

Table 1
Comparison of symptoms and laboratory examinations between CTLN2, NICCD and animal models.

Symptoms	Human citrin deficiency		Citrin KO	Citrin/mGPDH
	CTLN2	NICCD	Mice	Double KO mice
Plasma ammonia				
Under-fed state	High	+ ~ –	–	High
Under-fasted state	Normal			Normal
Plasma citrulline	High	High	Normal	High
Hypoglycemia	–	+	+/-	+
Low BMI/Growth retardation	+	+	–	+
Fatty liver	+	+	+	+
			(fasted)	(fasted)
Sugar toxicity	+	+	–	+

BMI, body mass index.

After operation, they are metabolically normal, although issues are donor, cost and administration of immunosuppression drugs.

Low-carbohydrate and high-protein diets seem to be effective for NICCD and CTLN2 [41,43,44]. Doctors should not force high-carbohydrate and low-protein meals for the patients with citrin deficiency, but might have to be cautious about the protein amount in diet if the hepatic ASS activity is decreased.

Administration of arginine may be effective against hyperammonemia and hypertriglyceridemia [41,44], even though plasma arginine levels in CTLN2 patients are rather high [2]. In the experiments using the citrin/mGPDH KO mice, we recognized that administration of amino acid mixture (tryptone; casein pancreatic hydrolysate) caused no increase in blood ammonia in contrast to ornithine carbamoyl transferase-deficient *spf-ash* mice [45], but rather suppressed increases in blood ammonia produced by administration of sucrose solution [data not shown], suggesting that amino acid mixture or some specific amino acid(s) may inhibit the pathophysiological process.

We are now testing sodium pyruvate which oxidizes cytosolic NADH to NAD⁺ by lactate dehydrogenase reaction and may provide energy as a substrate for TCA cycle. Pyruvate was able to decrease NADH/NAD⁺ ratio, resulting in deinhibition of ureogenesis in the perfused liver of citrin KO mice [39]. In the first case, P557S2, the administration of sodium pyruvate together with arginine brought rapid increases in body weight and height, and significant improvement in laboratory examinations such as plasma Cit, threonine/serine ratio and serum PSTI (pancreatic secretory trypsin inhibitor) [26]. In another CTLN2 patient, the administration of sodium pyruvate brought a body weight gain and improved the liver histology [data not shown]. At least, administration of sodium pyruvate seems to delay the necessity of liver transplantation [personal communication from Dr. Yazaki]. A recent research reported by Nagasaka et al. [27] demonstrated that citrin deficiency is associated with oxidative stress even under apparently health states. The oxidative stress in citrin deficiency may result from reductive stress caused by accumulation of NADH [46], which may be ameliorated by the administration of sodium pyruvate.

Current treatment concepts for citrin deficiency

Current treatment concepts for citrin deficiency are summarized as follows:

- (1) Some of conventional therapeutic procedures for hyperammonemia, such as low-protein and high-carbohydrate diets are harmful. This is because carbohydrate causes generation

of cytosolic NADH, which inhibits glycolysis and energy production, and cause suppression of ureogenesis in citrin deficiency.

- (2) Liver transplantation is very effective, but issues are donor and cost.
- (3) Low-carbohydrate, and high-protein/-fat diets, favorites of citrin-deficient subjects, are recommendable.
- (4) Some amino acids, such as arginine and some other unknown amino acids may be effective.
- (5) Sodium pyruvate may be effective probably because it oxidizes NADH, relieves inhibition of glycolysis and itself supplies energy.
- (6) Sodium pyruvate may also relieve oxidative stress in citrin deficiency, which remains to be solved.

Conflict of interest statement

The authors declare that there are no conflicts of interest.

References

- [1] T. Saheki, K. Kobayashi, Mitochondrial aspartate glutamate carrier (citrin) deficiency as the cause of adult-onset type II citrullinemia (CTLN2) and idiopathic neonatal hepatitis (NICCD), *J. Hum. Genet.* 47 (2002) 333–341.
- [2] K. Kobayashi, T. Saheki, Citrin deficiency, in: *GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource* [database online]. Copyright, University of Washington, Seattle. 1997–2008. Available at <http://www.genetests.org>.
- [3] K. Kobayashi, D.S. Sinasac, M. Iijima, A.P. Boright, L. Begum, J.R. Lee, T. Yasuda, S. Ikeda, R. Hirano, H. Terazono, M.A. Crackower, I. Kondo, L.C. Tsui, S.W. Scherer, T. Saheki, The gene mutated in adult-onset type II citrullinemia encodes a putative mitochondrial carrier protein, *Nat. Genet.* 22 (1999) 159–163.
- [4] D. Dimmock, B. Maranda, C. Dionisi-Vici, J. Wang, S. Kleppe, G. Fiermonte, R. Bai, B. Hainline, A. Hamosh, W.E. O'Brien, F. Scaglia, L.J. Wong, Citrin deficiency, a perplexing global disorder, *Mol. Genet. Metab.* 96 (2009) 44–49.
- [5] A. del Arco, J. Satrustegui, Molecular cloning of aralar, a new member of the mitochondrial carrier superfamily that binds calcium and is present in human muscle and brain, *J. Biol. Chem.* 273 (1998) 23327–23334.
- [6] L. Palmieri, B. Pardo, F.M. Lasorsa, A. del Arco, K. Kobayashi, M. Iijima, M.J. Runswick, J.E. Walker, T. Saheki, J. Satrustegui, F. Palmieri, Citrin and aralar1 are Ca(2+)-stimulated aspartate/glutamate transporters in mitochondria, *EMBO J.* 20 (2001) 5060–5069.
- [7] M. Iijima, M.A. Jalil, L. Begum, T. Yasuda, N. Yamaguchi, M.X. Li, N. Kawada, H. Endou, K. Kobayashi, T. Saheki, Pathogenesis of adult-onset type II citrullinemia caused by deficiency of citrin, a mitochondrial solute carrier protein: tissue and subcellular localization of citrin, *Adv. Enzyme Regul.* 41 (2001) 325–342.
- [8] L. Begum, M.A. Jalil, K. Kobayashi, M. Iijima, M.X. Li, T. Yasuda, M. Horiuchi, A. del Arco, J. Satrustegui, T. Saheki, Expression of three mitochondrial solute carriers, citrin, aralar and ornithine transporter, in relation to urea cycle in mice, *Biochim. Biophys. Acta* 1574 (2002) 283–292.
- [9] T. Saheki, K. Nakano, K. Kobayashi, Y. Imamura, Y. Itakura, M. Sase, S. Hagihara, S. Matuo, Analysis of the enzyme abnormality in eight cases of neonatal and infantile citrullinemia in Japan, *J. Inher. Metab. Dis.* 8 (1985) 155–156.
- [10] K. Kobayashi, M.J. Jackson, D.B. Tick, W.E. O'Brien, A.L. Beaudet, Heterogeneity of mutations in argininosuccinate synthetase causing human citrullinemia, *J. Biol. Chem.* 265 (1990) 11361–11367.
- [11] H.Z. Gao, K. Kobayashi, A. Tabata, H. Tsuge, M. Iijima, T. Yasuda, H.S. Kalkanoglu, A. Dursun, A. Tokatli, T. Coskun, F.K. Trefz, D. Skladal, H. Mandel, J. Seidel, S. Kodama, S. Shirane, T. Ichida, S. Makino, M. Yoshino, J.H. Kang, M. Mizuguchi, B.A. Barshop, S. Fuchinoue, S. Seneca, S. Zeesman, I. Knerr, M. Rodes, P. Wasant, I. Yoshida, L. De Meirleir, M.A. Jalil, L. Begum, M. Horiuchi, N. Katunuma, S. Nakagawa, T. Saheki, Identification of 16 novel mutations in the argininosuccinate synthetase gene and genotype-phenotype correlation in 38 classical citrullinemia patients, *Hum. Mutat.* 22 (2003) 24–34.
- [12] T. Saheki, K. Kobayashi, I. Inoue, Hereditary disorders of the urea cycle in man: biochemical and molecular approaches, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 108 (1987) 21–68.
- [13] K. Kobayashi, T. Saheki, Y. Imamura, T. Noda, I. Inoue, S. Matuo, S. Hagihara, H. Nomiya, Y. Jinno, K. Shimada, Messenger RNA coding for argininosuccinate synthetase in citrullinemia, *Am. J. Hum. Genet.* 38 (1986) 667–680.
- [14] K. Kobayashi, N. Shaheen, R. Kumashiro, K. Tanikawa, W.E. O'Brien, A.L. Beaudet, T. Saheki, A search for the primary abnormality in adult-onset type II citrullinemia, *Am. J. Hum. Genet.* 53 (1993) 1024–1030.
- [15] T. Yasuda, N. Yamaguchi, K. Kobayashi, I. Nishi, H. Horinouchi, M.A. Jalil, M.X. Li, M. Ushikai, M. Iijima, I. Kondo, T. Saheki, Identification of two novel mutations in the SLC25A13 gene and detection of seven mutations in 102

