

2. 各種溶液投与後の GC/MS を用いる肝内代謝中間体のメタボローム解析と肝内 glycerol 3-phosphate (G3P) 濃度の変化

(1) 肝臓サンプルの調製と GC/MS 解析
蔗糖 (10g/kg ; 50%溶液 20ml/kg) を、胃ゾンデを用いて強制投与し、1 時間後に freeze-clamp 法によって肝臓を採取し、液体チッソ下に肝臓を粉末化した。肝臓粉末を約 5・10 倍量の 3% perchloric acid (PCA) でホモジナイズし、遠心上清を得て、中和・シリル化後、GC/MS のサンプルとした。

(2) 蔗糖、グリセロール、およびエタノールの強制投与後の肝内 G3P の酵素法による定量測定

蔗糖溶液、5% グリセロール溶液 (1g/kg)、または 9% エタノール溶液 (1.8g/kg) を強制投与 1 時間後に freeze-clamp 法により肝臓を採取し、(1) と同様に処理して PCA 中和サンプルを調製し、glycerol 3-phosphate dehydrogenase を用いる酵素法 (Lange. Methods of Enzymatic Analysis 1984; Vol VI: pp.525-530) により G3P を定量した。

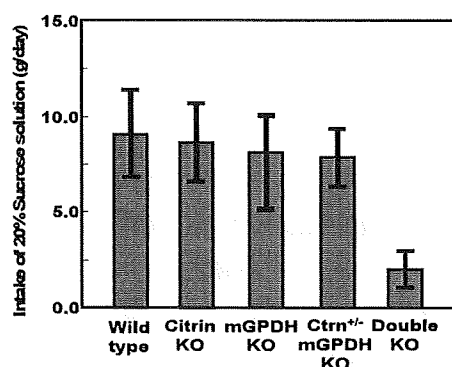


図 1. 蔗糖摂取量の遺伝子型による相違
蔗糖と水の自由摂取可能な条件下での 20% 蔗糖溶液の摂取量をマウス間で比較した。

C 研究結果

これまでの症例報告の検討から、糖質摂取は CTLN2 発症の誘因となり、またその摂取を患者は嫌っていることが明らかになっている。そこで citrin/mGPDH double KO マウスにもそのような性癖があるかどうかを検討するとともに、糖質の強制投与は肝内のどのような代謝物質の変動を起すかを検討することとした。

1. シトリン欠損症モデルマウスは、糖質摂取を嫌う。

20% 蔗糖溶液と水のどちらでも自由に摂取可能な装置を開発し、蔗糖の摂取を、Citrin^{+/}/mGPDH^{+/} マウスを含め、5 種の遺伝子型を持つマウスで検討した。その結果を図 1 に示す。Citrin/mGPDH double KO マウスを除くすべてのマウスはエネルギー源でもある蔗糖溶液を好み、大量に摂取す

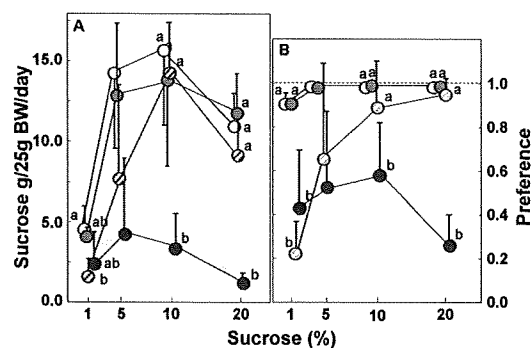


図 2. 蔗糖摂取量と嗜好度 (preference)

1%、5%、10%、20% 蔗糖溶液と水を自由摂取させ、野生型 (○)、citrin KO (灰色丸印)、mGPDH KO (斜線入り丸印)、double KO (●) マウスの摂取量と嗜好度を計算した。同じ濃度での動物間の差異は ANOVA (Tukey 法) により検定した。

ることが判明した。それに比し、ダブル KO マウスは蔗糖溶液を他のマウス同様には、大量に摂取する事ができないことを示している。

2. 定量的嗜好実験による蔗糖、サッカリン、グリセロール、およびエタノールの摂取調査

1) 蔗糖摂取量と嗜好性

そこで、蔗糖を含む各種の溶液の詳細な定量的摂取実験を行った。それぞれの濃度を変え、4 種のマウスを用い、摂取量と嗜好度 (Preference) を測定・計算した。低濃度での mGPDH KO マウスの反応は特殊で更なる解析が必要と考えられるが、高濃度では citrin/mGPDH double KO マウスでのみ摂取量、嗜好度共に低く、摂取できない状態にあり、ヒトと同じ病態を示すものとする。

2) サッカリンの摂取量と嗜好性

モデルマウスの蔗糖摂取量、および嗜好性が低いのは、甘いもの一般が嫌いなためなのか、その代謝の結果、何らかのシグナルが脳へ伝達されて飲めなくなっている

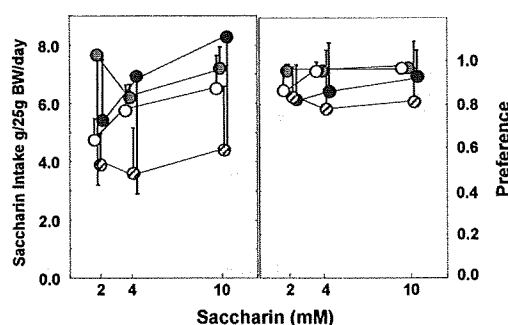


図 3. サッカリンの摂取量と嗜好度

2mM、4mM、10mM のサッカリンの摂取実験を行い、摂取量と嗜好度を計算した。その他の条件は図 2 参照。

のかを検討するため、サッカリンを用い、同様の実験を行った。

その結果を図 3 に示す。摂取量にはばらつきがあるが、いずれにしても 4 種のマウス間になんらの差異は見いだせなかった。結果を図には示さないが、蔗糖摂取後には、モデルマウスのサッカリンの摂取量も嗜好性も低下した。この結果は、蔗糖の代謝による忌避の反応とそれを記憶した場合のサッカリン摂取・嗜好の変化を示すものと考えている。

3) グリセロールとエタノールの摂取・嗜好度

アルコールの摂取とグリセロールの投与は CTLN2 発症の誘因と考えられる。そこで、これらの溶液の嗜好度を検討した。図 4 では嗜好度のみを示すが、摂取量においても同様の結果であった。Citrin/mGPDH KO マウスのグリセロール嗜好度は、1% では他のマウスと差はないが、5% と 10% では mGPDH KO マウスと共に低下し、野生型と比し、大きく低下した。さらに 10% では citrin KO マウスにおいても野生型と比し、低下し、他の KO マウスのレベルと同様になった。Citrin/mGPDH KO マウスのエタノール嗜好度は、3% において野生型マウスと比し、すでに有意に低い値を示し、5% と 10% においてはほとんど摂取しない結果となった。これに遅れて mGPDH KO マウスの嗜好度が低下し、10% では有意に野生型より低い嗜好度となった。Citrin KO マウスは、SD が大きく、野生型マウスと mGPDH KO マウスの中間値を示した。

これらの結果から、シトリン欠損症モデルである citrin/mGPDH KO マウスは野生型マウスと比し、明らかに蔗糖と同様にグリセロールとエタノールの摂取を嫌ってい

