症	TRANS	1.あり	2.なし	→	例	例
長鎖β酸化スパイラル						
極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症	VLCAD	1.あり	2.なし	→	例	例
長鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症	LCHAD	1.あり	2.なし	→	例	例
三頭酵素欠損症	TFP	1.あり	2.なし	→	例	例

お手数ですがこの調査用紙を返信用封筒に入れてご返送下さい。
ご協力誠にありがとうございました。

一次アンケート結果（経験患者数の有無）

疾患名	略語	例数	
		疑い例	確定例
カルニチン転送障害	CRT	1	8
脂肪酸転送障害	FA-Trans	1	
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼI欠損症	CPTI		5
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼII欠損症	CPTII	7	20
カルニチン/アシルカルニチントランスロカーゼ欠損症	Trans		3
極長鎖アシル-CoA脱水素酵素欠損症	VLCAD	4	19
長鎖アシル-CoA脱水素酵素欠損症	LCAD		1
三頭酵素欠損症	TFP	1	3
合計		14	59

930施設中返信581施設（62%）：あり40施設（7%）、なし541施設（93%）

資料2 二次アンケート調査用紙

平成 21 年度厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

「日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の患者数把握と、治療指針作成および長期フォローアップ体制確立のための研究」2 次調査のお願い

研究代表者 大竹 明

各位 殿

先日はご多忙の中、平成 21 年度厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の患者数把握と、治療指針作成および長期フォローアップ体制確立のための研究」班 1 次アンケートにご協力いただき誠に有り難うございました。

一次調査では、41 施設の先生方より、疑い例 14 症例と確定例 59 症例の合計 73 症例のご返事をいただきました。

今回は「症例あり」とご回答いただきました先生方に、より詳しい 2 次調査へのご協力をお願いしたく存じます。ご報告いただきました症例数に予備を数枚加えて 2 次調査票をお送りしますので、宜しくご協力の程をお願い申し上げます。

本研究では、まず各主治医の先生方へのアンケート調査により患者実数と病状を正確に把握し、それを基に長鎖脂肪酸代謝異常症の各病状・病型に応じた診断・治療指針の作成を最終目標としております。これらを基に、スクリーニング→確定診断→病状に応じたきめ細かな治療とフォローアップに至る、全国的なシステム作りを試みるもので、埼玉医科大学倫理審査委員会の承認を得ております。

恐れ入りますが、重複を避けるためにできる範囲で主治医の先生方でお話し合いの上、1 症例 1 枚の 2 次調査票を返信いただければ幸いです。もし詳細不明だが重複の可能性が有る場合には、どこの病院の症例と重複の可能性があるかも分かる範囲でお教えいただければと存じます。

年度末のご多忙中に大変恐縮ですが、貴診療科における該当患者経験数（死亡例を含む）をご記入いただき、本年 4 月 10 日（土）までにご返送いただけますよう、宜しくお願い申し上げます。ご不明の点は下記までお問い合わせ下さい。

2010 年 3 月 23 日

埼玉医科大学小児科 大竹 明

〒350-0495

埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38

TEL:049-276-1218/1220 FAX:049-276-1790/1220

E-mail: akira_oh@saitama-med.ac.jp

長鎖脂肪酸代謝異常症に関する 2 次調査

経験された症例ごとに 1 枚ご記入願います。該当項目の□にレを、また自由記入欄はできる範囲で結構ですので、ご記入下さい。宜しくお願いいたします。

ご施設名	病院	科
ご住所	〒	
先生のご芳名		
E mail address (可能であれば)		
疾患名		

①患者背景

- 1) 性別 ☐ 男 ☐ 女
- 2) 生年月 (西暦) _____年 ____月
- 3) 発症推定年齢 ☐ 症状発症後に診断 _____歳 _____ヶ月
☐ スクリーニングで診断 _____歳 _____ヶ月
- 4) 診断年齢 _____歳 _____ヶ月
- 5) 基礎疾患 ☐ 有 ☐ 無