- patients with adult-onset type II citrullinemia, *Hum. Genet.* 107 (2000) 537–545.
- [16] Y. Tazawa, K. Kobayashi, T. Ohura, D. Abukawa, F. Nishinomiya, Y. Hosoda, M. Yamashita, I. Nagata, Y. Kono, T. Yasuda, N. Yamaguchi, T. Saheki, Infantile cholestatic jaundice associated with adult-onset type II citrullinemia, *J. Pediatr.* 138 (2001) 735–740.
 - [17] T. Tomomasa, K. Kobayashi, H. Kaneko, H. Shimura, T. Fukusato, M. Tabata, Y. Inoue, S. Ohwada, M. Kasahara, Y. Morishita, M. Kimura, T. Saheki, A. Morikawa, Possible clinical and histologic manifestations of adult-onset type II citrullinemia in early infancy, *J. Pediatr.* 138 (2001) 741–743.
 - [18] T. Ohura, K. Kobayashi, Y. Tazawa, I. Nishi, D. Abukawa, O. Sakamoto, K. Iinuma, T. Saheki, Neonatal presentation of adult-onset type II citrullinemia, *Hum. Genet.* 108 (2001) 87–90.
 - [19] N. Yamaguchi, K. Kobayashi, T. Yasuda, I. Nishi, M. Iijima, M. Nakagawa, M. Osame, I. Kondo, T. Saheki, Screening of SLC25A13 mutations in early and late onset patients with citrin deficiency and in the Japanese population: Identification of two novel mutations and establishment of multiple DNA diagnosis methods for nine mutations, *Hum. Mutat.* 19 (2002) 122–130.
 - [20] T. Ohura, K. Kobayashi, Y. Tazawa, D. Abukawa, O. Sakamoto, S. Tsuchiya, T. Saheki, Clinical pictures of 75 patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD), *J. Inher. Metab. Dis.* 30 (2007) 139–144.
 - [21] M. Kasahara, S. Ohwada, T. Takeichi, H. Kaneko, T. Tomomasa, A. Morikawa, K. Yonemura, K. Asonuma, K. Tanaka, K. Kobayashi, T. Saheki, I. Takeyoshi, Y. Morishita, Living-related liver transplantation for type II citrullinemia using a graft from heterozygote donor, *Transplantation* 71 (2001) 157–159.
 - [22] Y. Tsuboi, Y. Fujino, K. Kobayashi, T. Saheki, T. Yamada, High serum pancreatic secretory trypsin inhibitor before onset of type II citrullinemia, *Neurology* 57 (2001) 933.
 - [23] S. Ikeda, S. Kawa, Y. Takei, K. Yamamoto, H. Shimojo, K. Tabata, K. Kobayashi, T. Saheki, Chronic pancreatitis associated with adult-onset type II citrullinemia: clinical and pathological findings, *Ann. Intern. Med.* 141 (2004) W109–W110.
 - [24] M. Hachisu, Y. Oda, M. Goto, K. Kobayashi, T. Saheki, T. Ohura, S. Noma, S. Kitanaoka, Citrin deficiency presenting with ketotic hypoglycaemia and hepatomegaly in childhood, *Eur. J. Pediatr.* 164 (2005) 109–110.
 - [25] J. Soeda, M. Yazaki, T. Nakata, S. Miwa, S. Ikeda, W. Hosoda, M. Iijima, K. Kobayashi, T. Saheki, M. Kojiro, S. Miyagawa, Primary liver carcinoma exhibiting dual hepatocellular-biliary epithelial differentiations associated with citrin deficiency: a case report, *J. Clin. Gastroenterol.* 42 (2008) 855–860.
 - [26] K. Mutoh, K. Kurokawa, K. Kobayashi, T. Saheki, Treatment of a citrin-deficient patient at the early stage of adult-onset type II citrullinaemia with arginine and sodium pyruvate, *J. Inher. Metab. Dis.* 31 (2008), doi:10.1007/s10545-008-0752-x.
 - [27] H. Nagasaka, Y. Okano, H. Tsukahara, Y. Shigematsu, T. Momoi, J. Yorifuji, T. Miida, T. Ohura, K. Kobayashi, T. Saheki, K. Hirano, M. Takayanagi, T. Yorifuji, 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 (2009) 21–26.
 - [28] A. Tamamori, Y. Okano, H. Ozaki, A. Fujimoto, M. Kajiwara, K. Fukuda, K. Kobayashi, T. Saheki, Y. Tagami, T. Yamano, Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: severe hepatic dysfunction in an infant requiring liver transplantation, *Eur. J. Pediatr.* 161 (2002) 609–613.
 - [29] T. Shigeta, M. Kasahara, T. Kimura, A. Fukuda, K. Sasaki, K. Arai, A. Nakagawa, S. Nakagawa, K. Kobayashi, S. Soneda, H. Kitagawa, Liver transplantation for an infant with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency using heterozygote living donor, *Pediatr. Transplant.* 2009 [Epub ahead of print] PMID: 19413723.
 - [30] S. Ikeda, M. Yazaki, Y. Takei, T. Ikegami, Y. Hashikura, S. Kawasaki, M. Iwai, K. Kobayashi, T. Saheki, Type II (adult onset) citrullinaemia: clinical pictures and the therapeutic effect of liver transplantation, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 71 (2001) 663–670.
 - [31] R. Terada, K. Yamamoto, K. Kobayashi, K. Sakaguchi, Y. Iwasaki, T. Saheki, Y. Shiratori, Adult-onset type II citrullinemia associated with idiopathic hypertriglyceridemia as a preceding feature, *J. Gastroenterol. Hepatol.* 21 (2006) 1634–1635.
 - [32] T. Saheki, K. Kobayashi, M. Terashi, T. Ohura, Y. Yanagawa, Y. Okano, T. Hattori, H. Fujimoto, K. Mutoh, Z. Kizaki, A. Inui, Reduced carbohydrate intake in citrin-deficient subjects, *J. Inher. Metab. Dis.* 31 (2008) 386–394.
 - [33] S. Tamakawa, H. Nakamura, T. Katano, M. Yoshizawa, K. Ohtake, T. Kubota, Hyperalimentation therapy produces a comatose state in a patient with citrullinemia, *J. Jpn Soc. Intensive Care Med.* 1 (1994) 37–41 (in Japanese).
 - [34] M. Yazaki, Y. Takei, K. Kobayashi, T. Saheki, S. Ikeda, Risk of worsened encephalopathy after intravenous glycerol therapy in patients with adult-onset type II citrullinemia (CTLN2), *Int. Med.* 44 (2005) 188–195.
 - [35] J.R. Williamson, Role of anion transport in the regulation of metabolism, in: R.W. Hanson, M.A. Mehlerman (Eds.), *Gluconeogenesis: Its Regulation in Mammalian Species*, Wiley, New York, 1976, pp. 165–238.
 - [36] T.H. Claus, J.R. Schlumpf, M.R. El-Maghrabi, S.J. Pilkis, Regulation of the phosphorylation and activity of 6-phosphofructo 1-kinase in isolated hepatocytes by alpha-glycerolphosphate and fructose 2,6-bisphosphate, *J. Biol. Chem.* 257 (1982) 7541–7548.
 - [37] E. Van Schaftingen, R. Bartrons, H.G. Hers, The mechanism by which ethanol decreases the concentration of fructose 2,6-bisphosphate in the liver, *Biochem. J.* 222 (1984) 511–518.
 - [38] D.S. Sinasac, M. Moriyama, M.A. Jalil, L. Begum, M.X. Li, M. Iijima, M. Horiuchi, B.H. Robinson, K. Kobayashi, T. Saheki, L.C. Tsui, *Slc25a13*-knockout mice harbor metabolic deficits but fail to display hallmarks of adult-onset type II citrullinemia, *Mol. Cell. Biol.* 24 (2004) 527–536.
 - [39] M. Moriyama, M.X. Li, K. Kobayashi, D.S. Sinasac, Y. Kannan, M. Iijima, M. Horiuchi, L.C. Tsui, M. Tanaka, Y. Nakamura, T. Saheki, Pyruvate ameliorates the defect in ureogenesis from ammonia in citrin-deficient mice, *J. Hepatol.* 44 (2006) 930–938.
 - [40] T. Saheki, M. Iijima, M.X. Li, K. Kobayashi, M. Horiuchi, M. Ushikai, F. Okumura, X.J. Meng, I. Inoue, A. Tajima, M. Moriyama, K. Eto, T. Kadowaki, D.S. Sinasac, L.C. Tsui, M. Tsuji, A. Okano, T. Kobayashi, Citrin/mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase double knock-out mice recapitulate features of human citrin deficiency, *J. Biol. Chem.* 282 (2007) 25041–25052.
 - [41] Y. Imamura, K. Kobayashi, T. Shibata, S. Aburata, K. Tahara, O. Kubozono, T. Saheki, 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 (2003) 68–72.
 - [42] H. Takahashi, T. Kagawa, K. Kobayashi, H. Hirabayashi, M. Yui, L. Begum, T. Mine, S. Takagi, T. Saheki, Y. Shinohara, A case of adult-onset type II citrullinemia – deterioration of clinical course after infusion of hyperosmotic and high sugar solutions, *Med. Sci. Monit.* 12 (2006) CS13–CS15.
 - [43] D. Dimmock, K. Kobayashi, M. Iijima, A. Tabata, L.J. Wong, T. Saheki, B. Lee, F. Scaglia, Citrin deficiency: a novel cause of failure to thrive that responds to a high-protein, low-carbohydrate diet, *Pediatrics* 119 (2007) e773–777.
 - [44] K. Fukushima, M. Yazaki, M. Nakamura, N. Tanaka, K. Kobayashi, T. Saheki, H. Takei, S. Ikeda, Conventional diet therapy for hyperammonemia is risky in the treatment of hepatic encephalopathy associated with citrin deficiency, *Int. Med.* 49 (2010) 243–247.
 - [45] M.X. Li, T. Nakajima, T. Fukushima, K. Kobayashi, N. Seiler, T. Saheki, Aberrations of ammonia metabolism in ornithine carbamoyltransferase-deficient *spf-ash* mice and their prevention by treatment with urea cycle intermediate amino acids and an ornithine aminotransferase inactivator, *Biochim. Biophys. Acta* 1455 (1999) 1–11.
 - [46] H. Jaeschke, C. Kleinwaechter, A. Wendel, NADH-dependent reductive stress and ferritin-bound iron in allyl alcohol-induced lipid peroxidation in vivo: the protective effect of vitamin E, *Chem. Biol. Interact.* 81 (1992) 57–68.

Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency in two Malaysian siblings: outcome at one year of life

Thong M K, Boey C C M, Sheng J S, Ushikai M, Kobayashi K

ABSTRACT

We report two Malaysian siblings with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD). The younger sibling, a six-month-old Chinese girl, presented with prolonged neonatal jaundice, and was investigated for biliary atresia. Urine metabolic screen showed the presence of urinary-reducing sugars, and she was treated with a lactose-free formula. NICCD was suspected based on the clinical history, examination and the presence of urinary citrulline. Mutation study of the SLC25A13 gene showed the compound heterozygotes, 851del4 and IVS16ins3kb, which confirmed the diagnosis of NICCD in the patient and her three-year-old female sibling, who also had unexplained neonatal cholestasis. Long-term dietary advice, medical surveillance and genetic counselling were provided to the family. The diagnosis of NICCD should be considered in infants with unexplained prolonged jaundice. DNA-based genetic testing of the SLC25A13 gene may be performed to confirm the diagnosis retrospectively. An awareness of this condition may help in early diagnosis using appropriate metabolic and biochemical investigations, thus avoiding invasive investigations in infants with neonatal cholestasis caused by NICCD.

Keywords: citrin deficiency, citrullinaemia type 2, metabolic liver disease, molecular genetics, neonatal intrahepatic cholestasis, neonatal jaundice, prolonged jaundice

Singapore Med J 2010;51(1):e12-e14

INTRODUCTION

Citrin is a mitochondrial inner membrane aspartate-glutamate carrier that functions as part of the malate-aspartate shuttle, transferring cytosolic-reduced nicotinamide adenine dinucleotide into the mitochondria. It plays a role in the synthesis of urea, protein and nucleotide by supplying mitochondrial aspartate to the cytosol in the liver.⁽¹⁾ There are two disease entities

attributed to the deficiency of citrin: neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD; OMIM#605814) and adult-onset Type II citrullinaemia (CTLN2; OMIM#603471).⁽²⁾ Infants with NICCD often present with transient intrahepatic cholestasis with mild liver dysfunction, hepatomegaly, transient multiple aminoacidaemia (citrulline, methionine, tyrosine) and hypoglycaemia. To the best of our knowledge, these two conditions and their outcomes have not been published in the English medical literature from Southeast Asia.

CASE REPORT

A six-month-old Malaysian Chinese baby girl of non-consanguineous parents was referred to the University of Malaya Specialist Centre at six weeks of life for investigation of prolonged neonatal jaundice. The antenatal period was uneventful, and she was delivered at term with a birth weight of 2.75 kg. She was initially breastfed but later received additional formula feeds. Her stools were pale yellow in colour. Although she was thriving well, she was noted to be jaundiced from the first month of life and was investigated for prolonged jaundice. On review of the family history, it was found that the patient had an elder sister, aged three years old, who also had jaundice from one to three months of age. Her urinary-reducing sugar was positive. The sister was initially treated in another hospital. Her jaundice had disappeared after lactose-free formula was started so no other investigation was performed.

The physical examination confirmed the presence of jaundice in the patient. She was thriving well and had no dysmorphic features. The abdominal examination revealed a soft palpable liver 2 cm below the right subcostal margin. The rest of the findings were non-contributory. The investigations showed hyperbilirubinaemia 210 (control range 3–17) $\mu\text{mol/L}$ with conjugated fraction 126 (control range 0–3) $\mu\text{mol/L}$, serum alkaline phosphatase 9,813 (control range 50–136) IU/L, serum alanine aminotransferase 47 (control range 30–65) IU/L, serum aspartate aminotransferase 168 (control range 15–37) IU/L and gamma glutamyl transferase 285 (control range 5–55) IU/L. The full blood

Genetics and Metabolism Unit, Department of Paediatrics, Faculty of Medicine, University of Malaya, Kuala Lumpur 50603, Malaysia

Thong MK, MBBS, MPeds, MD
Clinical Geneticist and Professor of Paediatrics

Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Unit

Boey CCM, FRCP, MD, PhD
Professor of Paediatrics

Department of Molecular Metabolism and Biochemical Genetics, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima 890-8544, Japan

Sheng JS, MSc
Scientist

Ushikai M, MSc
Scientist

Kobayashi K, PhD
Associate Professor and Molecular Geneticist

Correspondence to:
Dr Meow-Keong Thong
Tel: (60) 3 7949 2065
Fax: (60) 3 7955 6114
Email: thongmk@um.edu.my

count, hypothyroid screen and glucose-6-phosphate dehydrogenase screen were normal. The alpha-lantitrypsin and serum TORCH screens were normal. Ultrasonography of the liver and abdomen was normal, but the isotope study with hepatobiliary iminodiacetic acid scan did not show any excretion. An on-table cholangiogram, however, showed good excretion into the small intestine, excluding the possibility of biliary atresia. The liver biopsy showed marked cholestasis with ballooning degeneration and fibrosis of the portal tracts. No inflammatory cell was noted.

The urine metabolic screen showed the presence of urinary-reducing sugars (positive) and tyrosine (positive) on two occasions. In view of the suspicion of galactosaemia, she was empirically started on a lactose-free formula, and breastfeeding was stopped. The urinary-reducing sugars subsequently became negative. The galactose-1-phosphate uridyl transferase assay and the urinary succinylacetone level were normal, while the urine organic acid showed a marked increase in 4-hydroxyphenylacetic acid, 4-hydroxyphenyllactic acid, 4-hydroxyphenylpyruvic acid and n-acetyl tyrosine, which was consistent with liver impairment. The urine amino acid showed a marked elevation of urine citrulline and a slight increase in tyrosine, histidine and alanine, with an absence of succinylacetone and argininosuccinic acid, suggesting NICCD. Plasma amino acid tests were not done at that time. Mutation analysis of the SLC25A13 gene was performed at the Department of Molecular Metabolism and Biochemical Genetics, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima, Japan. The results showed that the patient was a compound heterozygote for two different mutations: a known 851del4⁽³⁾ and a novel IVS16ins3kb that was reported recently.⁽⁴⁾

On review at five months of age, the patient had recovered well. The liver function test, serum ammonium, urine and plasma amino acid assays were normal. The caregivers were counselled regarding the condition. Appropriate dietary advice was provided to the parents, who were told to ensure that the patient maintained a high-protein and low-carbohydrate diet, and avoided paracetamol and other antiinflammatory medications. The patient was well at one year of life. After the diagnosis of NICCD was made in the patient, the older sibling was tested and found to have the identical compound heterozygous mutations, 851del4 and IVS16ins3kb. Following this molecular diagnosis, the parents were counselled that both their daughters have NICCD. The older sister has remained well and has no specific food preference.

DISCUSSION

While NICCD during infancy is not considered a life-threatening disease, it is vital to note that three affected individuals had undergone liver transplantation.⁽⁵⁾ The clinical features may include intrahepatic cholestasis, diffuse fatty liver with parenchymal cellular infiltration associated with hepatic fibrosis and variable liver dysfunctions, such as coagulopathy and hypoalbuminaemia. This may lead to extensive investigations in the affected infant to exclude biliary atresia. Other clinical features include ketotic hypoglycaemia, hepatomegaly and haemolytic anaemia in childhood. As awareness of NICCD is generally low, these patients may be empirically treated for galactosaemia with lactose-free formula. After weaning, the patient with NICCD may show an aversion to carbohydrate-rich foods and a fondness for protein-rich foods.