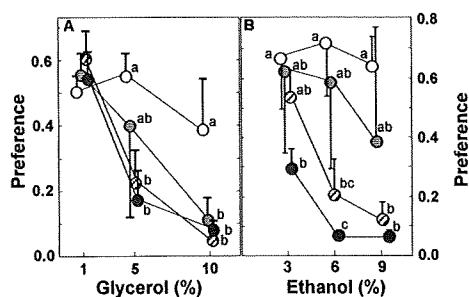


図4. グリセロールとエタノールの嗜好度

(A) グリセロールは1%、5%、10%、(B) エタノールは3%、6%、9%溶液で摂取実験を行った。その他の条件は図2参照。

ることが判明した。また、他の KO マウスも高濃度のグリセロールやエタノールを苦手とすると考えられる。

3. メタボローム解析による代謝中間体マーカーの発見

上記の実験と同時進行で、肝内代謝物から。シトリン欠損症モデルマウスに特異的なマーカーを見だし、これを治療法開発

のマーカーにしたいと考え、GC/MS によるメタボローム解析を行った。

1) GC/MS 解析

GC/MS 解析では、解糖系中間体、TCA サイクル中間体、ならびにアミノ酸の検出が可能である。4 種のマウスで行ったメタボローム解析結果を図5に示す。本実験では double KO マウスで特異的に変化する代謝物を検索した。TCA サイクル中間体濃度が低下している可能性があるが、double KO マウス特異的ではないと考え今回は更なる解析は行わなかった。4 種の摂食マウスの比較から glycerol 3-phosphate (G3P) に特異な変化が存在する可能性が示されたので、さらに mGPDH KO マウスと double KO マウスを用い、蔗糖投与の効果を検討した。

結果は図6に示すように蔗糖投与に伴って、double KO マウスの G3P 濃度の変化は顕著であった。さらにアミノ酸では、アラニンとアスパラギン酸濃度の低下が認められたが、蔗糖投与には応答した変化は見られなかった。

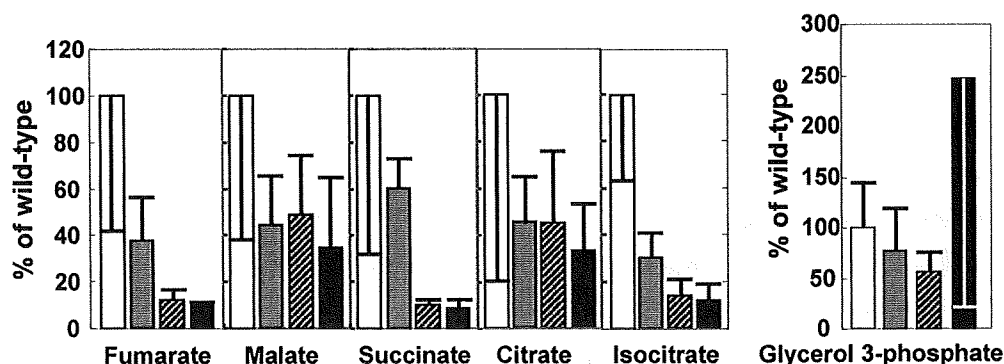


図5. GC/MS による肝内 TCA サイクル中間体と glycerol 3-phosphate 濃度の比較。

野生型マウスの濃度を 100%とした相対比で表した。n=3~9 匹。カラムは、野生型 (白)、citrin KO (灰色)、mGPDH KO (斜線)、citrin/mGPDH double KO (黒) を示す。

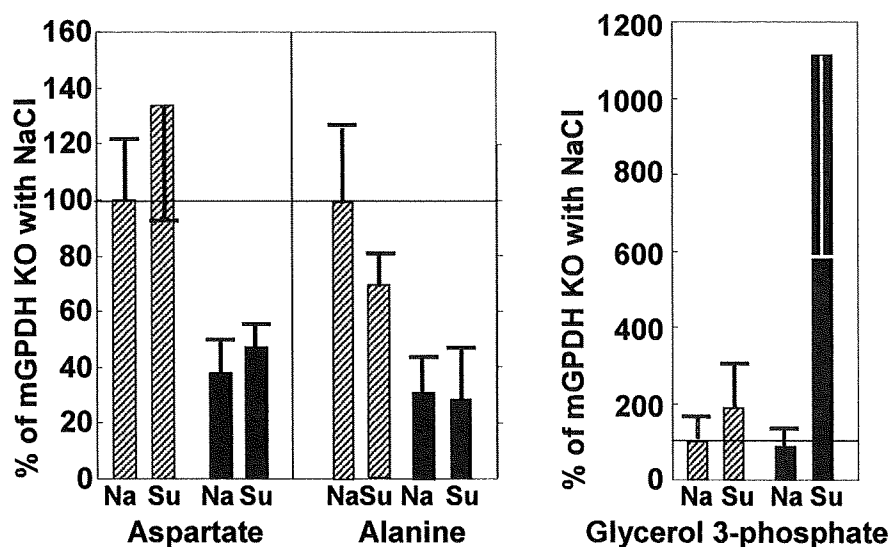


図6. 蔗糖 (Su: 10g/kg) 投与による mGPDH KO マウスと citrin/mGPDH double KO マウス肝における Aspartate、Alanine、および G3P 濃度の変化 (GC/MS 法)。対照 (Na) は生食を投与した。

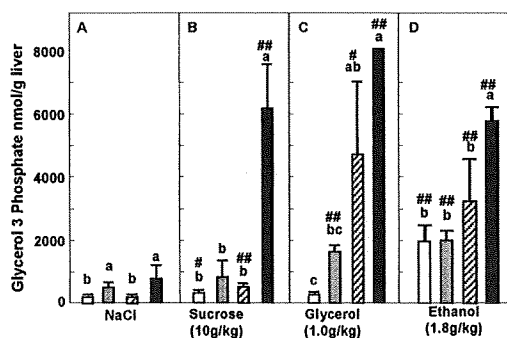


図7. 生食 (NaCl)、sucrose (10g/kg)、glycerol (1g/kg)、ethanol (1.8g/kg) 投与1時間後の肝内 G3P 濃度変化。G3P 濃度は酵素法によって測定した。マウス間の統計処理は ANOVA (Tukey 法) により行った。同じアルファベット間には有意差はない。同じ genotype 間の生食投与群との統計処理は t-test による。# $p < 0.05$; ## $p < 0.001$ 。

2) モデルマウスにおける蔗糖投与による肝 G3P 濃度上昇の酵素法による確認と詳細解析

より定量的検討を行うため、酵素法による G3P 濃度の測定を行った。図7A および B に示すように、生食投与条件下でも double KO マウスは他のマウスに比し、高値であり、蔗糖の投与によって著しい G3P 濃度の上昇を示した。Dihydroacetone phosphate (DHAP) 濃度との比 $[G3P]/[DHAP]$ で見てもほぼ同様の結果を示した。

4. グリセロールまたはエタノール投与後の肝内 G3P 濃度変化

シトリン欠損症モデルマウスが蔗糖同様にグリセロールとエタノールの摂取を嫌い、蔗糖投与が肝内 G3P 濃度を著しく上昇させるという結果を受け、グリセロール投与およびエタノール投与時に肝内 G3P 濃度

の変化を検討した。図7CおよびDで示すように、いずれの溶液投与においても double KO マウス肝内の G3P 濃度は著しく上昇した。それだけではなく、グリセロール投与では mGPDH KO マウスも、さらにはエタノール投与においてはすべての KO マウスだけでなく野生型マウスにおいても G3P 上昇が観察された。

C. 考察

シトリン欠損症患者は1歳過ぎから糖質が嫌い、タンパク質・脂質を好むという特異な食癖が出現し、エネルギー摂取比率などに大きな変移をきたしている (Saheki et al. J Inherit Metab Dis 2008;31:386-394)。また、多くの症例において糖質摂取過剰やアルコール摂取をきっかけにして CTLN2 を発症し、脳浮腫の治療にグリセロールを含む脳浮腫除去剤グリセオール点滴で不可逆的な変化を来し亡くなっている (Yazaki et al. Intern Med 2005;44:188-195)。この事実は、糖質、エタノール、グリセロールの毒性を示唆するものである。いずれも細胞質に NADH を産生する物質であるので、シトリンが関与するリンゴ酸アスパラギン酸シャトル不全では何らかの障害を起こすものと推定される。シトリン欠損症患者が糖質摂取を嫌うことから、モデルマウスである citrin/mGPDH double KO マウスを用い、蔗糖を自由摂取させる実験を行った。その結果、患者同様にモデルマウスは他の遺伝子型マウスに比し、蔗糖の摂取が少なく、蔗糖を嫌っていると推定された。同様の実験をグリセロールとエタノールについて行った結果、これらも忌避することが判明し