基礎疾患の有る場合はそれについてのコメントをお願いします。

6) 家族歴

ライ様症候群 ☐ 有 ☐ 無

有の場合は姻戚関係：

新生児・乳児突然死 ☐ 有 ☐ 無

有の場合は姻戚関係：

繰り返す低血糖発作やけいれん性疾患 ☐ 有 ☐ 無

有の場合は姻戚関係：

筋疾患（筋緊張低下、筋力低下、労作時の筋痛、横紋筋融解症 等）

☐ 有 ☐ 無

有の場合は姻戚関係：

心疾患（心肥大、心内膜線維弾性症 等） ☐ 有 ☐ 無

有の場合は姻戚関係：

肝症状（肝腫大、肝機能障害 等） ☐ 有 ☐ 無

有の場合は姻戚関係：

その他 ☐ 有 ☐ 無

有の場合はその詳細と姻戚関係：

②発症時の症状・所見（あてはまるもの全てに印を付けて下さい。発症時に診察されていない場合には分かる範囲でお願いします。）

☐ マス・スクリーニング陽性

☐ 急性発症

↓

- | | | | |
|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| ☐ 哺乳障害 | ☐ 筋緊張低下 | ☐ 呼吸障害 | ☐ 嘔吐 |
| ☐ けいれん | ☐ 低血糖 | ☐ 高アンモニア血症 | |
| ☐ 家族歴異常 | | | |
| ☐ 肝障害 | ☐ 心症状 | ☐ 筋力低下 | ☐ 労作時筋痛 |
| ☐ 横紋筋融解 | | | |

☐ 慢性発症

↓

- | | | | |
|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| ☐ 哺乳障害 | ☐ 筋緊張低下 | ☐ 呼吸障害 | ☐ 嘔吐 |
| ☐ けいれん | ☐ 低血糖 | ☐ 高アンモニア血症 | |
| ☐ 家族歴異常 | | | |
| ☐ 肝障害 | ☐ 心症状 | ☐ 筋力低下 | ☐ 労作時筋痛 |
| ☐ 横紋筋融解 | | | |

③発症時の検査値（できる範囲で貴院での単位もご記入下さい）

AST ALT CK NH3

血糖

ガス分析 ☐ 動脈 ☐ 静脈

pH HCO₃⁻ BE

血中総ケトン体 3-OH 酪酸 アセト酢酸

血中遊離脂肪酸

尿中ケトン体

血中フリーカルニチン

アシルカルニチン

血中乳酸

ピルビン酸

血中アミノ酸分析（特徴的なもののみご記入下さい）

尿中有機酸分析（特徴的なもののみご記入下さい）

血中アシルカルニチン分析（タンデムマス：特徴的なもののみご記入下さい）

④確定診断方法

1) 酵素活性 ☐実施 ☐未実施

その詳細：（測定法と値をお教え下さい。できればどなたに測ってもらったかもお教え下さい。）

2) 遺伝子検査 ☐実施 ☐未実施

その詳細：

⑤治療：行った場合は下欄に具体的にお書き下さい

☐ 生活指導（空腹を避ける、早めの病院受診 等）

☐ コーンスターチ

☐ 頻回食

☐ 食事中の脂肪摂取減量

☐ MCT 摂取

☐ L-カルニチン

☐ その他

⑥合併症

☐ ライ（様）症候群

☐ 乳児突然死あるいはそのニアミス

☐ インフルエンザ脳症

☐ 精神発達遅滞（☐軽度 ☐重度 ☐程度不明）

☐ けいれん（てんかん）

☐ 心臓（あれば具体的に _____ ）

☐ 肝臓（あれば具体的に _____ ）

☐ 筋肉（あれば具体的に _____ ）

☐ 腎臓（あれば具体的に _____ ）

⑦予後

☐ 生存： _____ 歳で、☐intact survival ☐後遺症あり

☐ 死亡： _____ 歳で、死因は _____

⑧共同研究者と共に、酵素&遺伝子診断にご協力いたしますので、ご希望の方はご連絡下さい。

研究代表者

埼玉医科大学小児科 大竹 明

共同研究者

熊本大学小児科 遠藤 文夫

国立成育医療センター・臨床検査部 奥山 虎之

千葉県こども病院・代謝科、小児救急総合診療科 高柳 正樹

島根大学小児科 長谷川 有紀

広島大学小児科 但馬 剛

お手数ですがこの調査用紙を返信用封筒に入れてご返送下さい。
ご協力誠にありがとうございました。

〔II〕 分担研究報告

分担研究報告 1)