Unfortunately, some individuals with NICCD may develop CTLN2 with neuropsychiatric features during early adulthood.⁽²⁾ CTLN2 is a severe condition characterised by recurrent episodes of hyperammonaemia and neuropsychiatric symptoms, such as nocturnal delirium, irritability, delusions, disorientation, changes in sensorium, convulsions and coma. Death may result from cerebral oedema. The onset is sudden, and the precipitating factors may include alcohol ingestion, medications or surgery. The liver may show fatty infiltration and mild fibrosis, with minimal liver dysfunction. Although the prognosis of CTLN2 is guarded, it is amenable to liver transplantation.⁽⁶⁾

The differential diagnoses may include citrullinaemia Type 1 (CTLN1), argininosuccinic aciduria and pyruvate carboxylase deficiency in patients presenting with increased urinary or plasma citrulline. Hyperammonaemia may lead one to suspect urea cycle defect and organic acidemias. The neonate with cholestasis may be investigated for galactosaemia, biliary atresia, Byler disease and other forms of hereditary hyperbilirubinaemia. The diagnosis of NICCD is made based on the history and the above mentioned physical examination findings, and supported by transient aminoacidaemia (citrulline, methionine, tyrosine), transient galactosuria, an increased alpha foetoprotein concentration and the presence of mild liver dysfunction. The symptoms and abnormal biochemical findings disappear by one year of age. Due to the transient nature of the biochemical abnormalities in NICCD, genetic testing is useful when the patient is seen after the first year of life, or when the parents are considering prenatal diagnosis. In addition, the parents of

patients with NICCD confirmed by genetic testing may receive early counselling on the risk of CTLN2 for their children, which will change their long-term management and health surveillance program. For example, as the outcome of NICCD patients is not always benign, the confirmation of their status as NICCD by genetic testing may mean a life-time of dietary modifications and early preparation for liver transplantation, if they develop recurring neuropsychiatric symptoms.⁽⁴⁾ A patient with "idiopathic" neonatal cholestasis may not be subjected to similar restrictions or concerns. Therefore, continuing research and follow-up of these families are important for future reference.

The frequency carriers for the SLC25A13 mutation is one in 65 and one in 48 in the Japanese and Southern Chinese populations, respectively.^(4,7) Recently, NICCD was reported in patients from Israel,^(4,8) the United States of America,⁽⁹⁾ the United Kingdom^(4,10) and the Czech Republic.⁽⁴⁾ Increasingly, this condition is being detected through expanded newborn screening programmes.^(11,12) There is a need for greater awareness of this disease entity in this part of Southeast Asia. This is to avoid unnecessary and potentially hazardous investigations in infants. As such, it would be reasonable to consider this diagnosis in the workup for patients with neonatal cholestasis. This condition is also amenable to dietary management, which consists of a high-protein and low-carbohydrate diet, and avoidance of risk factors, such as alcohol and certain drugs. As this an autosomal recessive condition, genetic counselling should be provided to the affected family. Mutation study of the SLC25A13 gene may be used when the diagnosis is uncertain, or when prenatal diagnosis is being considered. In our case, the molecular diagnostic approach had confirmed the diagnosis of NICCD in both patients. Long-term health and medical surveillance has been provided for the family. Therefore, the diagnosis of NICCD in infants with unexplained prolonged jaundice should be considered, with a DNA-based genetic testing of the SLC25A13 gene performed to confirm the diagnosis.

The detailed methods for the identification and diagnosis of the novel mutation, IVS16ins3kb, which was first found and characterised in a Japanese CTLN2 patient, have been described in the literature.⁽⁴⁾ However, the clinical and biochemical data have previously been reported mainly in Japanese,^(13,14) Korean^(15,16) and Chinese⁽⁴⁾ NICCD patients with the IVS16ins3kb mutation, and it is well known that many patients

and carriers of the mutation 851del4 are found widely in East Asia.^(4,7) Therefore, the presence of both these mutations in Malaysian Chinese patients, as reported in this case, suggests that the IVS16ins3kb mutation, like the 851del4 mutation, may also be widely distributed in East Asia.⁽³⁾

REFERENCES

1. Saheki T, Kobayashi K. Physiological role of citrin, a liver-type mitochondrial aspartate-glutamate carrier, and pathophysiology of citrin deficiency. *Recent Res Devel Life Sci* 2005; 3:1-15.
2. Saheki T, Kobayashi K. Mitochondrial aspartate glutamate carrier (citrin) deficiency as the cause of adult-onset type II citrullinemia (CTLN2) and idiopathic neonatal hepatitis (NICCD). *J Hum Genet* 2002; 47:333-41.
3. Kobayashi K, Sinasac DS, Iijima M, et al. The gene mutated in adult-onset type II citrullinemia encodes a putative mitochondrial carrier protein. *Nat Genet* 1999; 22:159-63.
4. Tabata A, Sheng JS, Ushikai M, et al. Identification of 13 novel mutations including a retrotransposal insertion in SLC25A13 gene and frequency of 30 mutations found in patients with citrin deficiency. *J Hum Genet* 2008; 53:534-45.
5. Tamamori A, Okano Y, Ozaki H, et al. Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: severe hepatic dysfunction in an infant requiring liver transplantation. *Eur J Pediatr* 2002; 161:609-13.
6. Saheki T, Kobayashi K, Iijima M, et al. Adult-onset type II citrullinemia and idiopathic neonatal hepatitis caused by citrin deficiency: involvement of the aspartate-glutamate carrier for urea synthesis and maintenance of the urea cycle. *Mol Genet Metab* 2004; 81 Suppl 1:S20-6.
7. Lu YB, Kobayashi K, Ushikai M, et al. Frequency and distribution in East Asia of 12 mutations identified in the SLC25A13 gene of Japanese patients with citrin deficiency. *J Hum Genet* 2005; 50:338-46.
8. Ben-Shalom E, Kobayashi K, Shaag A, et al. Infantile citrullinemia caused by citrin deficiency with increased dibasic amino acids. *Mol Genet Metab* 2002; 77:202-8.
9. Dimmock D, Kobayashi K, Iijima M, et al. Citrin deficiency: a novel cause of failure to thrive that responds to a high protein, low carbohydrate diet. *Pediatrics* 2007; 119:e773-7.
10. Hutchin T, Preece MA, Hendriksz C, et al. Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD) as a cause of liver disease in infants in the UK. *J Inherit Metab Dis* 2009, June 11[Epub ahead of print].
11. Lee NC, Chien YH, Kobayashi K, et al. Time course of acylcarnitine elevation in neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency. *J Inherit Metab Dis* 2006; 29:551-5.
12. Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, et al. Clinical pictures of 75 patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD). *J Inherit Metab Dis* 2007; 30:139-44.
13. Tazawa Y, Kobayashi K, Abukawa D, et al. Clinical heterogeneity of neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: case reports from 16 patients. *Mol Genet Metab* 2004; 83:213-9.
14. Tokuhara D, Iijima M, Tamamori A, et al. Novel diagnostic approach to citrin deficiency: analysis of citrin protein in lymphocytes. *Mol Genet Metab* 2007; 90:30-6.
15. Kim SZ, Jeon YM, Song WJ, et al. Two cases of citrin deficiency detected by newborn screening in Korea. *J Inherit Metab Dis* 2006; 29 Suppl 1:84.
16. Ko JM, Kim GH, Kim JH, et al. Six cases of citrin deficiency in Korea. *Int J Mol Med* 2007; 20:809-15.

Liver transplantation for an infant with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency using heterozygote living donor

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 Transplantation* 2009. © 2009 John Wiley Sons & A/S.

Abstract: NICCD is an autosomal recessive genetic disorder, characterized by cholestasis, coagulopathy, hypoglycemia, fatty liver and multiple amino acidemia. NICCD develops in the neonatal/infantile period and has been reported as a “naturally curable” disease within one yr of life. Recently, we experienced an infantile NICCD who developed progressive liver failure, and required subsequent LT using a heterozygote living donor at eight months of age. Diagnosis of NICCD was established before transplantation, and donor evaluation included mutation in the SLC25A13 gene for exclusion of individuals with citrin deficiency citrullinemia. LDLT, from blood type identical mother using a left lateral segment graft, was performed without serious complication. Plasma amino acid concentration was normalized rapidly, and the patient was discharged 30 days after transplant. During one yr follow up, the recipient has been doing well without additional medication for NICCD. NICCD should be considered in the differential diagnosis as a cause of neonatal/infantile cholestatic disease. LT using a heterozygote living donor is an effective alternative in countries where a deceased donor is not available.

Takanobu Shigeta¹, Mureo Kasahara¹, Takuya Kimura¹, Akinari Fukuda¹, Kazunari Sasaki¹, Katsuhiko Arai², Atsuko Nakagawa³, Satoshi Nakagawa⁴, Keiko Kobayashi⁵, Shun Soneda⁶ and Hiroaki Kitagawa⁷

Departments of ¹Transplant Surgery, ²Gastroenterology, ³Pathology, ⁴Intensive Care Unit, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan, ⁵Department of Molecular Metabolism and Biochemical Genetics, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima, Japan, Departments of ⁶Pediatrics and ⁷Pediatric Surgery, St. Marianna School of Medicine Hospital, Kanagawa, Japan

Key words: neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency – living donor liver transplantation – adult-onset type II citrullinemia – heterozygote donor – end-stage liver disease

Takanobu Shigeta, MD, Department of Transplant Surgery, National Center for Child Health and Development, 2-10-1 Okura, Setagaya-ku, Tokyo 157-8535, Japan
Tel.: +81 3 3416 0181
Fax: +81 3 3416 2222
E-mail: shigeta-t@ncchd.go.jp

Accepted for publication 23 January 2009

Recently, citrin deficiency has been established as an autosomal recessive genetic disorder, and has two phenotypes (1). One is NICCD and the other is CTLN2. NICCD has been reported with SLC25A13 mutations and develops in the neonatal and/or infantile period. Clinical presentations of NICCD are characterized by cholestasis,

coagulopathy, hypoglycemia, fatty liver, and multiple amino acidemia; however, these features have been reported to improve spontaneously within one yr of life (2). Therefore, development of end-stage liver disease in NICCD patients is extremely rare. We report our experience of infantile NICCD diagnosed preoperatively that required LDLT because of development of end-stage liver disease. The feasibility of LT using a heterozygote living donor is discussed.

Case

The female neonate was born at 40 wk of gestation, weighing 2679 g, with normal delivery.

Abbreviations: AFP, alpha-feto protein; CT, computed tomography; CTLN2, adult-onset type II citrullinemia; LDLT, living donor liver transplantation; LT, liver transplantation; NICCD, neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency; PT-INR, prothrombin time international normalized ratio; T-bil, total bilirubin.

She was the first live-born child of unrelated parents with no abnormalities in the family history. At five months old, she was admitted to the hospital because of abdominal distension and an inguinal hernia. Her weight (6370 g) and height (68 cm) were within the limits of the mean and standard deviation of the growth standard. Laboratory data showed an elevated serum T-bil 3.8 mg/dL (normal range: 0.25–0.85 mg/dL), aspartate aminotransferase 155 IU/L (24–42 IU/L), alanine aminotransferase 81 IU/L (9–28 IU/L), PT-INR 1.4 (0.64–1.17), and AFP 230 000 ng/mL (normal range at five months of age: 1–20 ng/mL). Abdominal ultrasound and CT revealed a liver tumor of segment 8 (15 mm) (Fig. 1), which was suspected as a hemangioma or hemangioendothelioma by magnetic resonance imaging, without evidence of liver cirrhosis but with massive ascites. Liver function progressively deteriorated within two months, and control of intractable ascites failed. She was referred to National Center for Child Health and Development for possible LT because of end-stage liver disease of unknown etiology. Routine studies to determine the cause of neonatal/infantile end-stage liver disease were performed. As SLC25A13 gene mutation revealed a compound heterozygote of 1638ins23 and S225X, the cause of liver failure was diagnosed as NICCD. Laboratory data before LT showed T-bil 19.5 mg/dL, and PT-INR 2.0 with administration of fresh frozen plasma every other day.

Her mother was evaluated as a potential organ donor for LT. In addition to the routine evalu-

ation for potential donor, mutation in the SLC25A13 gene was examined for exclusion of CTLN2. She did not eat an unbalanced diet, and her liver function was normal including the serum pancreatic secretory trypsin inhibitor 8.0 ng/mL (normal range: 4.6–20.0 ng/mL). DNA diagnosis of donor for the mutated gene revealed an asymptomatic heterozygote for S225X mutation. The ABO blood group identical mother was selected as the organ donor, because of the better graft-to-recipient weight ratio. At eight months old, LDLT was performed using the left lateral segment, weighing 242 g, without complication. The native liver was found to be cirrhotic. Microscopic examination revealed giant cell hepatitis with portal fibrosis of the liver lobules without fatty change, and the tumor was diagnosed as a hemangioendothelioma (Fig. 2). After LDLT, the patient received normal milk and food without protein restriction. Blood amino acid analysis was normal (Table 1), and the serum concentration of AFP, t-bil and total bile acid normalized rapidly. The patient was discharged 30 days after LDLT without serious complication. During one yr follow-up, she has been doing well without additional medication.

Discussion

Citrin deficiency is an autosomal recessive genetic disorder that results from mutation in SLC25A13 gene on chromosome 7q21.3 (1, 3). SLC25A13 gene encodes a calcium-binding mitochondrial protein, designated citrin, expressed mainly in the liver. Citrin plays an important role in the supply of aspartate from mitochondria to the cytoplasm for synthesis of arginosuccinate.

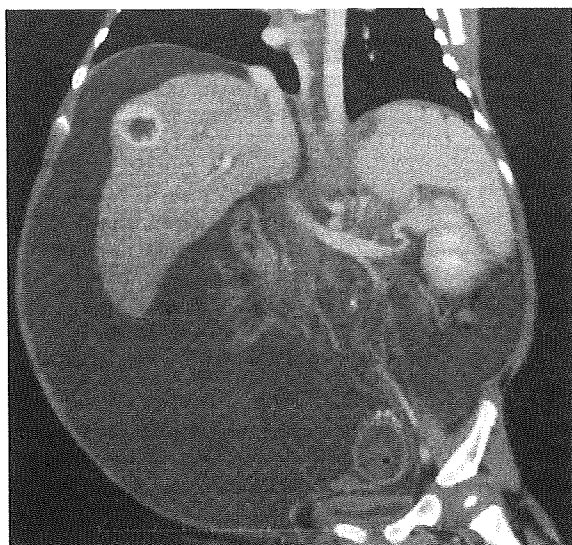


Fig. 1. CT demonstrated the tumor in the liver at segment 8 with massive ascites.

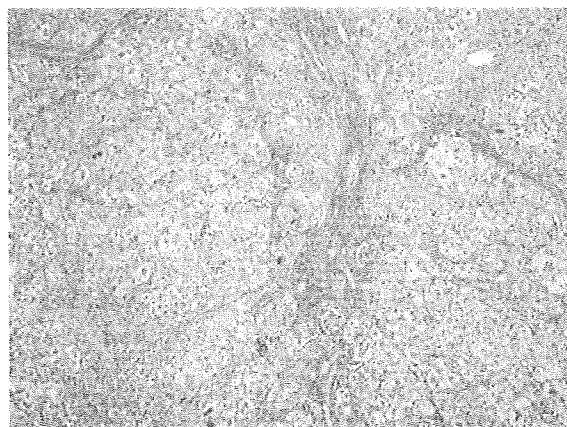


Fig. 2. Histology revealed that liver displayed as giant cell hepatitis with portal fibrosis among liver lobules without fatty change (Masson trichrome stain).

Table 1. Plasma amino acid concentration before and after liver transplant

	Range (nmol/mL)	Post-operative day			
		-107	-28	-11	27
Threonine	66.5–188.9	221.1	270.5	200.5	154.3
Serine	72.4–164.5	195.3	235.2	141.9	85.9
Asparagine	44.7–96.8	39.8	69.5	78.3	55.9
Glutamic acid	12.6–62.5	63.4	69.9	64.9	65.9
Citrulline	17.1–42.6	45.2	33.2	25.4	25.5
Methionine	18.9–40.5	40.7	227.8	888	25.8
Leucine	76.6–171.3	122.9	118.3	59.1	130
Tyrosine	40.4–90.3	95	266.2	251.8	65.1
Phenylalanine	42.6–75.7	54.3	92.9	72	53.6
Fisher ratio	2.43–4.40	2.98	1.19	0.77	3.69

Therefore, impairment of citrin could lead to failure in supply of aspartate from mitochondria to the cytoplasm for synthesis of argininosuccinate, and cause high citrulline and ammonia levels.

In Japan, the frequency of homozygotes with SLC25A13 mutations is estimated to be 1 in 19 000, and the incidence of NICCD could be 1 in 34 000, but it depends on the recognition of this disease entity, owing to the nature of NICCD, which may spontaneously resolve without treatment (2). Ohura et al. (2) reviewed the characteristics of 75 patients with NICCD. Among them, 30 and 45 patients were positive and negative for newborn screening in Japan (hypergalactosemia, hypermethioninemia, and hyperphenylalaninemia), and more than half of negative patients presented before three months with prolonged jaundice, acholic stools, and failure to thrive. Laboratory studies reveal serum transaminase, T-bil, total bile acid concentrations to be mildly elevated. The main characteristic of patients with NICCD is an abnormal amino acid pattern, with significant elevation of citrulline and methionine concentrations; however, it is noteworthy that six newborn screening negative cases did not show any elevation of citrulline. The present case was also negative for newborn screening, but did not present any signs of cholestatic disease during the first five months of age. Moreover, citrulline and methionine were elevated only slightly at her first visit, which made the diagnosis of liver disease attributable to citrullinemia difficult.

Treatment included special lactose-free milk formula enriched with medium chain triglycerides and protein free as well as medical therapy with fat-soluble vitamins, ursodeoxycholic acid, and phenobarbital (2). Four of 75 children with NICCD developed severe liver damage, and required subsequent treatment with fresh-frozen

plasma or glucagon-insulin therapy. Seventy-three cases resolved by 12 months; however, two cases progressively developed liver failure and underwent LT before their first birthday. Furthermore, Tamamori et al. (3) reported a case that required LT at 10 months old because of end-stage liver disease. They suspected the cause of end-stage liver disease was tyrosinemia type 1 before LT, but confirmed the cause as NICCD two yr after LDLT. Moreover, their case was a compound heterozygote of 851del4/IVS11+1G → A, which was different from our case.

LT can offer complete resolution for genetically acquired errors of metabolism originating in the liver. However, LDLT using a heterozygote donor is an important issue to avoid subsequent development of serious complications in donor as well as in recipient. Previously, the safety of using a heterozygote donor has been reported, and concluded that LDLT using parenteral donors can be recommended as an effective treatment for pediatric cases with inheritable metabolic disorders (4). They reported a large series of LDLT for pediatric cases with various inheritable metabolic disorders using parenteral liver grafts, and did not experience mortality and morbidity related to the heterozygote state, as we reported in this manuscript. Thus, LT using a graft from a heterozygote living donor is a feasible alternative for NICCD patients.

In conclusion, we report an LDLT for an infantile case with NICCD who developed intractable ascites and end-stage liver disease. We made a preoperative diagnosis, and successful LDLT was performed using a heterozygote living donor. It is difficult to decide the optimal timing for LT with NICCD because a spontaneous remission can occur; however, LT should be considered when patients develop irreversible liver failure even when only a heterozygote living donor is available.

References

1. SAHEKI T, KOBAYASHI K. Mitochondrial aspartate glutamate carrier (citrin) deficiency as the cause of adult-onset type II (CTLN2) and idiopathic neonatal hepatitis (NICCD). *J Hum Genet* 2002; 47: 333–341.
2. OHURA T, KOBAYASHI K, TAZAWA Y, et al. Clinical pictures of 75 patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency. *J Inher Metab Dis* 2007; 30: 139–144.
3. TAMAMORI A, OKANO Y, OZAKI H, et al. Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: Severe hepatic dysfunction in an infant requiring liver transplantation. *Eur J Pediatr* 2002; 161: 609–613.
4. MORIOKA D, KASAHARA M, TAKADA Y, et al. Current role of liver transplantation for the treatment of urea cycle disorders: A review of the worldwide English literature and 13 cases at Kyoto University. *Liver Transpl* 2005; 11: 1332–1342.

【特別講演】

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

佐伯 武頼¹⁾, 小林 圭子²⁾

Clinical impact of the discovery of the gene responsible for citrin deficiency (adult-onset type II citrullinemia)

Takeyori Saheki¹⁾, Keiko Kobayashi²⁾

キーワード：SLC25A13；シトリン；シトリン欠損症；成人発症Ⅱ型シトルリン血症；新生児肝内胆汁うっ滞症；

Key words：SLC25A13; citrin; citrin deficiency; adult-onset type II citrullinemia (CTLN2); neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD)

1999年成人発症Ⅱ型シトルリン血症 (CTLN2) の原因遺伝子 SLC25A13 発見とその遺伝子産物シトリン citrin の命名¹⁾、2000年 CTLN2 がシトリン欠損症であること²⁾を論文発表して以来、次々に新しい事実が見いだされた。まずは新生児期の病態が明らかにされ^{3,5)}、これを新生児肝内胆汁うっ滞症 (neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency; NICCD) と名付けた。2つの病態を発症することを合わせた総合的な意味での「シトリン欠損症」という疾患概念が出来上がった⁶⁾。さらに、シトリンがミトコンドリア内膜局在性の肝型 aspartate (Asp) glutamate carrier (AGC) であること⁷⁾ が判明し、多彩な病態発症機構が推定できるようになった^{6,8-12)}。一方、遺伝子変異の多くはシトリンたんぱく質の完全欠損を起こす^{2,13)} が、最近はたんぱく質が検出される変異も見つかっている¹⁴⁾。また、日本を含め、東アジアでは共通の変異が発見されるが、その他の地域の変異は、多くが東アジア地域での変異とは異なる¹³⁻¹⁵⁾。シトリン欠損

症は、初期にはアジア人に特有な遺伝性疾患と考えられたが、現在ではどの人種にも存在し得る、世界共通の疾患であることが明らかにされつつある¹³⁻¹⁵⁾。

本疾患の最も際立った特徴のひとつは、甘いものを嫌い、糖質を投与すると高アンモニア血症を増悪化させること⁸⁻¹²⁾ である。この常識を外れた病態のため、従来の高アンモニア血症の治療法はむしろ危険でさえあり、医原性 iatrogenic に予後不良な状態にしていたと考えられる。これらの点を含め、本論文では、この特異な疾患を概説し、臨床に与えたインパクトについて述べたい。

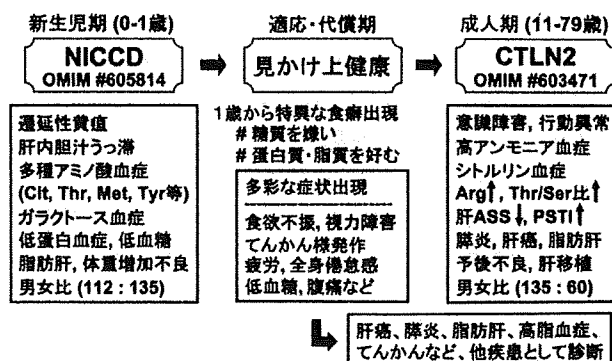


図1 シトリン欠損症の病態像

図からもシトリン欠損症が小児科、消化器内科、神経内科、精神科、救急外来、移植外科など多くの診療科と関係があることがわかる。

1) 徳島文理大学健康科学研究所

2) 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科医化学

1) Institute for Health Sciences, Tokushima Bunri University;

2) Department of Molecular Metabolism and Biochemical Genetics, Kagoshima University Graduate School of Medical Sciences

平成21年10月31日受理

1. CTLN2とその原因遺伝子発見まで

CTLN2の症状を簡単に図1に示した⁹⁾。血漿(清)シトルリンと血中アンモニア高値が主な検査所見である。失見当識と異常行動などの精神科的症状を主とするため、血中アンモニア値の測定は重要である。事実、多くのCTLN2患者の初期診断はてんかん、統合失調症、うつ病などである。古くから、肝脳疾患若年型または栄養障害型と呼ばれた疾患に相当し、豆やピーナッツを異常に好むと記載されてきた。この食癖の重要性については後述する。筆者らは、尿素サイクル酵素(特に argininosuccinate synthetase; ASS)の研究を行っていたため、臨床医からシトルリン血症の確定診断を目的に ASS 活性の測定を依頼され、本疾患との関わりを持った。酵素活性測定に伴い、酵素たんぱく量の定量、動力学的解析を行い、シトルリン血症における ASS 異常に量と質の2種の異常があることに気付いた¹⁶⁾。さらに、上記の肝脳疾患に属する成人症例はすべて肝臓特異的酵素量の低下型(II型)であることを見いだした。質の異常型(I型)と、酵素をほぼ完全欠損するグループ(III型)は、ASS 遺伝子異常によるCTLN1であることも後に判明した。ASS mRNA の低下を伴わない、肝臓特異的な ASS 酵素量低下の原因は、シトルリン欠損に基づく2次的変化であること²⁾以外は、未だに解決されていない。

CTLN2の病因解明は、本疾患に兄弟例が存在することと血族結婚例が多いことから常染色体性劣性遺伝による遺伝性疾患と推定し、少人数の血族結婚に由来する患者 DNA を用いて解析可能な homozygosity mapping 法を取り入れることによって達成できた¹⁾。Homozygosity mapping では、変異遺伝子は一人の祖先に由来すると考えられるので、その遺伝子周辺は homozygous(同祖ホモ)になるという仮説に基づく解析である。しかし、得られた SLC25A13 遺伝子変異の解析では、血族結婚由来患者を用いたにも関わらず、18サンプルのうち3サンプルで compound heterozygote となり¹⁾、本疾患遺伝子変異が広く存在することを示唆している。

著者らは、単離した疾患遺伝子 SLC25A13 がコードするたんぱく質をシトルリン citrin と名付けた¹⁾。シトルリンは、ATP/ADP translocase や ornithine transporter と類似の構造をC端側に持つミトコンドリア内膜局在の solute carrier protein である。また、1998年カルシウムと結合するたんぱく質として発見されたミトコンドリア輸送体 aralar¹⁷⁾と同様に、長く伸長したN-末端側にカルシウムと結合する EF-hand 構造を持つユニークな輸送体であった(図2)¹⁾。後に、両たんぱく質は AGC のアイソフォームであることがイタリアとスペインのグループと

の共同研究で明らかにできた⁷⁾。

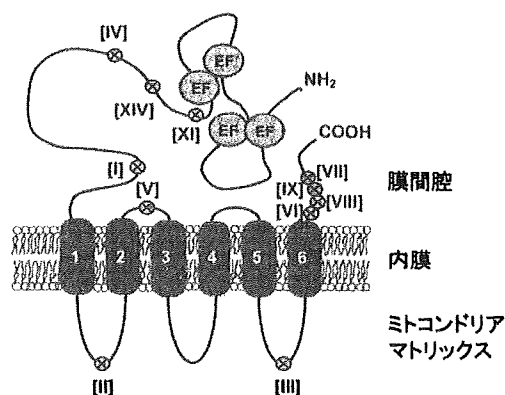


図2 シトルリンの構造モデルと変異部位

ミトコンドリア内膜・膜貫通部分を①～⑥で表す。EF はカルシウムと結合可能な EF-hand モチーフを、⊗は11種の変異部位を示す。

2. シトルリンの機能から推定されるシトルリン欠損症の病態発症機構と特異な食癖の重要性

肝型 AGC としてのシトルリンの機能⁸⁻¹²⁾は、(1) Asp をミトコンドリアから細胞質に輸送することによって、細胞質で行われる、たんぱく質合成、ヌクレオチド合成、尿素合成をサポートすることである。さらに、(2) シトルリンは malate Asp shuttle (MAS) の重要な構成メンバーとして、NADH 還元当量をミトコンドリアへ輸送することで好氣的解糖系をサポートしている。また、(3) 細胞質 NADH の stoichiometry (化学量論) から考えて、乳酸からの糖新生にはシトルリンを必要とする^{9, 10)}。(1) の異常は、たんぱく質合成不全による低たんぱく血症、凝固異常などを生じ、尿素合成障害を引き起こす。(2) の異常は好氣的解糖系の阻害を来し、エネルギー産生障害を起こすと考えられる。さらに、NADH の上昇から細胞質のオキサロ酢酸 (OAA) の低下を起こし、Asp 産生の低下にもつながる。(3) の異常は細胞質の OAA の低下にも関与し、糖新生の低下を起こし、低血糖を来す。シトルリン欠損症に見られる糖質を嫌う食癖は、糖負荷による、細胞質 NADH 蓄積、エネルギー代謝異常、アンモニア代謝異常などの何らかのシグナルが中枢に伝えられて生じたものと考えている。著者らは、これまでに糖質含量の多い病院食で血中アンモニアが上昇傾向を示すことを観察している^{18, 19)}。さらには高糖質輸液によって血中アンモニア濃度上昇を伴う昏睡発生^{20, 21)}、脳浮腫に用いられるグリセオール(グリセロールとフルクトースからなる溶液)投与後の病態悪化を示す多くの症例の存在²²⁾などを報告してきた。これらは、細胞質において NADH を生じる物質が、シトルリン欠損症において毒性を発揮することを示唆するものと考えている。

3. シトリン欠損症における特異な食癖

文献的には、従来の肝脳疾患においても、大豆やピーナッツを異常に好むという記載が多い。小林らは、肝移植前後でのCTLN2患者の食事の好みをアンケート調査した¹¹⁾。肝移植前は甘いものと米飯を嫌い、たんぱく質と脂質に富む食品を好み、アルコールは飲めないという食癖を持つが、肝移植後には炭水化物も食べられ、アルコールも飲めるなど、劇的に変化した。このことは、食癖がシトリン欠損症の本質・病態と関連性があることを示唆している。Saheki et al²³⁾はシトリン欠損症18名(NICCD経験者およびその同胞と父親)の摂取食品名と摂取量を母親(妻)が記載した定量的栄養調査を集計し、以下の結果を得ている(図3)。すなわち、(1) 同年齢・

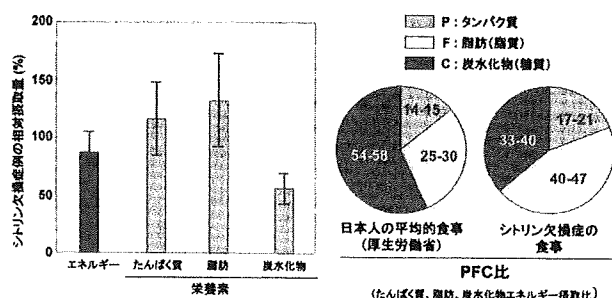


図3 シトリン欠損症例における栄養素摂取の特徴

シトリン欠損症例(CTLN2は発症していない1歳~3歳症例)18例の栄養調査結果を示す。左の図は、それぞれの症例の栄養摂取量を、同じ年齢・性別の日本人平均と比較して%で表し、その平均を示す。右の図は、PFC比(たんぱく質、脂肪、炭水化物摂取をエネルギーの比で表したもの)を示す。

同性の一般日本人集団の統計(厚生労働省栄養調査)値と比較し、炭水化物摂取量が有意に少ないが、エネルギー、たんぱく質、脂肪の摂取量は有意な変化はない。(2)シトリン欠損症例のPFC比(たんぱく質、脂肪、炭水化物エネルギー比)は、一般集団の比率に対して、図3に示すように大きく異なり、炭水化物が少なく、脂肪とたんぱく質が多くなっている。さらに、(3)パーセントで比較した摂取量分布においてもシトリン欠損症例の炭水化物摂取は明らかに少ない集団になっている。以上のことは、シトリン欠損症では炭水化物を避けていることを示唆している。また、前述の病院食摂取時の経験¹⁹⁾から推察すると、たんぱく質および脂肪が炭水化物の毒性を和らげている可能性がある。

4. シトリン欠損症(CTLN2)における高アンモニア血症の治療法は他の高アンモニア血症に対する治療法とは異なる。

一般的な高アンモニア血症に対する治療の原則は、窒素負荷を避けるためにたんぱく質を制限し、体たんぱく質の分解を防ぐために充分量の糖質を供給することである。しかし、シトリン欠損症では、それらはいずれも病態発症を誘導する因子となり得る。シトリン欠損症においては、患者の好む、糖質が少なく・たんぱく質と脂質の多い食事が適していると考えられる。この原則は、NICCDの成長障害と出血傾向の改善においても有効であった²⁴⁾。また一方、アルギニンは、血中アンモニアと血漿トリグリセリドの低下を誘導し有効と考えられる結果が報告されている¹⁸⁾。現在、細胞質でNADHを消費する作用を持つピルビン酸の投与効果を検討している²⁵⁾。肝移植は、シトリン欠損症の代謝異常矯正には非常に有効である²⁶⁾という結果が得られている。しかし、費用とドナーの問題がある。

5. シトリン欠損症の診断とそこから明らかになった遺伝子診断の問題点

NICCDの約40%は、新生児マススクリーニング陽性である^{12, 27)}。約50%は1ヶ月齢から4ヶ月齢までに遷延性黄疸、成長障害、凝固異常、低たんぱく血症などを主症状とする乳児から見いだされている^{12, 27)}。その精査で、胆汁酸高値、ガラクトース血症、シトルリンを含むフェニルアラニン、チロシン、メチオニン、スレオニン、アルギニンなどの多種アミノ酸血症、 α -フェトプロテイン異常高値などが認められた場合、いずれも遺伝子診断でシトリン欠損症が確定診断される。特徴は、多種多様な検査所見から診断に苦慮する例が多いことであり、遺伝子検索による確定診断の意義は大きい。一方図4に示すように、遺伝子診断結果の確認も含めて行われた両親の遺伝子診断で、すでにこれまでにNICCDの母親または父親の5名が変異のホモ接合体、すなわちシトリン欠損症であることが判明する¹²⁾という問題点も明らかになってきた。この点からもシトリン遺伝子変異の頻度が高いことが示唆される。実際、これまでの日本人一般集団の解析結果からはキャリア(保因者、ヘテロ接合体)頻度は1/65と高いことがわかっている¹³⁾。以上の事実は、遺伝子診断のインフォームドコンセントを行う時点で注意を払う必要性を示している。

CTLN2の診断でも、本疾患を念頭においていない限り大変難しく、他疾患と誤診する場合も多い。しかし、血中アンモニア、血漿シトルリン、血中PSTI(pancreatic secretory trypsin inhibitor)などの測定²⁸⁾、脂肪肝の有無^{29, 30)}、それらに加えて特異な食癖を聞き出すことで容易にCTLN2の診断につなげることができる。CTLN2の遺伝子検索は患者の確定診断と肝移植のドナーを探す目

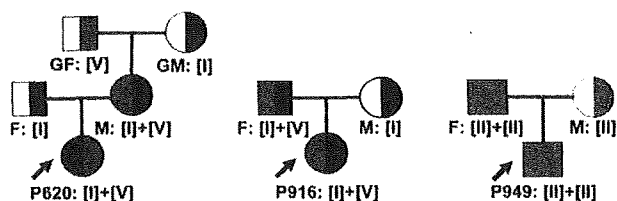


図4 NICCD遺伝子診断の問題点—両親はヘテロ接合体とは限らない—

221名の変異ホモ接合体・複合ヘテロ接合体のうち、患者216名（同胞20名を含む）だけでなく、母親2名あるいは父親3名と5名の両親をシトリン欠損症と診断した。家系図の下に数字は患者番号と検出された変異の種類 [I, V, II] を示す。

的で行われてきた。問題は、図5のようにCTLN2患者の同胞に変異のホモ接合体が見いだされてくること¹²⁾である。このような場合もあり得るという情報を、患者と家族にあらかじめ提供しておく必要がある。突然シトリン欠損症の診断がつけられる未発症の同胞にとってはショックが大きい。現在、その頻度は不明であるが、変異のホモ接合体であっても発病しない場合も多くあることを告げておくことも重要である。

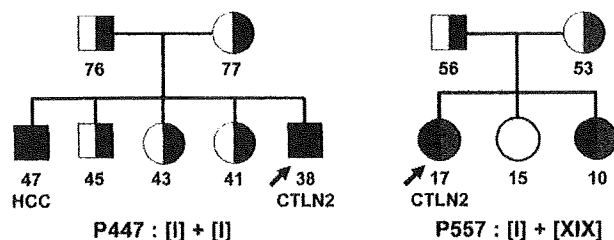


図5 CTLN2遺伝子診断の問題点—肝移植ドナー決定を目的とする遺伝子診断—

P447の家族は肝移植を目的として遺伝子診断を行ったが、長兄も変異ホモ接合体であることが判明した¹⁸⁾。P557の家族では遺伝子診断の結果、上の姉は母親から肝移植を受けたが、同時に末の妹もシトリン欠損症であることが判明し、3年後に初期のCTLN2と診断された^{23,25)}。現在、ビルビン酸ナトリウムで治療を継続している。遺伝子診断を実施した被験者の年齢を数字で表した。

ここで、シトリン欠損症における遺伝子検査の目的と意義を確認しておきたい。まずは(1)診断の確定である。さらに、(2)現在最も効果があると考えられる生体肝移植のドナーの選定に有効である。最も重要なことは、(3)遺伝子診断でシトリン欠損症を確定することによって、将来の発症の予防が可能になることである。本疾患の自然歴はまだ明らかではないが、前述のように発病しない変異ホモ接合体（複合ヘテロ接合体を含む）が存在すると考えられる。発症は、通常、糖質食摂取、アルコール摂取、ある種の薬剤摂取を誘引としている場合が多い。それらの誘引は注意すれば、防ぐことができる。また、何らかのきっかけで病院に入院したときや救急外来などに搬送されたとき、シトリン欠損症であることを医療関

係者に伝えることで不要・有害な加療を防ぐことができる。

6. 症例から学ぶこと

簡単に症例を紹介し、そこから学び取れることを述べてみたい。

1) 8歳で疾患名が特定できた症例：幼児期にぐったりする、嘔吐後の強直性痙攣などからてんかんと診断され治療を受けた。5歳時、強い腹痛と血清アミラーゼ高値となり、急性膵炎と診断された。その後、総胆管拡張手術を受けた。この間、食事が少なく、しばしば低血糖を来した。さらに肝機能異常が出現したが、診断名の確定には至らなかった。しかし、偶然の観察と著者（小林）の助言を受けた担当医の詳細な問診により、特異な食癖が判明し、遺伝子診断の結果、シトリン欠損症と確定できた³¹⁻³³⁾。

膵炎は、CTLN2患者の約20%に既往歴があり³⁴⁾、明らかに関連性がある。また、シトリン欠損症では非常に多彩に変化に富んだ症状がそれぞれの個人に生じるので、診断には、このような疾患の存在を知っていることが重要と考える。

2) 某大学病院に入院するも病名を確定出来ず死亡した症例：意識障害・異常行動があり、某病院で高アンモニア血症を指摘され、診断確定のため、某大学病院に入院したが、アンモニア値は正常として、鎮静剤で治療された。しかし急速な高アンモニア血症が出現し、グリセオールの治療を受け、転院後10日で死亡した。遺族・友人が死因に疑問を持ち、インターネットを調べ、CTLN2を疑った。インフォームドコンセントの後、両親の遺伝子診断が実施され、ヘテロ接合体であることが判明した。その後、某大学病院から、残っていた患者の検体が提供され、遺伝子診断の結果、シトリン欠損症と判明した^{31,35)}。

本症例以外にも、論文となっていない、多くのCTLN2患者がグリセオールを投与され死亡している。これまで、CTLN2と糖質の関連性が明らかではなかったため起こった医原性の死亡である。現在では、CTLN2（シトリン欠損症）に対してグリセオールは禁忌薬剤となっているので、今後はこのような症例は生じないと思うが、関連する多くの診療分野の医師に特に注意を喚起したい。

3) おなかをこわした2歳のNICCD経験児：生後3ヶ月時にNICCDと確定診断された。1歳11ヶ月時に食欲なく、下痢を来し、かかりつけ医に感染性胃腸炎と診断され、乳製品を与えないように指導された。翌日、下痢嘔吐もなく食欲もやや回復したので、おかゆと野菜スープを与えたところ、翌早朝より腹痛と喉の渴きを訴え、ミルクを欲しがったが、前述の乳製品を与えないと

いう指示に従い、お茶のみを与えた。合計1 Lと大量にお茶を飲み、ぐったりとしたので同院を再診した。検査の結果、脱水、低ナトリウム血症、低血糖を起こしていたが、糖は危険と考え、生食のみ投与し、二次救急病院に搬送された。二次病院より、著者（小林）に助言依頼の電話が入った。助言に従って、ソリタ T1（グルコース 2.6% 入り）の点滴を行い、本人が欲しがる食べ物とミルクを飲ませた結果、夕方には元気になり、翌日からは固形食の摂取が可能になり退院した^{33, 36)}。

通常、嘔吐下痢症では、食事の制限、乳製品の制限が行われる。しかし、たんぱく質・脂肪を必要とするシトリン欠損症例に対して、糖は危険だと考え、水分のみの投与では、低ナトリウム血症、脱水の持続、低血糖、エネルギー不足を招き危険である。糖の投与は、肝臓での取り込み・代謝を必要とするほどの大量になると危険となるが、血糖を維持する程度の糖の投与には問題はないことを強調したい。

まとめ

シトリン欠損症の診断には、このような特異な病態があることを知っていることが最も重要である。治療だけでなく発症予防の面からも、早期の遺伝子診断は有効と考えられる。また、治療法は、他の一般的な高アンモニア血症の治療法とはまったく異なることを知っている必要がある。特に、病院食など、高糖質食は危険である。高アンモニア血症を起こす可能性がある。患者が好きな食事を与えることが最善の治療法のひとつである。高濃度グルコース、グリセロール、フルクトースなどの輸液の大量投与は最も危険であるので注意を要する。現在、有効な治療法の開発を急いでいるが、CTLN2はもはや、重篤な疾患ではなくなりつつあることも強調したい。最後に、「シトリン欠損症は、これまでの一般的な概念では通用しないこともある疾患である」ことを、医療関係者のみならず、患者自身と家族が頭に入れておくべきである。

文献

- 1) Kobayashi K, Sinasac DS, Iijima M, et al: The gene mutated in adult-onset type II citrullinaemia encodes a putative mitochondrial carrier protein. *Nat Genet* 22:159-163 (1999).
- 2) Yasuda T, Yamaguchi N, Kobayashi K, et al: Identification of two novel mutations in the SLC25A13 gene and detection of seven mutations in 102 patients with adult-onset type II citrullinemia. *Hum Genet* 107:537-545 (2000).
- 3) Tazawa Y, Kobayashi K, Ohura T, et al: Infantile cholestatic jaundice associated with adult-onset type II citrullinemia. *J Pediatr* 138:735-740 (2001).
- 4) Tomomasa T, Kobayashi K, Kaneko H, et al: Possible clinical and histologic manifestations of adult-onset type II citrullinemia in early infancy. *J Pediatr* 138:741-743 (2001).
- 5) Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, et al: Neonatal presentation of adult-onset type II citrullinemia. *Hum Genet* 108:87-90 (2001).
- 6) Saheki T, Kobayashi K: Mitochondrial aspartate glutamate carrier (citrin) deficiency as the cause of adult-onset type II citrullinemia (CTLN2) and idiopathic neonatal hepatitis (NICCD). *J Hum Genet* 47:333-341 (2002).
- 7) Palmieri L, Pardo B, Lasorsa FM, et al: Citrin and aralar1 are Ca²⁺-stimulated aspartate/glutamate transporters in mitochondria. *EMBO J* 20:5060-5069 (2001).
- 8) Saheki T, Kobayashi K, Iijima M, et al: Adult-onset type II citrullinemia and idiopathic neonatal hepatitis caused by citrin deficiency: involvement of the aspartate glutamate carrier for urea synthesis and maintenance of the urea cycle. *Mol Genet Metab* 81:20-26 (2004).
- 9) 小林圭子, 佐伯武頼: シトリン欠損症の分子病態生化学. *生化学* 76:1543-1559 (2004)
- 10) Saheki T, Kobayashi K: Physiological role of citrin, a liver-type mitochondrial aspartate-glutamate carrier, and pathophysiology of citrin deficiency. *Recent Res Devel Life Sci* 3:59-73 (2005).
- 11) Saheki T, Kobayashi K, Iijima M, et al: Metabolic derangements in deficiency of citrin, a liver-type mitochondrial aspartate-glutamate carrier. *Hepatol Res* 33:181-184 (2005).
- 12) 小林圭子, 飯島幹雄, 牛飼美晴, 他: シトリン欠損症. *日本小児科学会雑誌* 110:1047-1059 (2006).
- 13) Tabata A, Sheng JS, Ushikai M, et al: Identification of 13 novel mutations including a retrotransposal insertion in SLC25A13 gene and frequency of 30 mutations found in patients with citrin deficiency. *J Hum Genet* 53:534-545 (2008).
- 14) Dimmock D, Maranda B, Dionisi-Vici C, et al: Citrin deficiency, a perplexing global disorder. *Mol Genet Metab* 96:44-49 (2009).
- 15) Kobayashi K, Ushikai M, Song YZ, et al: Overview of citrin deficiency: SLC25A13 mutations and the frequency. *J Applied Clin Pediatr* 23:1553-1557 (2008).
- 16) Saheki T, Ueda A, Hosoya M, et al: Qualitative and quantitative abnormalities of argininosuccinate synthetase in citrullinemia. *Clin Chim Acta* 109:325-335 (1981).
- 17) del Arco A, Satrustegui J: Molecular cloning of Aralar, a new member of the mitochondrial carrier superfamily that binds calcium and is present in human muscle and brain. *J Biol Chem* 273:23327-23334 (1998).

- 18) Imamura Y, Kobayashi K, Shibata T, et al: 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* 26:68-72 (2003).
- 19) Saheki T, Inoue K, Tushima A, et al: Citrin deficiency and current treatment concepts. *Mol Genet Metab* in press
- 20) 玉川進, 中村洋之, 片野俊男, 他: 高カロリー輸液で意識障害を繰り返した成人型シトルリン血症の1症例. *日本集中治療医学会雑誌* 1:37-41 (1993)
- 21) Takahashi H, Kagawa T, Kobayashi K, et al: A case of adult-onset type II citrullinemia: deterioration of clinical course after infusion of hyperosmotic and high sugar solutions. *Med Sci Monit* 12:CS13-15 (2006).
- 22) Yazaki M, Takei Y, Kobayashi K, et al: Risk of worsened encephalopathy after intravenous glycerol therapy in patients with adult-onset type II citrullinemia (CTLN2). *Intern Med* 44:188-195 (2005).
- 23) Saheki T, Kobayashi K, Terashi M, et al: Reduced carbohydrate intake in citrin-deficient subjects. *J Inherit Metab Dis* 31:386-394 (2008).
- 24) Dimmock DP, Kobayashi K, Iijima M, et al: Citrin deficiency: a novel cause of failure to thrive that responds to a high protein, low carbohydrate diet. *Pediatrics* 119:e773-e777 (2007).
- 25) Mutoh K, Kurokawa K, Kobayashi K, Saheki T: Treatment of a citrin-deficient patient at the early stage of adult-onset type II citrullinemia with arginine and sodium pyruvate. *J Inherit Metab Dis* 2008 Oct 29 [Epub ahead of print]
- 26) Ikeda S, Yazaki M, Takei Y, et al: Type II (adult onset) citrullinaemia: clinical pictures and the therapeutic effect of liver transplantation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 71:663-670 (2001)
- 27) Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, et al: Clinical pictures of 75 patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency. *J Inherit Metab Dis* 30:139-144 (2007)
- 28) Kobayashi K, Horiuchi M, Saheki T: Pancreatic secretory trypsin inhibitor as a diagnostic marker for adult-onset type II citrullinemia. *Hepatology* 25:1160-1165 (1997).
- 29) Takagi H, Hagiwara S, Hashizume H, et al: Adult onset type II citrullinemia as a cause of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 44:236-239 (2006)
- 30) Komatsu M, Yazaki M, Tanaka N, et al: Citrin deficiency as a cause of chronic liver disorder mimicking non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 49:810-820 (2008).
- 31) 小林圭子, 牛飼美晴, 佐伯武頼, 他: 特異な食嗜好を端緒として分子遺伝学的手法により診断に至ったシトルリン欠損症. [第35回鹿児島県栄養代謝研究会, 2006. 10. 2]
- 32) 乾あやの, 十河剛, 小松陽樹, 他: 小児期発症のSLC25A13遺伝子異常の臨床病理学的検討. *肝臓* 47:A435 (2006) [第10回日本肝臓学会大会, 2006. 10. 11-12]
- 33) 小林圭子, 佐伯武頼: シトルリン欠損症: 責任遺伝子発見と疾患概念について. *小児科* 49:203-211 (2008)
- 34) Ikeda S, Kawa S, Takei Y, et al: Chronic pancreatitis associated with adult-onset type II citrullinemia: clinical and pathological findings. *Ann Intern Med* 141:W109-110 (2004)
- 35) 大竹明: 死亡後に診断された症例をもとに家族へのカウンセリングを行った2家系: シトルリン欠損症と先天性筋緊張性ジストロフィー症. *日本先天代謝異常学会雑誌* 25:58 (2009) [第51回日本先天代謝異常学会, 2009.11.5-7]
- 36) 池田さやか, 小林圭子, 鮫島幸二, 他: 感染性胃腸炎の一般的な食事療法により状態の悪化を招いたシトルリン欠損症の1例. [第39回鹿児島県栄養代謝研究会, 2008. 2. 29]

第112回日本小児科学会学術集会
教育講演

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

仙台市立病院小児科
大 浦 敏 博

キーワード：シトルリン, SLC25A13, アスパラギン酸・グルタミン酸輸送体 (AGC),
シトルリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞症 (NICCD),
成人発症 II 型シトルリン血症 (CTLN2)

はじめに

乳児期早期に発症する古典型シトルリン血症 (citrullinemia type I : CTLN1) は 1962 年 McMurray らによりはじめて報告された¹⁾。しかしわが国ではこれとは別に成人の肝脳疾患患者において高シトルリン血症を合併する症例が報告されており、成人発症 II 型シトルリン血症 (adult-onset type II citrullinemia : CTLN2) と呼ばれていた。本稿では CTLN2 の原因遺伝子 SLC25A13 及びその遺伝子産物シトルリン (citrin) の発見とシトルリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞症 (neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency : NICCD) の疾患概念の確立までの経緯を述べた後、NICCD の臨床像を概説し、さらにその治療法および CTLN2 の発症予防法について最近の知見を述べる。

CTLN2 の原因遺伝子の解明

1968 年宮腰らは慢性反復性肝脳疾患患者において高シトルリン血症を合併する症例があることを初めて報告した²⁾。その後同様の症例が報告されたが、多くは 20～50 歳代の成人期に突然の行動異常、見当識障害、精神不穏などの意識障害で発症し、検査上は高シトルリン血症、高アンモニア血症が特徴で、数年の経過で死亡していた。また、殆どの症例で豆類を異常に好み、米飯、甘い物を好まないという偏食が見られた。佐伯らは患者肝アルギニノコハク酸合成酵素 (Argininosuccinic acid synthetase : ASS) の動力学的性質を解析し、肝臓特異的に ASS 蛋白の低下があり量的異常を示す肝脳疾患を CTLN2 と命名し、全身の ASS 欠損により乳児期早期に発症する CTLN1 と区別した³⁾。

その後しばらくは CTLN2 の真の原因は不明であったが、1999 年 Kobayashi らにより原因遺伝子 SLC25A13 が発見され、その遺伝子産物はシトルリンと命名された⁴⁾。現在シトルリンはミトコンドリア内膜に局在するアスパラギン酸・グルタミン酸輸送体

(aspartate-glutamate carrier : AGC) であることが明らかにされている⁵⁾ (図 1)。AGC はミトコンドリアで生成するアスパラギン酸を細胞質に供給するとともに、リンゴ酸・アスパラギン酸シャトルを構成して細胞質の NADH 還元当量をミトコンドリアに輸送する機能を持っている。シトルリン (AGC) の機能喪失は尿素・蛋白合成、好気的解糖、糖新生、さらにはエネルギー代謝などに障害を与えるが、その結果シトルリン欠損者では多彩な症状を呈するものと推察されている⁶⁾。

NICCD の発見

1997 年筆者らは新生児マススクリーニング (NBS) 陽性を契機に受診した患児の中に特異なアミノ酸異常を伴う新生児肝炎例を 7 例報告した⁷⁾。その臨床的特徴は① NBS にてメチオニン、フェニルアラニンもしくはガラクトース陽性、②高度の胆汁うっ滞、肝障害、③複数のアミノ酸 (シトルリン、メチオニン、スレオニンなど) やガラクトースの一過性の上昇、④脂肪肝であった。いずれの症例も乳糖除去粉乳や中鎖脂肪酸 (MCT) フォーミュラ、脂溶性ビタミンが投与され、肝機能は 1 歳までに改善、発育発達は正常であった。当時は新たな疾患群と考え報告したが、その原因は不明のままであった。

CTLN2 は通常小児期には無症状であると考えられていたが、前述の 7 例においてもシトルリン値の一過性上昇があることに着目し、検体の採取可能であった 3 症例において Kobayashi らの単離した SLC25A13 遺伝子の解析を行った。その結果 3 例全例に CTLN2 と同じ遺伝子変異が同定され、これらの症例の胆汁うっ滞の原因がシトルリン欠損によることが明らかにされた⁸⁾。一方 Tazawa らは脂肪肝を伴う新生児肝内胆汁うっ滞症例において SLC25A13 異常を見出し⁹⁾、Tomomasa らも CTLN2 を発症した男児が新生児肝炎の既往があることによりシトルリン欠損が新生児期に胆汁うっ滞症を発症することを報告した¹⁰⁾。これらの症例は CTLN2 とは異なり、主に肝内胆汁うっ滞症を呈す

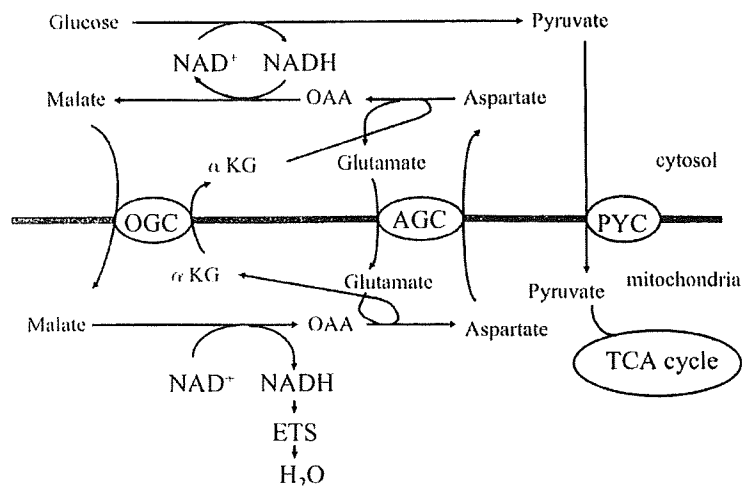


図1 アスパラギン酸・グルタミン酸輸送体 (AGC) とリンゴ酸・アスパラギン酸シャトル AGC はリンゴ酸・アスパラギン酸シャトルを構成しているだけでなく、ミトコンドリアから細胞質へのアスパラギン酸の供給を担っている。

AGC, aspartate-glutamate carrier (Citrin)

OGC, oxoglutarate carrier

PYC, pyruvate carrier

ETS, electron transport system

OAA, oxaloacetate

αKG, α-ketoglutarate

TCA, tricarboxylic acid cycle

ることより新生児期、乳児期におけるシトリン欠損の新しい病態 NICCD と命名された。すなわち、シトリン欠損症には年齢依存性の二つの臨床病型が存在することが明らかになった¹¹⁾(図2)。

NICCD の臨床像

NICCD の臨床像に関してはすでに報告したので詳細は省くが、その要点を述べると、① NBS 陽性を契機に受診したのは全体の 40% であり、その多くはガラクトースもしくはメチオニン高値であった；②残りの症例の大部分は黄疸、淡黄色便を主訴に新生児肝炎、胆道閉鎖が疑われ生後 1~4 か月の間に受診していた；③検査結果では高胆汁酸血症、凝固能低下、低蛋白血症、複数のアミノ酸やガラクトースの一過性上昇が特徴的であった；④ MCT フォーミュラ、乳糖除去粉乳、脂溶性ビタミン等が使用され、ほとんどの症例は 1 歳までに肝機能は回復していたが、75 例中肝不全に進行し 1 歳前に生体肝移植が行われた症例が 2 例、16 歳で CTLN2 を発症した症例が 1 例存在した。NICCD 患児は症状緩解後も将来 CTLN2 を発症する危険性があり、長期の経過観察が必要であることが明らかにされた¹²⁾¹³⁾。

NICCD 患児の栄養評価及び治療への応用の可能性

CTLN2 患者では豆類などの高蛋白質食を好み、糖

質を嫌うことが報告されているが、今回 NICCD と診断された適応・代償期の 18 症例について食事調査を行い、その食嗜好について検討が行われた¹⁴⁾。症例は調査時年齢 1~33 歳で性別は男女 9 例ずつである。全例遺伝子診断にて *SLC25A13* 遺伝子の変異が確認されている。方法は母親もしくは本人に一週間分の食事内容を食品ごとにグラム単位で記入をお願いし、その調査表をもとに管理栄養士が各栄養素の摂取量を計算した。

典型例の結果を図 3 に示す。症例は 1 歳女児、炭水化物摂取カロリー比は 33% と対照の 59% に比べ低下し、脂肪摂取カロリー比は 47% と増加していた。この様に特異な食行動は離乳食開始後 1 歳から認められることが明らかとなった。18 名の結果の平均値でも、炭水化物の摂取カロリー比は 37% と低く、脂肪摂取カロリー比は 44% と増加しており、患者では小児期より低炭水化物食を好むことが明らかとなった。すなわち、多くの NICCD 患児は 1 歳までに肝機能は正常化し、見かけ上無症状となるが、離乳食が開始されると甘いジュースや米飯を嫌い、豆類や卵、乳製品、揚げ物など低炭水化物、高蛋白質、高脂肪食品を好むという特徴的な食嗜好が現れる。この特異な食行動はシトリン欠損による代謝不全を代償する、合目的行動であると考えられる。

シトリン欠損患者ではリンゴ酸・アスパラギン酸シャトルが機能しないため細胞質内で産生された

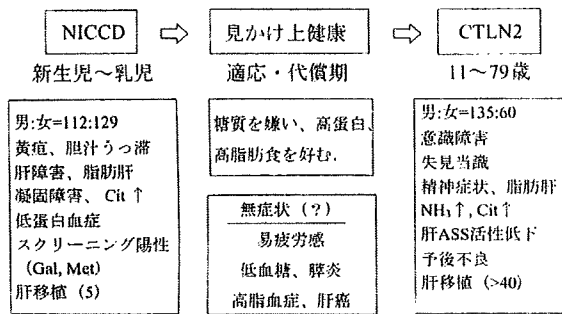


図2 年齢依存性の二つの臨床病型

NICCD, Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency.

CTLN2, Adult-onset type II citrullinemia.

Cit, citrulline; Gal, galactose; Met, methionine

NADHがNAD⁺に酸化されず、細胞質に過剰に蓄積する。また、尿素回路反応に必要なアスパラギン酸は細胞質内のオキサロ酢酸由来で合成されると想定される。この反応が進むためにも細胞質のNADHは酸化状態(NAD⁺)である必要がある(図4)。炭水化物を摂取することで細胞質内のNADHは増加し、さらに代謝不全を悪化させるため、本症患者では炭水化物を嫌うものと考えられる。炭水化物からのエネルギーが得られにくい場合、蛋白質を多く摂取することで、アミノ酸由来のケト酸をエネルギー源とし、さらに細胞質のアスパラギン酸を増やすと同時にNADHの再酸化を促進させ、代償期を維持しているものと推察される。以上より細胞質NADHを増加させない食品や、NADHを酸化するような薬剤は治療及びCTLN2発症予防に効果があると期待される(図4)¹⁵⁾。

低炭水化物食による治療の試み

佐伯らはシトリン欠損モデルマウスを用いて、蔗糖水を単独で強制投与するとアンモニアが上昇し、カゼイン水解物のトリプトンを併用するとアンモニア上昇が抑えられることを報告した¹⁶⁾¹⁷⁾。Dimmock, ImamuraらはそれぞれNICCD, CTLN2患者に低炭水化物食を与えることで臨床的に効果があつた症例を報告し¹⁸⁾¹⁹⁾、低炭水化物食による治療効果に期待が高まっている。筆者らは68歳で発症したCTLN2患者に対し、低炭水化物食による治療を行う機会を得たので紹介する。

症例: 68歳男性

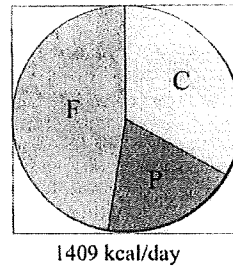
主訴: 夜中の昏迷発作

家族歴: 両親はいとこ婚

生活歴: 農業。アルコールは飲めない。豆類を好み甘いものを好まない食癖あり。

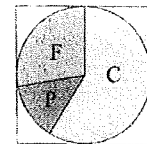
現病歴: 就寝中に突然おきだし、全裸になり失禁することが週2回程度見られるようになった。その翌日

シトリン欠損女児(1歳)



P : F : C = 19 : 47 : 33

日本人1～2歳の平均値



P : F : C = 14 : 28 : 59

図3 シトリン欠損症1歳女児の摂取カロリー比
生後1か月児にガラクトース、メチオニン高値を指摘され入院。肝障害、胆汁うっ滞、凝固能異常、シトリン血症を認めたが脂溶性ビタミン、乳糖除去粉乳にて6か月時には検査値は改善した。その後の遺伝子検査でシトリン欠損と診断された。調査時の体重は8kg、身長は72cmでBMIは15であった。
P, 蛋白質, F, 脂質, C, 炭水化物

は倦怠感強く農作業は半分程度しか出来ず、認知症が疑われ某大学病院紹介入院となる。家人の話では昏迷発作数日前に黒飴を購入し、1袋(約150g)食べたということであった。

検査上アンモニアが127μg/dlと上昇しており、アミノ酸分析施行したところ高シトルリン血症(6mg/dl)が判明し、遺伝子検査にてCTLN2と診断された。

治療経過: 入院時は普通食が出されておりエネルギー比率は蛋白質14～16%、脂質20～25%、炭水化物60～65%であった。しかし、食欲不振のため経管栄養が併用されており、周期的昏迷状態も続いていた。CTLN2の診断後蛋白質19%、脂質46%、炭水化物35%の低炭水化物食に変更し、ビルビン酸ナトリウムも併用したところ食欲は回復し、体重も増加、昏迷発作も消失した。図5に示すように検査データも改善した。

考察: 低炭水化物食の治療効果を期待して、CTLN2を発症した68歳の症例に対し低炭水化物食事療法を行った。その結果検査データは改善し、昏迷発作も消失、食欲増進、体重の増加がみられるなど低炭水化物食は有効であった。興味深いことに患者は昏迷発作直前に大量の糖質(黒飴)を摂取しており、これがCTLN2発症の引き金になった可能性がある。今までにも飲酒により発症した報告もあり、糖質の過剰摂取はシトリン欠損症にとって禁忌であると考えられた。

シトリン欠損症の治療法の開発に向けて

2001年にNICCDが初めて報告されて以来、200名以上の小児患児が遺伝子診断されている。それ故、NICCDと診断された患児にとってCTLN2の発症予防法・治療法の確立が急務となっている。CTLN2の

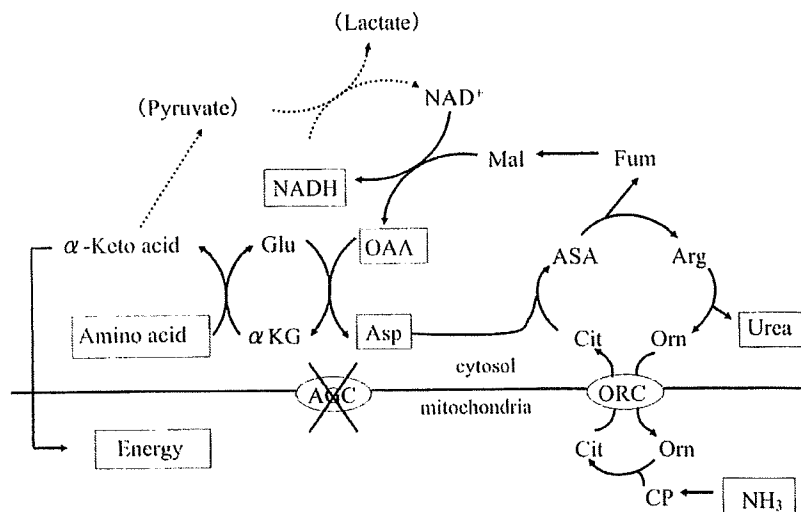


図4 シトリン欠損症におけるアミノ酸からのエネルギー供給と尿素合成
シトリン欠損患者ではAGCが機能しないため、アミノ酸からアスパラギン酸、オキサロ酢酸を供給しエネルギーを確保するとともに、アンモニアからの尿素合成を行っている想定される。その結果、細胞質にNADHが蓄積するが、ピルビン酸などの投与によりNADHの再酸化が行われれば（破線）、治療に結びつく可能性がある¹⁵⁾。

AGC, aspartate-glutamate carrier (citrin) ; ORC, ornithine carrier ; Fum, fumarate ; Mal, malate ; OAA, oxaloacetate ; Glu, glutamate ; Asp, aspartate ; α KG, α -ketoglutarate ; ASA, argininosuccinate ; Arg, arginine ; Orn, ornithine ; Cit, citrulline ; CP, carbamyl phosphate

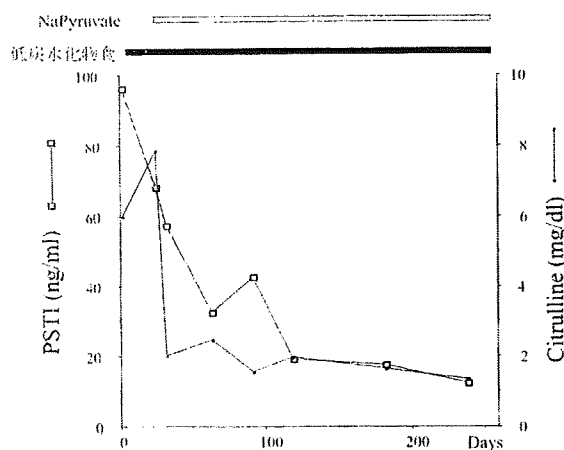


図5 CTLN2患者に対する食事療法
低炭水化物食、ピルビン酸ナトリウム投与開始後
PSTI, Citrullineの値は低下した。
PSTI, Pancreatic secretory trypsin inhibitor

予後は不良で発症後数年以内に死亡することが多いとされていた。従来のCTLN2の治療としては高アンモニア血症に対して低蛋白質食事療法、高カロリー輸液、脳症に対する濃グリセリン・果糖液（グリセオール注[®]など）が行われてきたが、シトリンの機能が明らかになった現在不適切な治療法であると言える。特に高カ

ロリー輸液や濃グリセリン・果糖液は細胞質内のNADHを増加させ、急性代謝不全を起こしうるので禁忌である²⁰⁾。従来の誤った治療法を避け、低炭水化物食事療法を導入することでCTLN2の予後は改善すると思われる。

離乳食開始以降、患児では炭水化物を好まず、高蛋白質、高脂肪食を好んで食べる特異な食癖が現れる。前述したようにこの特異な食癖は合目的行動であり、通常の食事を食べさせようとしてはいけない。特に学校給食に際しては教師に無理に食べさせることが無い様に説明しておく必要がある。ジュース、飴など糖質のみの食品を患児は好まず、殆ど口にしないが、生クリームやチョコレートなどの甘みは食べることが多い。これらの食物は糖質だけでなく蛋白、脂肪が多く含まれているためであろう。また、患児ではケトン性低血糖を生じる場合があるが、末梢点滴によるブドウ糖液は低濃度であり問題ないと考えられている。

新生児期～乳児期早期における食事療法の効果はまだ確かめられていない。75例の調査では乳糖除去粉乳は28例で、MCT-フォーミュラは26例で使用されていたが、特殊ミルク不使用例も18例存在していた¹²⁾。母乳のエネルギー比率は蛋白質：脂質：炭水化物＝7：49：44で一般の食事と比べると低炭水化物、高脂質であることが分かる²¹⁾。一般調整粉乳も同様である。

NICCD ではしばしば高ガラクトース血症を伴うため乳糖除去粉乳が用いられるが、炭水化物のエネルギー比率は51%と高めになっている。乳糖除去粉乳100 ml に対し MCT オイル (マクトンオイル®など) を2.0 ml 添加するとエネルギー比率は脂質50%、炭水化物40%となり、摂取カロリーも上昇するので、胆汁うっ滞が強く肝障害が遷延する例や、体重増加不良を認める場合は特に有用であると思われる²⁹⁾。特殊ミルク事務局 (<http://www.boshiaiikukai.jp/milk.html>) から提供される蛋白加水分解 MCT 乳 (ML-3) も乳糖除去かつ MCT 含有なので NICCD の治療に適している。

ビルビン酸は細胞質で乳酸脱水素酵素により乳酸に変換し、NAD⁺が産生することで、治療薬としての効果が期待されている (図4)。Moriyama らはシトリン欠損モデルマウスの肝血流実験を行い、ビルビン酸投与下で尿素合成能が増加することを示した²⁹⁾。また、Mutoh らは CTLN2 未発症の13歳の女兒にビルビン酸ナトリウムとアルギニンを投与したところ、倦怠感、食欲不振の改善、体重増加、検査データの正常化が見られた報告している²⁹⁾。今後症例を積み重ね、ビルビン酸の治療効果を検討する必要がある。

謝辞 第112回日本小児科学会学術集会にて本教育講演の機会を与えて頂きました学会会長の奈良県立医科大学長 吉岡 章先生に感謝申し上げます。本研究は小林圭子先生 (鹿児島大学分子病態生化学)、佐伯武頼先生 (徳島文理大学健康科学研究所) との共同研究であります。また CTLN2 症例を御紹介頂いた東北大学消化器内科の福島耕治先生、上野義之先生に深謝申し上げます。

文 献

- McMurray WC, Mohyuddin F, Rossiter RJ, et al. Citrullinuria: a new aminoaciduria associated with mental retardation. *Lancet* 1962; 279: 138.
- 宮腰 孝, 高橋剛夫, 加藤征夫, 他. 猪瀬型肝脳疾患とシトリン代謝異常. *神経化学* 1968; 7: 88—91.
- Saheki T, Kobayashi K, Inoue I. Hereditary disorders of the urea cycle in man: biochemical and molecular approaches. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1987; 108: 21—68.
- Kobayashi K, Sinasac DS, Iijima M, et al. The gene mutated in adult-onset type II citrullinemia encodes a putative mitochondrial carrier protein. *Nat Genet* 1999; 22: 159—163.
- Palmieri L, Pardo B, Lasorsa FM, et al. Citrin and aralar1 are Ca²⁺-stimulated aspartate/glutamate transporters in mitochondria. *EMBO J* 2001; 20: 5060—5069.
- 小林圭子, 飯島幹雄, 牛飼美晴, 他. シトリン欠損症. *日誌* 2006; 110: 1047—1059.
- 大浦敏博, 蛇川大樹, 相川純一郎, 他. 新生児マスクリーニングを契機に発見され、特異なアミノ酸異常を伴った新生児肝炎7例の検討. *日誌* 1997; 101: 1522—1525.
- Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, et al. Neonatal presentation of adult-onset type II citrullinemia. *Hum Genet* 2001; 108: 87—90.
- Tazawa Y, Kobayashi K, Ohura T, et al. Infantile cholestatic jaundice associated with adult-onset type II citrullinemia. *J Pediatr* 2001; 138: 735—740.
- Tomomasa T, Kobayashi K, Kaneko H, et al. Possible clinical and histologic manifestations of adult-onset type II citrullinemia in early infancy. *J Pediatr* 2001; 138: 741—743.
- Saheki T, Kobayashi K. Mitochondrial aspartate glutamate carrier (citrin) deficiency as the cause of adult-onset type II citrullinemia (CTLN2) and idiopathic neonatal hepatitis (NICCD). *J Hum Genet* 2002; 47: 333—341.
- Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, et al. Clinical pictures of 75 patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD). *J Inherit Metab Dis* 2007; 30: 139—144.
- 大浦敏博. シトリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞症 (NICCD)—臨床像の検討. *日誌* 2006; 110: 1060—1065.
- Saheki T, Kobayashi K, Terashi M, et al. Reduced carbohydrate intake in citrin-deficient subjects. *J Inherit Metab Dis* 2008; 31: 386—394.
- 小林圭子, 佐伯武頼. シトリン欠損症の分子病態生化学. *生化学* 2004; 76: 1543—1559.
- Saheki T, Iijima M, Li MX, et al. Citrin mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase double knock-out mice recapitulate features of human citrin deficiency. *J Biol Chem* 2007; 282: 25041—25052.
- 佐伯武頼, 小林圭子, 飯島幹夫. Citrin/mGDPH ダブル KO マウスを用いるシトリン欠損症の治療法の開発. *日本先天代謝異常学会雑誌* 2008; 24: 73.
- Dimmock D, Kobayashi K, Iijima M, et al. Citrin deficiency: a novel cause of failure to thrive that responds to a high-protein, low-carbohydrate diet. *Pediatrics* 2007; 119: e773—e777.
- Imamura Y, Kobayashi K, Shibata T, et al. 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* 2003; 26: 68—72.
- Yazaki M, Takei Y, Kobayashi K, et al. Risk of worsened encephalopathy after intravenous glycerol therapy in patients with adult-onset type II citrullinemia (CTLN2). *Intern Med* 2005; 44: 188—195.
- 調製粉乳及び母乳の標準組成表. 特殊ミルク情報 2008; 44: 129.
- 野口篤子, 高橋郁子, 田村啓成, 他. 一過性の耐糖能異常を呈した NICCD の一例. 第8回東北代謝異常症治療研究会プログラム・抄録集. 2009; 3.
- Moriyama M, Li MX, Kobayashi K, et al. Pyruvate ameliorates the defect in ureogenesis from ammonia in citrin-deficient mice. *J Hepatol* 2006; 44: 930—938.
- Mutoh K, Kurokawa K, Kobayashi K, et al. Treatment of a citrin-deficient patient at the early stage of adult-onset type II citrullinemia with arginine and sodium pyruvate. *J Inherit Metab Dis* 2008 Oct 29. [Epub ahead of print].

症例報告

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

舟邊 さやか¹⁾ 田中 亮太^{1)*} ト部 貴夫¹⁾
川崎 誠二²⁾ 小林 圭子³⁾ 服部 信孝¹⁾

要旨：症例は 47 歳女性。41 歳ごろより異常行動と意識障害をくりかえし、脳波異常と高アンモニア血症を指摘されていた。高アンモニア血症に加えて、血漿シトルリン、アルギニンの上昇をみとめたため、成人発症 II 型シトルリン血症 (CTLN2) をうたがい遺伝子検査をおこない、CTLN2 と診断した。異常行動と意識障害は血漿アンモニア値とは必ずしも相関せず、脳波上てんかん重積状態を示すことが多く、非けいれん性てんかん重積状態の関与が考えられた。CTLN2 の異常行動や意識障害の原因として高アンモニア血症以外にてんかん重積が関与している可能性があり、適切な脳波検査が治療上重要と考えられた。

(臨床神経, 49 : 571—575, 2009)

Key words：成人発症 II 型シトルリン血症, 非けいれん性てんかん重積状態, 意識障害

はじめに

成人発症 II 型シトルリン血症は、くりかえす異常行動や意識障害を特徴とする常染色体劣性の遺伝性の代謝疾患である。意識障害の機序として代謝異常にともなう高アンモニア血症が原因と考えられている。今回、くりかえす意識障害の原因として、高アンモニア血症のみならず非けいれん性てんかん重積 (NCSE) が病態に寄与したと考えられた症例を経験したので報告する。

症 例

症例：47 歳 女性。

既往歴・家族歴：共に特記事項なし。血族結婚はない。

嗜好：糖類を嫌い、豆類、乳製品を好む偏食傾向。

現病歴：2000 年 (41 歳) ごろより、ボーっとして話しかけても返答がなく、テレビの前でボタンを押し続けるなどの数時間から一昼夜にかけての異常行動の発作が出現するようになった。他院精神科において心身症の診断にて外来経過観察されていたが、徐々に発作回数が増加したため A 病院を受診した。その際脳波の異常と高アンモニア血症を指摘されていた。2006 年 10 月 9 日より異常行動と反応に乏しい状態が出現、翌日になっても症状の改善がみられず、当科を受診し 10

月 11 日緊急入院となった。

入院時現症：身長 159.6cm、体重 41kg、BMI16.2 と痩せ型である。意識レベルは単純な要求に対する反応あるものの、外界からの刺激に対し反応の乏しい昏迷状態で、何を質問しても「はい」「大丈夫」などの発語のみの状態であった。その後意識レベルが改善した際には、特記すべき神経学的異常はみとめられなかった。

入院時検査成績：血液生化学検査では血算は正常範囲内であり、電解質、肝機能、腎機能にも異常はみとめられなかった。入院時当日の採血では血漿アンモニア濃度は正常値であったが、入院後は上昇と正常化をくりかえし、最大 461 μ g/dl まで上昇がみられている。心電図、腹部造影 CT、頭部 CT、MRI すべてにおいて、異常所見はみられなかった。血漿アミノ酸分析はシトルリン 361.4nmol/ml (基準 17.1~42.6)、アルギニン 218.7nmol/l (基準 53.6~133.6) と異常高値を呈し、また Fisher 比は 2.13 (基準 2.43~4.40) と低下し、PSTI (pancreatic secretory trypsin inhibitor) は 26ng/ml (基準値 4.6~12.2) と上昇していた。

入院後経過：本症例では、くりかえす意識障害・異常行動の発作をみとめ、検査所見にて血漿アンモニア濃度の上昇と、アミノ酸分析で血漿シトルリンとアルギニン濃度の高値、血清 PSTI の上昇がみとめられたことなどから成人発症 II 型シトルリン血症 (CTLN2) をうたがい、遺伝子診断をおこなった。その結果、本症例は SLC25A13 遺伝子の IVS11+1G>A

*Corresponding author: 順天堂大学脳神経内科 (〒113-8421 東京都文京区本郷 2-1-1)

¹⁾順天堂大学医学部脳神経内科

²⁾同 肝胆腸外科

³⁾鹿児島大学大学院医歯学総合研究科分子病態生化学

(受付日：2008 年 11 月 25 日)