た。忌避には何らかのシグナルが中枢神経に伝えられていると考えられる。まずは肝内の代謝物の大きな変化を把握することでその機構を明らかに出来るものと考ええる。GC/MS 解析の結果から肝内 G3P 濃度の変化が大きく、蔗糖投与に特異的と推定されたので、酵素法による解析を行った。その結果、事実、G3P 濃度の著しい増加を見いだすことができた。

G3P の顕著な増加は、G3P/DHAP 比の増加を伴っていることから細胞質 NADH/NAD⁺比の増加を意味している。これが、脳へのどのようなシグナルにつながるのか、現在は不明である。ひとつには、細胞質 Asp 枯渇による尿素サイクル不全の結果としての血中アンモニアの上昇であるが、今後の更なる検討が必要である。肝内 G3P 濃度の上昇は、少なくともシトリン欠損による糖毒性の指標として、これを低減させる物質の探索に用いることは可能で、シトリン欠損症治療薬の開発が可能と考える。事実、われわれは、蔗糖投与による血中アンモニア濃度上昇をトリプトン（カゼイン水解物）の投与によって阻止できるとともに肝内 G3P 濃度の低下をもたらすことを見出している（未発表）。血中アンモニア濃度の測定は不安定で微妙なため、肝内 G3P 濃度変化を定量化してトリプトン中の有効成分の検出・抽出が可能と考えている。また、GC/MS 解析でも、TCA サイクル中間体やアミノ酸に変動がある可能性が示されているので、今後はその他の肝内代謝物の詳細な解析が必要と考えている。

一方、肝内 G3P 濃度の増加はトリグリセリドの合成促進につながるものと考えられ、脂肪肝形成の大きな因子であろうと推定される。

D. 結論

シトリン欠損症モデルマウスである、citrin/mGPDH KO マウスは他の遺伝子型マウスに比し、自由摂取の蔗糖溶液の摂取量、および嗜好度が著しく低下していた。それだけでなく、シトリン欠損症における危険因子でもあるグリセロール、およびエタノールをも double KO マウスは摂取を忌避する性質を示し、何らかの中樞神経系へのシグナルの存在が推定された。

一方、病態解析と共に治療薬開発のマーカーとすることを目指して、GC/MS による代謝中間体のメタボローム解析を行い、肝内 G3P 濃度の著しい増加を見いだした。G3P の増加は、グリセロールやエタノールの投与でも同様に観察され、シトリン欠損症の発症誘因に共通の性質であることが判明した。今後は本マーカーを用いて治療薬の開発につなげたい。

C. 論文発表

1. Nagasaka H, Okano Y, Tsukahara H, Shigematsu Y, Momoi T, Yorifuji J, Miida T, Ohura T, Kobayashi K, Saheki T, Hirano K, Takayanagi M, Yorifuji T. Sustaining hypercitrullinemia, hypercholesterolemia and augmented oxidative stress in Japanese children with aspartate/glutamate carrier isoform 2-citrin-deficiency even during the silent period. *Mol Genet Metab.* 2009;97(1):21-26.
2. Song YZ, Li BX, Chen FP, Liu SR, Sheng JS, Ushikai M, Zhang CH, Zhang T, Wang ZN, Kobayashi K, Saheki T, Zheng XY. Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: clinical and laboratory investigation of 13 subjects in mainland of China. *Dig Liver Dis.* 2009;41(9):683-689.
3. Song YZ, Guo L, Yang YL, Han LS, Kobayashi K, Saheki T. Failure to thrive and dyslipidemia caused by citrin deficiency: a novel clinical phenotype. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.* 2009;11(5):328-332.
4. Hutchin T, Preece MA, Hendriksz C, Chakrapani A, McClelland V, Okumura F, Song YZ, Iijima M, Kobayashi K, Saheki T, McKiernan P, Baumann U. Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD) as a cause of liver disease in infants in the UK. *J Inherit Metab Dis.* 2009; online first
5. Song YZ, Ushikai M, Kobayashi K, Saheki T. Citrin deficiency is an important etiology for cholestatic liver disease in children. *Zhonghua Er Ke Za Zhi.* 2009;47(8):624-627.
6. 佐伯武頼, 小林圭子. シトリン欠損症原因遺伝子の発見が臨床に与えたインパクト. *日本遺伝カウンセリング学会誌* 30 (2): 45-50.
7. Kimura A, Kage M, Nagata I, Mushiake S, Ohura T, Tazawa Y, Maisawa S, Tomomasa T, Abukawa D, Okano Y, Sumazaki R, Takayanagi M, Tamamori A, Yorifuji T, Yamato Y, Maeda K, Matsushita M, Matsuishi T, Tanikawa K, Kobayashi K, Saheki T. Histological findings in the livers of patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency. *Hepatol Res* 2010;40: 295-303.
8. Fukushima K, Yazaki M, Nakamura M, Tanaka N, Kobayashi K, Saheki T, Takei H,

Ikeda S. Conventional diet therapy for hyperammonemia is risky in the treatment of hepatic encephalopathy associated with citrin deficiency. *Inter Med* 2010;49 (3): 243-247

D. 学会発表

大浦敏博, 小林圭子, 田澤雄作, 虻川大樹, 坂本修, 佐伯武頼. シトルリン欠損症研究の進歩: 発症予防・治療法の開発に向けて. 第 112 回日本小児科学会学術集会 [2009. 4. 17-19] 奈良 教育講演

岡野善行, 長坂博範, 大浦敏博, 小林圭子, 佐伯武頼, 高柳正樹. 無症状期シトルリン欠損症の病態について. 第 112 回日本小児科学会学術集会 [2009. 4. 17-19] 奈良

佐伯武頼, 久原とみ子, 大瀬守眞, 小林圭子. シトルリン欠損症モデルマウス肝臓における病態マーカーの検索. 日本実験動物学会 [2009. 5. 14-16] 大宮

矢崎正英, 福島和広, 鈴木彩子, 池田修一, 角田圭雄, 小林圭子, 佐伯武頼. 成人型シトルリン血症 (CTLN2) 患者におけるピルビン酸ナトリウムの有効性. 日本神経学会総会 [2009. 5. 20-22] 仙台

佐伯武頼, 小林圭子. 成人発症 II 型シトルリン血症治療の過去、現在、未来. 第 27 回日本肝移植研究会. [2009. 7. 10-11] 静岡三島 シンポジウム 5 「成人型シトルリン血症と肝移植・新たな保存的治療法により肝移植は回避できるのか？」 特別発言

佐伯武頼, 小林圭子. シトルリン欠損症の発

見: 研究は面白い. 第 5 回日本先天代謝異常学会セミナー [2009. 7. 18-19] 千葉幕張

佐伯武頼, 小林圭子. シトルリン欠損症原因遺伝子の発見が臨床に与えたインパクト. 第 33 回 日本遺伝カウンセリング学 [2009. 7. 24-26] 西宮 特別講演

Saheki T, Kobayashi K. Citrin deficiency and current treatment concepts. Satellite Symposium to the 11th International Congress on Inborn Errors of Metabolism [August 27-29, 2009] La Jolla, California

佐伯武頼, 小野裕実, 井上可奈子, 津島杏弥, 久原とみ子, 大瀬守眞, 山本隆, 小林圭子. シトルリン欠損症モデルマウスは何を嫌い、その強制摂取は肝内に何を起こすか. 第 51 回日本先天代謝異常学会・第 8 回アジア先天代謝異常症シンポジウム [2009. 11. 5-7] 東京

Song Y-Z, Wen F, Chen F-P, Kobayashi K, Saheki T. Efficacy of therapeutic formulas and the clinical outcomes: Observational study of neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency. 第 51 回日本先天代謝異常学会・第 8 回アジア先天代謝異常症シンポジウム [2009. 11. 5-7] 東京

Saheki T, Kobayashi K. Pathophysiology and therapy of citrin deficiency: consideration from analysis of the model mice. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) [March 7-10, 2010] Fukuoka

Kobayashi K, Ushikai M, Saheki T. Overview

of citrin deficiency: The distribution and frequency of *SLC25A13* mutations. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) [March 7-10, 2010] Fukuoka

Yuan-Zong Song, Fang Wen, Keiko Kobayashi, Takeyori Saheki. Citrin deficiency in mainland of China: The tip of the iceberg. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) [March 7-10, 2010] Fukuoka

Ohura T, Kobayashi K, Yanagawa Y, Sakamoto O, Saheki T. Assessment of nutrient intake in patients with NICCD; the low-carbohydrate diet may be beneficial for citrin-deficient patients. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) [March 7-10, 2010] Fukuoka

Okano Y, Nagasaka H, Kobayashi K, Saheki T, Takayanagi M. Hypercitrullinemia, hypercholesterolemia and augmented oxidative stress in the patients with citrin deficiency during the silent period. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) [March 7-10, 2010] Fukuoka

Yazaki M, Fukushima K, Ikeda S, Sumida Y, Komatsu M, Kobayashi K, Saheki T. Therapeutic approaches for patients with adult-onset type II citrullinemia (CTLN2). The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) [March 7-10, 2010] Fukuoka

Wen F, Tang H, Gao H-Z, Song Y-Z, Kobayashi

K, Saheki T. Utilization of a novel PCR-RFLP procedure in the screening for mutation 851del4 in *SLC25A13* gene: eight additional NICCD patients in mainland of China. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) [March 7-10, 2010] Fukuoka

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
シトリン欠損症の自然歴と生活歴にもとづく実態解明と治療指針の作成
分担研究報告書

シトリン欠損症の遺伝子診断および病歴調査に関する研究

研究分担者 小林 圭子 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・准教授

（研究要旨）シトリン欠損症では、2つの病態：肝内胆汁うっ滞性新生児肝炎（NICCD）と成人発症 II 型シトリン血症（CTLN2）が知られている。しかし、変異ホモ接合体 > NICCD (0-1 歳) > 見かけ上健康 > CTLN2 (10-80 歳) という流れの中で、多種多様な病態を発症する可能性があり、完全な病態像把握のための病歴調査に先立ち、シトリン欠損症を確実に診断することが不可欠となる。鹿児島大学では国内外の症例を解析し、これまで 57 種の変異を同定してきた。特に日本人症例では 442 例のシトリン欠損症（NICCD 症例 253 例、CTLN2 症例 171 例、NICCD の親 5 例、CTLN2 の同胞 13 例）を分子遺伝学的に確定診断し、病態調査の基礎を整えた。

A. 研究目的

アスパラギン酸（Asp）グルタミン酸輸送体（AGC）は、ミトコンドリアの内膜に局在し、ミトコンドリアで生成した Asp を細胞質へ運び、リンゴ酸-Asp（MA）シャトルを構成して、細胞質 NADH 還元当量をミトコンドリアへ輸送し、代謝の要で機能する（図 1）。ヒトの肝臓では MA シャトルが主な NADH シャトルであるため、肝型 AGC であるシトリンが欠損すると、尿素・タンパク質・核酸合成、乳酸からの糖新生、好氣的解糖、エネルギー産生など多くの代謝系が障害される。その結果、シトリン欠損症では、多彩な検査所見と症状・複雑な病態像を呈することになる（図 2、図 3）。

シトリン欠損症において、NICCD 症状は生後 6 ヶ月～1 歳までに消失し、その後何割かは成人期に重篤な CTLN2 を発症するが、その間の見かけ上健康と考えられてきた適応・代償期の症状や病態像全容の詳細は明らかでない。本研究全体の目的は、シトリン欠損症の出生から老年に至るまでの自然歴を明らかにし、生活指導、食事療法、薬物療法の適応基準、治療方針を作成することである。そのため、シトリン欠損症を確実に診断することが重要である。研究分担者のグループでは、主に分子遺伝学的手法を用いてシトリン欠損症を確定診断し、検査所見のまとめと病歴調査を行い、診断基準と病態像の確立を図る。

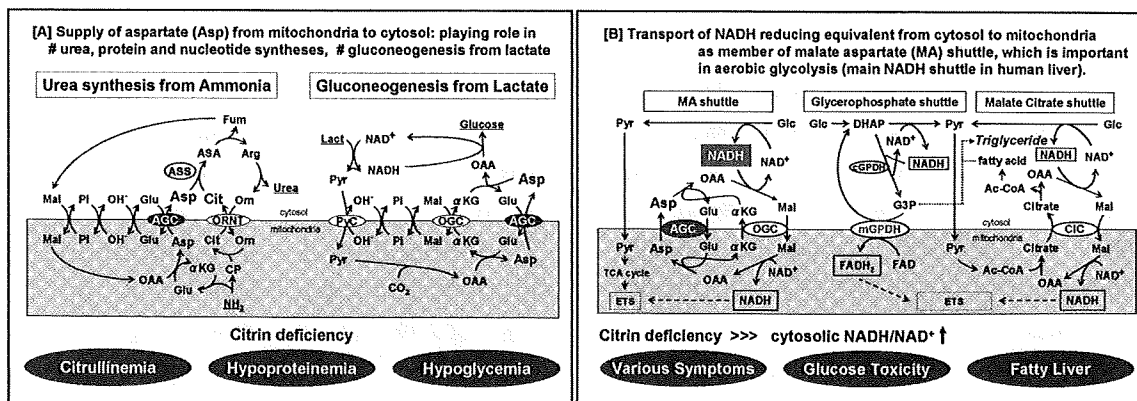
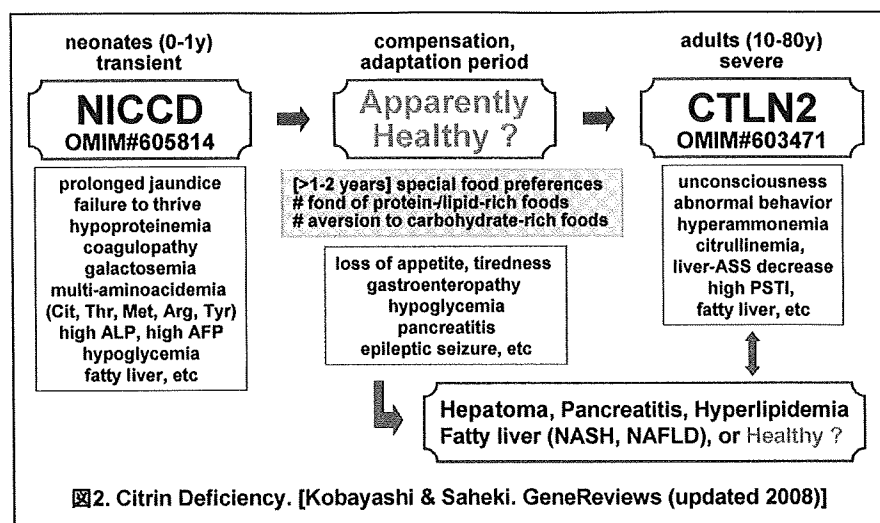


図 1. Citrin : liver-type aspartate glutamate carrier (AGC) の機能



B. 研究方法

(1) 遺伝子診断ならびに新規変異同定

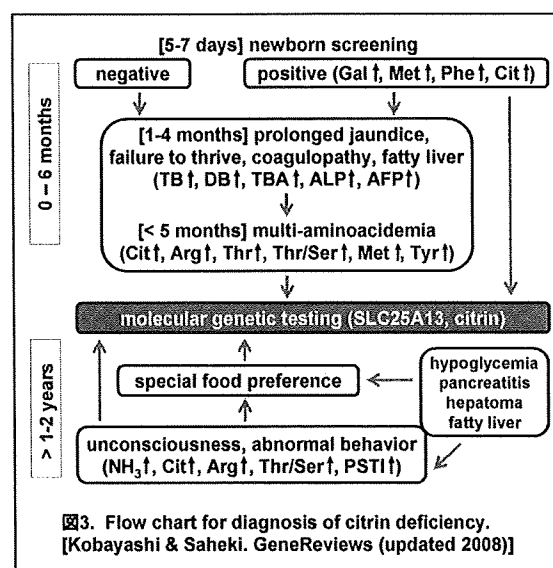
日本人症例の約 90%に見られる 15 種の既知変異に対する遺伝子診断は、GeneScan/SNaPshot 法や PCR/RFLP 法などにより実施した。また一方、新規変異は、RT-PCR/genomic DNA-PCR 産物を sequencing することにより同定した。

(2) 病歴調査

鹿児島大学で分子遺伝学的にシトリン欠損症と確定診断した日本人症例:変異ホモ接合体・複合ヘテロ接合体を対象とする。それぞれの主治医に対して、疾患説明のパンフレット、調査を行う説明文書、同意書、調査用紙を郵送し、主治医から被験者本人あるいは代諾者の両親に対して病歴調査の必要性を説明していただき、同意を得るという方法により行う。

(3) 倫理面の配慮

遺伝子解析は「シトリン欠損症の遺伝子解析と病態発症に関わる遺伝要因解明の研究」で鹿児島大学医学部倫理委員会の承認を受け、病歴調査は「アスパラギン酸グルタミン酸輸送体異常症（シトリン欠損症）の長期予後追跡調査」で鹿児島大学大学院医歯学総合研究科倫理委員会の承認を得て、インフォームドコンセントを確保し、被験者とそれらの家族に対する人権の保護と利益を優先して実施した。



C. 研究結果

(1) シトリン欠損症の診断

図 3 に示すように、新生児マス・スクリーニングでガラクトース、メチオニンあるいはフェニルアラニンなどが高い陽性例、タンデムマス解析でシトルリン高値を示す症例、体重増加不良、遷延性黄疸、肝内胆汁うっ滞、脂肪肝などを呈しシトルリン血症を含む多種アミノ酸血症を呈する症例において、SLC25A13 変異の遺伝子診断を行う。さらに、生後 1 歳以降では、低血糖を引き起こしたり、膵炎と診断されたり、特異な食癖（糖質を嫌い、タンパク質・脂質を好む）を示す症例に

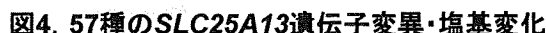
研究分担者のグループでは、日本人症例の場合、まず、15種の既知変異検索を実施する。表1には、これまでにシトリン欠損症と確定診断した442例における15種の変異結果を示した。15種の変異解析により、大体95%のalleleが診断できた。残り4%のalleleでは15種以外の変異(新規変異を含む22種)を見いだしたが、約1%のalleleではさらに新たな変異を同定する必要がある。

		Allele No.	(%)
I	851del4	273	(30.9)
II	IVS11+1G>A	325	(36.8)
III	1638ins23	28	(3.2)
IV	S225X	49	(5.5)
V	IVS13+1G>A	72	(8.1)
VI	1800insA	12	(1.4)
VII	R605X	6	(0.7)
VIII	E601X	11	(1.2)
IX	E601K	3	(0.3)
X	IVS6+5G>A	1	(0.1)
XI	R184X	1	(0.1)
XIV	IVS6+1G>C	3	(0.6)
XVI	G531D	11	(1.4)
XIX	IVS16ins3kb	33	(3.7)
XX	del516	7	(0.8)

国内外の臨床施設から依頼を受けて、多くの症例における *SLC25A13* 遺伝子・mRNA 解析を行い、これまでに 57 種の変異・塩基変化を明らかにし、600 例近いシトリン欠損症を診断してきた (図 4)。日本人症例で明らかにした変異は、中国・韓国・ベトナム・マレーシアなど東南アジア人にも共通に認められるものが多いが、イスラエル人や白人集団などとは 2 種の変異以外すべて異なっていた。

鹿児島大学において分子遺伝学的に診断した日本人 NICCD・罹患症例 253 例のうち、約半数の 130 例において、病態調査実施の同意（文書による）が得られている。彼らの主治医に対して、調査用紙の記入を依頼したが、現在までに 37%しか回収できていないため、調査方法の検討が必要であると考える。

著明な臨床症状のない・いわゆる見かけ上健康な時期の病態を明らかにするために、3-7歳のシトリン欠損症 20 名のアミノ酸・糖質・脂質代謝像と酸化ストレスマーカーを検討した。その結果、尿素サイクル機能障害、コレステロール過剰症、ミトコンドリア機能の低下などが認められ、酸化ストレスの影響を受けていることが推察された。



D. 考察

シトリン欠損症では、異常検査所見・症状が年齢によって変化するため、診断が容易ではない。大部分の NICCD 症例は生後 6 ヶ月～1 歳までに検査所見の正常化・症状の消失などが見られるが、中には肝移植を必要とする重篤な症例も存在する (5 例/253 例 : 2%)。NICCD 症例における軽症例と重篤例の違いがどんな原因・要因なのか、今後の課題である。

シトリン欠損症に限らず、遺伝性疾患を分子遺伝学的手段のみで 100% 診断することは困難である。しかし、確定診断としては、SLC25A13 遺伝子上に異常を見いだすことは不可欠であるため、新規変異同定の継続は必要である。また、シトリン蛋白の有無を検索することも重要な情報である。さらに、シトリン欠損症に特有な食癖も診断マーカーとしては強力であるので、詳細な問診の実施を勧める。

病態調査の成績が芳しくなかったこともあるので、今後、調査項目の見直しにより、主治医の負担軽減を図る一方、調査自体のアクセスを患者・家族に直接行うということも検討していく必要があると考える。

E. 結論

シトリン欠損症は、まだまだ多くの謎に包まれた疾患であり、特に NICCD 症状消失後の病態調査は非常に重要である。さらに、CTLN2 症例における既往歴・生活歴などの病態調査も必要である。NICCD の半数は新生児マス・スクリーニング陽性であるが、半数は体重増加不良・遷延性黄疸などで遺伝子診断の機会を得ている。しかし、最近、新生児期に何の症状もなかったが、乳幼児期に低血糖を引き起こし、特異な食癖が見られることから遺伝子診断を実施し、シトリン欠損症と診断した症例も少なくない。病態調査に先立ち、SLC25A13 変異同定と分子遺伝学・生化学的診断法を確立し、シトリン欠損症を確実に診断することが重要である。

F. 健康危険情報

研究代表者の報告書参照

G. 研究発表 (平成 21 年度)

1. 論文発表

- 1) Shigeta T, Kasahara M, Kimura T, Fukuda A, Sasaki K, Arai K, Nakagawa A, Nakagawa S, Kobayashi K, Soneda S, Kitagawa H. Liver transplantation for an infant with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency using heterozygote living donor. **Pediatr Transplant** 2009 Apr 3 [Epub ahead of print]
- 2) Song Y-Z, Guo L, Yang Y-L, Han L-S, Kobayashi K, Saheki T. Failure to thrive and dyslipidemia caused by citrin deficiency: a novel clinical phenotype. **Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi: Chin J Contemp Pediatr** 11(5):328-332 (2009) [in Chinese]
- 3) Nagasaka H, Okano Y, Tsukahara H, Shigematsu Y, Momoi T, Yorifuji J, Miida T, Ohura T, Kobayashi K, Saheki T, Hirano K, Takayanagi M, Yorifuji T. Sustaining hypercitrullinemia, hypercholesterolemia and augmented oxidative stress in Japanese children with aspartate/glutamate carrier isoform 2-citrin-deficiency even during the silent period. **Mol Genet Metab** 97(1):21-26 (2009)
- 4) Noto D, Takahashi K, Hamaguchi T, Inamura K, Nobata K, Yazaki M, Ikeda S, Kobayashi K, Yamada M. A case of adult onset type II citrullinemia with portal-systemic shunt. **J Neurol Sci** 281(1-2):127-129 (2009)
- 5) Hutchin T, Preece MA, Hendriksz C, Chakrapani A, McClelland V, Okumura F, Song Y-Z, Iijima M, Kobayashi K, Saheki T, McKiernan P, Baumann U. Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD) as a cause of liver disease in infants in the UK. **J Inherit Metab Dis** 2009 Jun 11 [Epub ahead of print]
- 6) Song Y-Z, Ushikai M, Kobayashi K, Saheki T. Citrin deficiency is an important etiology for cholestatic liver disease in children. **Zhonghua Er Ke Za Zhi: Chin J Pediatr** 47(8): 624-627 (2009) [in Chinese]

- 7) 舟邊さやか, 田中亮太, ト部貴夫, 川崎誠二, 小林圭子, 服部信孝. 非けいれん性てんかん重積状態をくりかえした成人発症 II 型シトルリン血症の 1 例. *臨床神経学* 49(9):571-575 (2009)
 - 8) Song Y-Z, Li B-X, Chen F-P, Liu S-R, Sheng J-S, Ushikai M, Zhang C-H, Zhang T, Wang Z-N, Kobayashi K, Saheki T, Zheng X-Y. Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: Clinical and laboratory investigation of 13 subjects in mainland of China. *Dig Liver Dis* 41(9): 683-689 (2009)
 - 9) 佐伯武頼, 小林圭子. シトルリン欠損症原因遺伝子の発見が臨床に与えたインパクト. *日本遺伝カウンセリング学会誌* 30(2): 45-50 (2009)
 - 10) Kimura A, Kage M, Nagata I, Mushiake S, Ohura T, Tazawa Y, Maisawa S, Tomomasa T, Abukawa D, Okano Y, Sumazaki R, Takayanagi M, Tamamori A, Yorifuji T, Yamato Y, Maeda K, Matsushita M, Matsuishi T, Tanikawa K, Kobayashi K, Saheki T. Histological findings in the livers of patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency. *Hepatol Res* 40: 295-303 (2010) 2010 Jan 11 [Epub ahead of print]
 - 11) Thong MK, Boey CCM, Sheng JS, Ushikai M, Kobayashi K. Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency in two Malaysian siblings: outcome at one year of life. *Singapore Med J* 51 (1): e12-e14 (2009)
 - 12) Fukushima K, Yazaki M, Nakamura M, Tanaka N, Kobayashi K, Saheki T, Takei H, Ikeda S. Conventional diet therapy for hyperammonemia is risky in the treatment of hepatic encephalopathy associated with citrin deficiency. *Inter Med* 49(3):243-247 (2010)
 - 13) Saheki T, Inoue K, Tushima A, Mutoh K, Kobayashi K. Citrin deficiency and current treatment concepts. *Mol Genet Metab* 100 (Suppl 1):S59-S64 (2010) 2010 Feb 24 [Epub ahead of print]
2. 学会発表
- 1) 大浦敏博, 小林圭子, 田澤雄作, 蛇川大樹, 坂本修, 佐伯武頼. シトルリン欠損症研究の進歩: 発症予防・治療法の開発に向けて. 第 112 回日本小児科学会学術集会: 教育講演 [2009. 4. 17-19] 奈良
 - 2) 岡野善行, 長坂博範, 大浦敏博, 小林圭子, 佐伯武頼, 高柳正樹. 無症状期シトルリン欠損症の病態について. 第 112 回日本小児科学会学術集会 [2009. 4. 17-19] 奈良
 - 3) 佐伯武頼, 久原とみ子, 大瀬守眞, 小林圭子. シトルリン欠損症モデルマウス肝臓における病態マーカーの検索. 第 56 回日本実験動物学会 [2009. 5. 14-16] 大宮
 - 4) 矢崎正英, 福島和広, 鈴木彩子, 池田修一, 角田圭雄, 小林圭子, 佐伯武頼. 成人型シトルリン血症 (CTLN2) 患者におけるビルビン酸ナトリウムの有効性. 第 50 回日本神経学会総会 [2009. 5. 20-22] 仙台
 - 5) 矢崎正英, 池田修一, 小林圭子, 佐伯武頼. 成人型シトルリン血症 (CTLN2) 患者における食事療法と sodium pyruvate の有効性. 第 27 回日本神経治療学会総会 [2009. 6. 11-12] 熊本
 - 6) 佐伯武頼, 小林圭子. 成人発症 II 型シトルリン血症治療の過去、現在、未来. 第 27 回日本肝移植研究会: シンポジウム 5 「成人型シトルリン血症と肝移植・新たな保存的治療法により肝移植は回避できるのか?」 特別発言. [2009. 7. 10-11] 静岡三島
 - 7) 福島和広, 矢崎正英, 池田修一, 角田圭雄, 小林圭子, 佐伯武頼. 成人型シトルリン血症 (CTLN2) 患者における内科的治療法: ビルビン酸ナトリウムの有効性. 第 27 回日本肝移植研究会: シンポジウム 5 「成人型シトルリン血症と肝移植・新たな保存的治療法により肝移植は回避できるのか?」 [2009. 7. 10-11] 静岡三島
 - 8) 佐伯武頼, 小林圭子. シトルリン欠損症の発見: 研究は面白い. 第 5 回日本先天代謝異常学会セミナー [2009. 7. 18-19] 千葉幕張
 - 9) 佐伯武頼, 小林圭子. シトルリン欠損症原因遺伝子の発見が臨床に与えたインパクト. 第 33 回日本遺伝カウンセリング学会: 特別講演 [2009. 7. 24-26] 西宮
 - 10) Saheki T, Kobayashi K. Citrin deficiency and current treatment concepts. *Satellite Symposium to the 11th International Congress on Inborn Errors of Metabolism: Overcoming Barriers-New Developments and Future Directions for Urea Cycle*

- Disorders** [August 27-29, 2009] La Jolla, USA
- 11) Okano Y, Nagasaka H, Shigematsu Y, Momoi T, Yorifuji T, Ohura T, Kobayashi K, Saheki T, Takayanagi M. Hypercitrullinemia, hypercholesterolemia and augmented oxidative stress in the patients with citrin deficiency during the silent period. **Satellite symposium to the 11th International Congress of Inborn Errors of Metabolism: Overcoming Barriers-New Developments and Future Directions for Urea Cycle Disorders** [August 27-29, 2009] La Jolla, USA
 - 12) Okano Y, Nagasaka H, Shigematsu Y, Momoi T, Yorifuji T, Ohura T, Kobayashi K, Saheki T, Takayanagi M. Hypercitrullinemia, hypercholesterolemia and augmented oxidative stress in the patients with citrin deficiency during the silent period. **The 11th International Congress on Inborn Errors of Metabolism** [August 29-September 2, 2009] San Diego, USA
 - 13) Kobayashi K, Ushikai M, Song Y-Z, Gao H-Z, Ikeda S, Saheki T. Overview of citrin deficiency: *SLC25A13* mutations and the frequency. **AASPP-Seminar on Citrin Deficiency in Shenyang** [September 12, 2009] Shenyang, Liaoning, China
 - 14) Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, Abukawa D, Yanagawa Y, Sakamoto O, Saheki T. Clinical presentations of patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD). **AASPP-Seminar on Citrin Deficiency in Shenyang** [September 12, 2009] Shenyang, Liaoning, China
 - 15) Okano Y, Tokuhara D, Tamamori A, Iijima M, Kobayashi K, Saheki T, Yamano T. A dynamic change of clinical manifestations by age in citrin deficiency and novel diagnostic approach to citrin deficiency. **AASPP-Seminar on Citrin Deficiency in Shenyang** [September 12, 2009] Shenyang, Liaoning, China
 - 16) Yazaki M, Ikeda S, Kobayashi K, Saheki T. Clinical characteristics of Japanese patients with adult-onset type II citrullinemia (CTLN2). **AASPP-Seminar on Citrin Deficiency in Shenyang** [September 12, 2009] Shenyang, Liaoning, China
 - 17) Saheki T, Kobayashi K. Studies on pathophysiology and treatment of citrin deficiency by using a mouse model. **AASPP-Seminar on Citrin Deficiency in Shenyang** [September 12, 2009] Shenyang, Liaoning, China
 - 18) 佐伯武頼, 小野裕実, 井上可奈子, 津島杏弥, 久原とみ子, 大瀬守眞, 山本隆, 小林圭子. シトリン欠損症モデルマウスは何を嫌い、その強制摂取は肝内に何を起こすか. **第 51 回日本先天代謝異常学会・第 8 回アジア先天代謝異常症シンポジウム** [2009. 11. 5-7] 東京
 - 19) Song Y-Z, Wen F, Chen F-P, Kobayashi K, Saheki T. Efficacy of therapeutic formulas and the clinical outcomes: Observational study of neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency. **第 51 回日本先天代謝異常学会・第 8 回アジア先天代謝異常症シンポジウム** [2009. 11. 5-7] 東京
 - 20) Saheki T, Kobayashi K. Pathophysiology and therapy of citrin deficiency: consideration from analysis of the model mice. **The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD): Plenary Lecture** [March 7-10, 2010] Fukuoka
 - 21) Kobayashi K, Ushikai M, Saheki T. Overview of citrin deficiency: The distribution and frequency of *SLC25A13* mutations. **The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD): Citrin AASPP-Workshop** [March 7-10, 2010] Fukuoka
 - 22) Nguyen TN, Kobayashi K, Nguyen GK, Khu TKD, Nguyen PAH, Hoang LP. Detection of citrin deficiency in children with high risk of prolonged jaundice in Hanoi and Hochiminh City. **The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD): Citrin AASPP-Workshop** [March 7-10, 2010] Fukuoka
 - 23) Thong M-K, Ngu L-H, Yunus MZ, Kobayashi K. Citrin deficiency in Malaysian children: clinical & laboratory presentation and outcome.

- The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD): Citrin AASPP-Workshop** [March 7-10, 2010] Fukuoka
- 24) Song Y-Z, Wen F, Kobayashi K, Saheki T. Citrin deficiency in mainland of China: The tip of the iceberg. **The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD): Citrin AASPP-Workshop** [March 7-10, 2010] Fukuoka
- 25) Ohura T, Kobayashi K, Yanagawa Y, Sakamoto O, Saheki T. Assessment of nutrient intake in patients with NICCD; the low-carbohydrate diet may be beneficial for citrin-deficient patients. **The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD): Citrin AASPP-Workshop** [March 7-10, 2010] Fukuoka
- 26) Okano Y, Nagasaka H, Ohura T, Kobayashi K, Saheki T, Takayanagi M. Hypercitrullinemia, hypercholesterolemia and augmented oxidative stress in the patients with citrin deficiency during the silent period. **The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD): Citrin AASPP-Workshop** [March 7-10, 2010] Fukuoka
- AASPP-Workshop** [March 7-10, 2010] Fukuoka
- 27) Yazaki M, Fukushima K, Ikeda S, Sumida Y, Komatsu M, Kobayashi K, Saheki T. Therapeutic approaches for patients with adult-onset type II citrullinemia (CTLN2). **The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD): Citrin AASPP-Workshop** [March 7-10, 2010] Fukuoka
- 28) Nguyen PAH, Nguyen TN, Nguyen GK, Kobayashi K, Nguyen TMH. Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency in Vietnam: Clinical and laboratory feature. **The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD)** [March 7-10, 2010] Fukuoka
- 29) Wen F, Tang H, Gao H-Z, Song Y-Z, Kobayashi K, Saheki T. Utilization of a novel PCR-RFLP procedure in the screening for mutation 851del4 in *SLC25A13* gene: eight additional NICCD patients in mainland of China. **The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD)** [March 7-10, 2010] Fukuoka

CTLN2患者における病歴調査に関する研究

研究分担者 池田修一 信州大学脳神経内科、リウマチ・膠原病内科
共同研究者 矢崎正英 信州大学脳神経内科、リウマチ・膠原病内科

研究要旨：当院で治療した 26 名の成人型シトルリン血症（CTLN2）患者の臨床像を検討し、その特徴について考察した。26 名の患者のうち、男性は 17 名で女性は 9 名であった。CTLN2 の平均発症年齢は 37.4 歳であり、膵炎の罹患歴がある患者が 7 名(27%)、肝癌罹患患者が 2 名(8%)存在した。また全例に脂肪肝の所見が認められた。今回の研究結果より、CTLN2 患者では、神経症状発症以前に、膵炎や肝癌、脂肪肝を罹患している患者が存在し、若年者非アルコール性膵炎、肝癌、脂肪肝、脂肪肝炎患者に、シトリン欠損症患者が含まれている可能性が示唆された。

A. 研究目的

シトリン欠損症の自然歴と生活歴を解明する目的で、シトリン欠損症患者の成人における臨床病型である、成人型シトルリン血症(CTLN2)患者の臨床像を検討し、臨床症状の特徴について考察した。

B. 研究方法

当院で治療を施行したCTLN2患者26名(男性17名；女性9名)の病歴・臨床症状について検討した。

（倫理面への配慮）

患者のプライバシーに関する情報（実名、顔写真、住所など）は一切公表しないことを、患者あるいは家族に説明した。

C. 研究結果

26名の患者の中樞神経症状（肝性脳症）平均発症年齢は 37.4 ± 13.6 歳であった。初発症状としては、意識変容に伴う異常行動が最多であった。膵炎の罹患歴がある患者が7名(27%)、肝癌患者が2名(8%)存在した。また全例に脂肪肝の所見が認められた。発症要因に関しては、他人にすすめられた飲酒後に発症した患者が1名、肝臓癌の手術後に発症した患者が1名存在した。また高アンモニア血症による脳症に対して出された病院セット食（低蛋白食）にて、病態がさらに悪化し、その後、炭水化物制

限食に変更したところ症状が改善した患者も認められた。

D. 考察

今回の研究結果より、CTLN2患者では、神経症状発症以前に、膵炎や肝癌、脂肪肝を罹患している患者が存在し、非アルコール性膵炎、肝癌、脂肪肝、脂肪肝炎患者に、シトリン欠損症患者が含まれている可能性が示唆された。過去の報告では、シトリン欠損患者は、1/17,000の頻度で存在するとされているが、CTLN2の発症率は1/100,000と推定されており、多くのシトリン欠損患者は、CTLN2を発症せずに生活しているものと考えられる。

このような非発症者の一部が、手術や、無理な飲酒、炭水化物の過食やストレスなどで、CTLN2を発症する可能性がある。また、病院セット食である低蛋白食は、炭水化物含有量が多いため、CTLN2患者では、症状を悪化させるため、肝性脳症患者では、常にCTLN2の可能性について鑑別すべきである。

E. 結論

CTLN2患者では、神経症状発症以前に、膵炎や肝癌、脂肪肝を罹患している患者が存在し、若年者非アルコール性膵炎、肝癌、脂肪肝、脂肪肝炎患者に、シトリン欠損症患者が含まれている可能

性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Fukushima K, Ikeda S, et al: Conventional diet therapy for Hyperammonemia is risky in the Treatment of hepatic encephalopathy Associated with citrin deficiency. Intern Med 49:243-247, 2010

2. 学会発表

Yazaki M, Ikeda S: Therapeutic approaches for patients with adult-onset type II citrullinemia. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. (March, 2010, Fukuoka)

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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
シトリン欠損症の自然歴と生活歴にもとづく実態解明と治療指針の作成
分担研究報告書

シトリン欠損症患者への食事療法の効果に関する研究

研究分担者 大浦敏博（東北大学非常勤講師 仙台市立病院小児科医長）

研究要旨：68歳で発症した成人発症 II 型シトルリン血症（CTLN2）患者に対してアルギニン、ピルビン酸ナトリウム投与、高蛋白質、高脂肪、低炭水化物食事療法を施行したところ神経症状の改善、食欲増進、全身状態も良好となり、検査上も血中シトルリン値、膵分泌性トリプシンインヒビター（PSTI）値も正常化した。CTLN2 は栄養療法にて改善する可能性が示唆された。

研究協力者

東北大学病院 小児科 坂本修
同 消化器内科 上野義之、福島耕治

A. 研究目的

シトリン欠損症には乳児期に新生児肝炎様症状で発症する型（シトリン欠損による肝内胆汁うっ滞症：NICCD）と成人期に突然の意識障害、失見当識などで発症し予後不良な型（成人発症 II 型シトルリン血症：CTLN2）の 2 つの臨床像を持つ。NICCD の症状は 1 歳前後で軽快し、その後数十年の代償期を経て CTLN2 を発症すると考えられている。NICCD と診断された患児は将来 CTLN2 を発症する危険性があり、その予防法確立が急務となっている。CTLN2 の発症や悪化にはアルコール摂取や高カロリー輸液、グリセオール投与などが知られている。一方患児は代償期にも高蛋白質、高脂肪、低炭水化物食を好み、合目的な行動であると考えられている。この様な様々

な環境因子が CTLN2 の発症もしくは発症予防に関係していると推測される。今回、68 歳で CTLN2 を発症した症例に対して、高蛋白質、高脂肪、低炭水化物食の有効性を検討した。また、ピルビン酸ナトリウム、アルギニンの効果についても併せて検討を加えた。

B. 研究方法

栄養療法における蛋白、脂肪、炭水化物比（PFC 比）はすでに Saheki らが報告した値（蛋白質 18%、脂肪 42%、炭水化物 38%）に準じた。当初は食欲不振が強かったため、脂肪含量の多い経腸栄養製剤（ライフロン QL）を併用した。

（症例報告）

主訴：夜間の混迷状態

既往歴：20 歳代に深酒後 3 日間意識不明になった。

家族歴：両親はいとこ。9 人兄弟の 3 番目。

生活歴：酒、甘い食べ物を嫌う。米飯を好まず、豆腐、大豆、ピーナッツを好む食癖を持つ。

現病歴：某年 3 月 20 日就寝中に起き出し、全裸になり失禁もあったが妻が寝かしつける。その後、3 日に一回程度就寝後起き出し、廊下に放尿、眼鏡を舐める、タバコの吸殻に火を点ける等の異常行動が見られるようになった。本人は夜間のエピソードを記憶していない。6 月 25 日精査目的で東北大学病院入院となる。

検査データ：入院時肝機能は正常、貧血は軽度、アンモニアが 127 μ g/dl、PSTI 96.3ng/ml と上昇していた。代謝異常症が疑われアミノ酸分析を施行したところ血中シトルリン値は 6.0mg/dl (正常 0.09-0.65) と上昇していた。

経過：経過および高シトルリン血症より CTLN2 と診断した。シトルリン欠損患児の PFC 値 (=19:46:35) を参考に栄養療法およびアルギニン投与を開始した。8 月 10 日よりピルビン酸ナトリウムも併用した。また、本人が自宅で好んで食べていた豆腐、

豆、牛乳なども自由に摂取させた。SLC25A13 遺伝子の解析では G531D のホモ接合体であった。

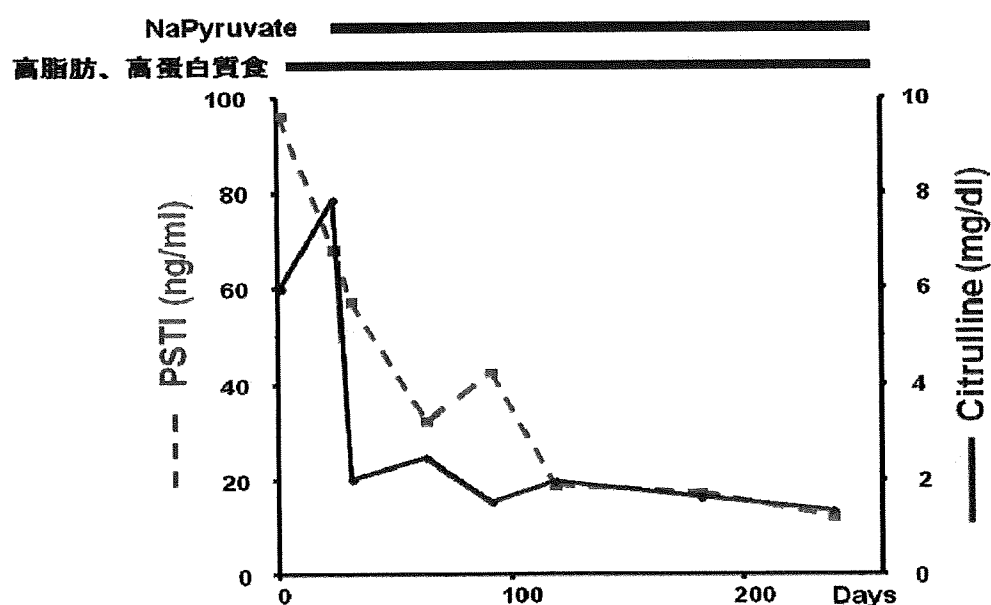
(倫理面への配慮)

DNA 診断および追跡調査をする際には患者に対する説明書、同意書を作成し、1) 検査目的、2) 検査法と費用、3) プライバシーの保護、4) 検査をすることの利益と不利益、5) 診断後のカウンセリング体制について説明、書面での同意を得た。また、検査を受けなくても不利益を受けないこと、同意後にも検査を中止する権利があること、結果については希望に応じて知らせる（知りたくない権利の尊重）事などを説明し、患者、家族の人権の擁護および不利益の排除に努める。

C. 研究結果

栄養療法開始以前の入院中の食事中 PFC は 16:21:65 と炭水化物が多い内容であった。その為か食欲不振が続き、末梢点滴、経管栄養を余儀なくされていた。低炭水化物開始後は食欲増進、

図：食事療法開始後のPSTI、Citrulline値の推移



体重増加が見られ異常行動、振戦などの神経症状も改善した。検査上 PSTI 値は漸減、ピルビン酸ナトリウム投与後にはシトルリン値も減少し、治療開始後 6 ヶ月時には両者とも正常化した (図)。

D. 考察

筆者らによりシトルリン欠損症患児は特異な高蛋白質、高脂肪、低炭水化物を摂っていることが報告された。我々はこの食癖はシトルリン欠損に対する代償行動であると考察した (Saheki et al)。今回、68 歳で初めて CTLN2 を発症した患者に高蛋白質、高脂肪、低炭水化物食を行ったところ改善が見られた。Imamura らは CTLN2 症例に低炭水化物食事療法とアルギニンが有効であると報告している。また、最近 Dimmock らも NICCD 患児に高蛋白質、低炭水化物食事療法が有効であったと報告した。すなわち、シトルリン欠損症患児が幼少期より高蛋白質、高脂肪、低炭水化物食を好むのは合目的行動であり、無理に矯正すべきではないと考えられる。さらに CTLN2 患者の高アンモニア血症に対して従来高炭水化物、低蛋白質食が行われていたが、むしろ本症にとっては悪化要因であり高蛋白質、高脂肪、低炭水化物食を行うべきである。特に高カロリー輸液、グリセオール投与は危険であり禁忌である。

本症例は 68 歳で初めて CTLN2 を発症したが、家族からの聞き取りにより発症数日前に飴を一袋 (約 150 g) 摂取していたことが判明した。普段より甘いものは好まない患者がなぜ飴を大量に摂取したか不明であ

るが、今回の発症の引き金になった可能性があり、今後の症例の積み重ねが必要である。

E. 結論

68 歳で初めて CTLN2 を発症した患者に高蛋白質、高脂肪、低炭水化物食事療法を施行したところ、症状が改善した。CTLN2 に対しては食事療法が有効であると考えられ、今後の症例の積み重ねが重要である。シトルリン欠損症では糖質の過剰摂取により CTLN2 を発症する危険性があり、避けるべきである。

参考文献

- Saheki T. et al (2008) Reduced carbohydrate intake in citrin-deficient subjects. *J Inherit Metab Dis.* 2008 Jun;31(3):386-94. Epub 2008 Apr 14.
- Imamura Y. et al (2003) Effectiveness of carbohydrate-restricted diet and arginine granules therapy for adult-onset type II citrullinemia: a case report of siblings showing homozygous SLC25A13 mutation with and without the disease. *Hepatol Res.* 26(1):68-72.
- Dimmock D. et al (2007) Citrin deficiency: a novel cause of failure to thrive that responds to a high-protein, low-carbohydrate diet. *Pediatrics* 119(3):e773-7.

F. 健康危険情報

なし。