新生児ミトコンドリア疾患
極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症について

分担研究者 遠藤文夫
熊本大学医学薬学研究部
小児科学分野

研究要旨

先天代謝異常症の中でも新生児に発症するものは最重症型であり、突然死症例として発見されることも稀ではない。脂肪酸 β 酸化異常症の1つである Very long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency (VLCAD 欠損症)の新生児に対し、迅速な救急対応にて救命、正常発達が見込める症例を経験したので診断治療に体制について考察した。診断が確定すれば、日常生活の管理、薬物療法により発作予防可能であり、正常発達が期待される。タンデムマスクリーニングでの発症予防は不可能であったが、診断においては効果的であり、また他大学との連携により迅速な確定診断が可能であった。

A. 研究目的

乳幼児の突然死に脂肪酸代謝異常症が関与する報告があるが、救急では十分な検査がおこなえず、原因不明の突然死として処理されるケースも少なくないと思われる。今回われわれは心室細動を呈し、迅速な対応で救命しえた Very long-Chain acyl-coenzyme A dehydrogenase (VLCAD) 欠損症の新生児例を経験したので報告する。

B. 研究方法

症例の検討

在胎 39 週 4 日、3566g 自然経膣分娩で出生した男児である。両親に血族結婚はなく、家系内に特に突然死、先天代謝異常、心疾患を認めない。日齢 1 に呻吟、多呼吸が出現したが、自然に軽快するため経過観察していた。日齢 2 に呼吸障害で肺炎を疑い、抗生剤投与後、小児科医不在のため、近隣の小児救急拠点病院に往診依頼した。小児科医診察時は SPO_2 99%、HR : 108/分、RR : 80/分、活気なく capillary refill の経過遅延を認めた。低血糖 (42mg/dl)、高 K 血症 (7.05mmol/L)、血液ガス

分析は pH 7.294, pCO_2 29.4mmHg, pO_2 35.6mmHg, HCO_3^- 13.8mmol/L, BE -11.1mmol/L, anion gap 25.2mEq/L と代謝性アシドーシスを認めた。その後、呼吸心拍モニターで観察中に突然、心室細動となった。

小児科医による補助換気、心臓マッサージ、カルチコール、ボスミンを投与し約 30 分で洞調律に回復した。メイロン補正、GI 療法を行いながら当院搬送となった。来院後は低血糖、アシドーシス、高 K 血症はすみやかに改善し、心機能回復にしばらく要したが、不整脈の発症は認めなかった。入院時のタンデムマス分析で、VLCAD 欠損が疑われた(表 2)。

C. 研究結果

リンパ球脂肪酸酸化能試験(表 3、福井大学)においても VLCAD 欠損が強く疑われた。酵素活性も低値(表 4)であり、遺伝子検査(図 2、広島大学)ではエクソン・イントロンジャンクションに変異をみとめ、スプライシング異常が疑われる。現在、生後 1 歳 3 か月でほぼ正常の発達をみている。1 歳時に嘔吐下痢症でアシドーシス発作を起こしたが、早

期の輸液療法により悪化せずに軽快している。

VLCAD 欠損症はミトコンドリア脂肪酸 β 酸化において、長鎖脂肪酸が代謝されず、低血糖、筋力低下を主症状とする脂肪酸代謝異常症である。常染色体劣性遺伝で頻度は約 15 万人出生に 1 例と推測されている。重症例では新生児期から乳児期にかけて低血糖、高アンモニア血症、心筋、骨格筋障害を呈し、突然死をきたすことがある。また、新生児期に心室細動、呼吸停止で発症した例も報告されている。本例はまさに心室細動で発症した貴重な例と考えられる。小児科医がベッドサイドにいた時に心室細動となり、迅速な対応により救命できた。当院搬送時はアシドーシスは軽快してきており、ブドウ糖輸液が改善をもたらしたものと考えられた。当初はミトコンドリア異常症や何らかの心筋障害による 2 次的な異常も考えられたが、診断にいたる過程ではタンデムマス分析が非常に有用であった。熊本県ではパイロットスタディーとして数年前から分析を開始し、2 年前からは 100%近い同意率で新生児マススクリーニングに導入している。今回の事例は日齢 2 の発症であり、スクリーニングには該当しなかったが、ハイリスク児スクリーニング検査で迅速に異常が検出された。タンデムマスでは表 2 にしめすように、C14:C16, C16+C18/C2 が上昇しており、VLCAD 欠損症が最も考えられた。この時点で治療としては MCT ミルク、カルニチンの補充を行いながら次の診断ステップとしてリンパ球脂肪酸酸化試験を福井大学、重松先生にお願いした。結果を表 3 に示す。

表 2：タンデムマス分析

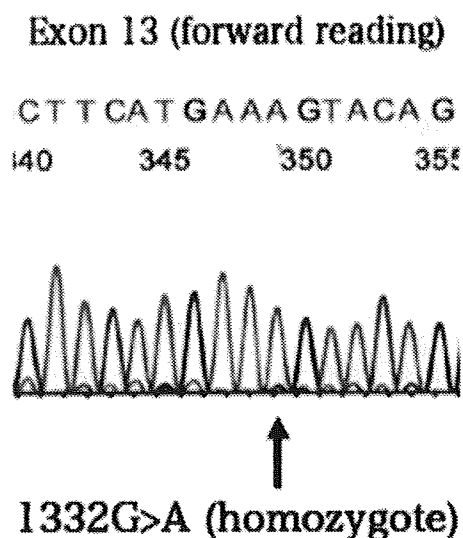
表 3：リンパ球脂肪酸酸化能試験

Subject	Palmitoyl-CoA dehydrogenase activity (pmol/min/106 lymphocytes)
Patient	0.42
Control	25.1
Normal (n=31)	54.5 $\pm$ 17.5

表 4：酵素活性

リンパ球を用いた脂肪酸酸化能試験は培養リンパ球に重水標識脂肪酸を添加し、反応後のアシルカルニチンを分析するものである。これにより、脂肪酸のどの段階に障害があるのか生きた細胞を用いて診断可能である。C14 から C12 のステップの障害が考えられ、VLCAD 欠損を示唆するものであった。最終診断として酵素活性測定と遺伝子検査を広島大学但馬先生にお願いした。表 4 に酵素活性、図 2 に遺伝子診断の結果を示す。著明な活性低下を認めると同時に、遺伝子診断でエクソンイントロンジャンクション部の 1 塩基変異を認めた。スプライシング実験や mRNA の解析は行っていないが、おそらくエクソンスキップか新しいジャンクションの形成につながる変異と思われた。

Index	Data(nmol/ml)	Cut off
Index	Mean $\pm$ SD	Patient
dC2	271.2 $\pm$ 124.8	115.7
d ₂ :C12	13.95 $\pm$ 8.53	15.24
d ₂ :C14	20.06 $\pm$ 10.91	574.71
d ₃ :C16	70.76 $\pm$ 41.97	485.04
d ₂ :C12/d ₂ :C14	0.632 $\pm$ 0.2	0.027
dC2/d ₃ :C16	4.91 $\pm$ 2.56	0.24



図：遺伝子診断

以上のように原因不明の心室細動など心筋障害、心伝導系障害の場合にも、先天代謝異常を鑑別することは重要であり、タンデムマス分析は本例が早期発症のため発症前診断には至らなかったが、手掛かりとしても非常に有用と思われた。逆にこのような早期発症例ではタンデムマスの限界も明らかになった。また、リンパ球を用いた脂肪酸酸化能試験はタンデムマススクリーニングの次の精査としての意義は大きいことが確認された。遺伝子診断についてはこれまでに報告されていない変異と思われ、貴重な症例と考えられる。

本例のように重症型であっても、MCT ミルクの使用、カルニチン内服、食事療法によって、次回発作の予防が可能と思われた。また、そのことにより正常発達が期待される。飢餓状態、特に嘔吐下痢症などの時は早期のブドウ糖輸液が必要である。本例においても1歳児嘔吐下痢に伴うアシドーシス発作を経験したが早期の十分な輸液により改善した。今後

は運動に対する筋症状に対する注意が重要と考えられる。

D. 考察

心室細動で発症した VLCAD 欠損症を報告した。救命しえたものの非常に危険な疾患であることがあらためて認識された。診断が確定すれば、日常生活の管理、薬物療法により発作予防可能であり、正常発達が期待される。タンデムマススクリーニングでの発症予防は不可能であったが、診断においては効果的であり、また他大学との連携により迅速な確定診断が可能であった。

E. 結論

今後は早期発見のシステムを確立する必要がある。タンデムマススクリーニングは特に重要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし