

201024144A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の
診断方法の確立、及び治療方法の開発に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大竹 明

平成23（2011）年 3月

目 次

I. 総括研究報告		
日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の診断方法の確立、 及び治療方法の開発に関する研究		
研究代表者 大竹 明 (埼玉医科大学医学部小児科)	-----	1
(資料) 長鎖脂肪酸代謝異常症のアンケート調査結果		
II. 分担研究報告		
1. 新生児ミトコンドリア疾患 長鎖脂肪酸脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症について		
遠藤文夫 (熊本大学医学薬学研究部 小児科学)	-----	13
2. 長鎖脂肪酸代謝異常症の遺伝学的検査実施時の倫理的配慮について		
奥山虎之 (国立成育医療センター 臨床検査部)	-----	16
3. 日本人症例カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ II 酵素欠損症		
17家系 20症例の臨床像について		
高柳正樹 (千葉こども病院 副院長)	-----	18
4. タンデムマス法によって発見された長鎖脂肪酸代謝異常症例の検討		
長谷川有紀 (島根大学医学部 小児科)	-----	21
5. VLCAD 欠損症と CPT-2 欠損症の確定診断：実績と課題		
但馬 剛 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学)	-----	25
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	31
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	37

〔I〕 総括研究報告

日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の診断方法の確立、
及び治療方法の開発に関する研究
総括研究報告

研究代表者 大竹 明 埼玉医科大学医学部 小児科 教授

研究要旨

遠藤は日齢 2 に心室細動で発症した極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素（VLCAD）欠損症最重症型新生児例を迅速に確定診断し救命に成功し、タンデムマススクリーニングの限界を示した。奥山は 2011 年 2 月に日本医学会から発表された遺伝学的検査・診断に関するガイドライン（医学会ガイドライン）をもとに、長鎖脂肪酸代謝異常症の遺伝学的検査のあり方を検討した。高柳はカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ II 酵素欠損症（CPTII）について、その臨床像を検討することにより日本における CPTII 欠損症の実態を検討した。長谷川は島根大学小児科で診断した 11 症例と既報告症例 20 例の合計 31 例の VLCAD 欠損症例を検討し、我が国における同欠損症の特徴を検討した。但馬は VLCAD および CPT II 欠損症の酵素診断・遺伝子診断を用いた確定診断法を引き続き検討した。大竹はアンケート調査により日本では CPT II 欠損症と VLCAD 欠損症で長鎖脂肪酸代謝異常症の 2/3 以上を占めることを明らかにすると共に、マス・スクリーニング発見症例の予後が圧倒的に良いことを示し、タンデムマススクリーニングの重要性を示した。以上より長鎖脂肪酸代謝異常症は早期発見こそが最重要で、そのためのタンデムマスを用いた新生児マス・スクリーニングの重要性が明らかとなった。

研究分担者

遠藤文夫

（熊本大学医学薬学研究部 小児科学）

奥山虎之

（国立成育医療センター 臨床検査部）

高柳正樹

（千葉こども病院 副院長）

長谷川有紀

（島根大学医学部 小児科）

但馬 剛

（広島大学大学院医歯薬学総合研究科
小児科学）

突然死症候群、ライ症候群、インフルエンザ脳症などに紛れて診断のできないまま亡くなる例も多かった。タンデムマス法を中心とする診断法の進歩と相俟って最近診断症例数が急増しているが、全体像の把握は未だ完全と言うにはほど遠い。そこで本研究においては長鎖脂肪酸代謝異常症の（1）患者数と病状の現状把握、（2）新規の診断基準の作成、（3）病態に合わせた治療指針の作成、（4）医療現場へのフィードバックに基づく今後の長期フォローアップ・支援体制の確立を目的とする。本疾患の管理は、例外はあるものの、基本的には難しくない。今後、タンデムマス法を利用した新生児マス・スクリーニングの進展に伴い新規患者

A. 研究目的

長鎖脂肪酸代謝異常症は、従来から乳児

の大幅な増加が見込まれる今こそ、大規模なコホートスタディに基づく正確な病像の把握と、それに準拠した新規の診断・フォローアップ指針の作成、およびその結果を医療機関にフィードバックすることにより長期フォローアップ・支援体制の確立を行うことが急務と考える。

B. 研究方法

以下の3つの集団を対象として、インフォームドコンセントを得た後に検体を採取し、タンデムマス法を用いて候補症例をピックアップする。3つの集団とは、1)タンデムマス法を用いたマス・スクリーニングで疑われた症例、2)乳児突然死症候群やライ症候群、インフルエンザ脳症などとして急性発症した症例、3)幼児期以降に筋肉痛、脱力、肝機能障害のエピソードなど骨格筋症状で発症した症例である。

研究の進め方としては以下の手順で行う。上記の研究を進めるとともに文献調査、アンケート調査を実施し、我が国における長鎖脂肪酸代謝異常症の発生状況を調査する。これらの研究から患者数と病状の現状把握を行う。長鎖脂肪酸代謝異常症の上記疫学調査をもとに本疾患のスクリーニングから確定診断に至る診断支援体制を構築する。それを基に長鎖脂肪酸代謝異常症の各病状に応じた治療指針の作成を試みる。これらを基に、スクリーニング→確定診断→病状・病型に応じたきめ細かな治療とフォローアップに至る、全国的なシステム作りを試みる。

長期フォローアップ体制を整えるとともに年長児～成人における症例の観察を進め、長期の治療あるいは支援体制の試案を作成

する。

（倫理面への配慮）

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

C. 研究結果

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

奥山は遺伝関連10学会による遺伝学的検査ガイドライン（10学会ガイドライン）と2011年2月に日本医学会から発表された遺伝学的検査・診断に関するガイドライン（医学会ガイドライン）のそれぞれ該当する部分を抽出し、その変化を明らかにした。さらに、その変化が、長鎖脂肪酸代謝異常症の遺伝学的検査施行時に与える影響について検討し、医学会ガイドラインに基づく遺伝学的検査が、長鎖脂肪酸代謝異常症の確定診断および出生前診断に有用であることを報告した。

高柳はカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼII酵素欠損症（CPTII）について、その臨床像を検討することにより日本におけるCPTII欠損症の実態を検討した。その結果早

期に診断のついた症例の予後は良好であり、CPTII 欠損症を新生児マス・スクリーニングにて発見することは意義がある。

長谷川は島根大学小児科で診断した 11 症例と既報告症例 20 例の合計 31 例の VLCAD 欠損症例を検討した。その結果、新生児型の予後は不良であったが、中間型や骨格筋型は発症時早期の十分な糖の補充やカルニチン内服、および飢餓時間を作らないようにするなどの治療によって、知的・生命予後は良好であることを示し、新生児期のタンデムマススクリーニングにより、発症前に VLCAD 欠損症を診断することは、発症・障害予防につながることを強く示唆した。

但馬は VLCAD および CPT II 欠損症の酵素診断・遺伝子診断を用いた確定診断法を引き続き検討し、脂肪酸代謝異常症を NBS に組み入れて早期診断することの重要性と確定診断に至る課題を述べている。

大竹はアンケート調査により日本では CPT II 欠損症と VLCAD 欠損症で長鎖脂肪酸代謝異常症の 2/3 以上を占めることを明らかにすると共に、マス・スクリーニング発見症例の予後が圧倒的に良いことを示し、タンデムマススクリーニングの重要性を示した。

アンケート結果（一次→二次）

疾患名	略語	例数		
		疑い例	確定例	合計
カルニチン転送障害	CRT	1→2	8→2	9→4
脂肪酸転送障害	FA-Trans	1→0	0	1→0
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症	CPTI	0→1	5→4	5→5
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼII欠損症	CPTII	7→3	20→3	27→6
カルニチン/アシルカルニチントランスロカーゼ欠損症	Trans	0→0	3→1	3→1
極長鎖アシル-CoA脱水素酵素欠損症	VLCAD	4→4	19→13	23→17
長鎖アシル-CoA脱水素酵素欠損症	LCAD	0→0	1→0	1→0
三頭酵素欠損症	TFP	1→2	3→1	4→3
合計		14→12	59→24	73→36

図 1. アンケート調査結果

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

(1) 合計 416 家系 426 例から 625 検体（皮膚線維芽細胞 246 検体、肝臓 160 検体、筋肉 146 検体、心臓 47 検体など）のご提供を頂いた。BN-PAGE を用いたイムノプロットと活性染色、および *in vitro* 酵素アッセイを用いた蛋白レベルの解析が終了し 153 家系 158 名を呼吸鎖異常症と診断した（診断率 158/426=37.0%）。その内訳は、単独酵素異常症 96 例（特に呼吸鎖 I 異常症が 66 例）、複合型酵素異常症 62 例等である。酵素診断と臨床診断の関係を図 2 に示すが、臨床症状が非常に多岐にわたっている事が分かる。

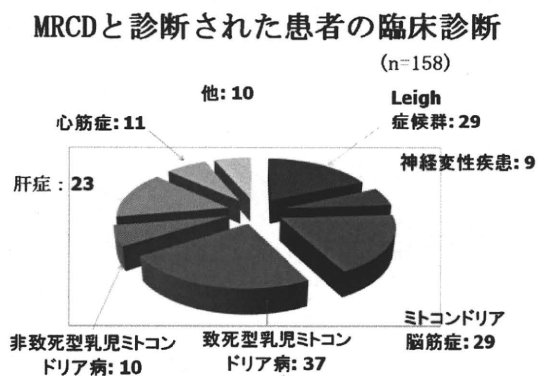


図 2. 酵素診断された患者の臨床診断。

(2) 複合型酵素異常症を中心に mtDNA 枯渴症候群 (MDS) を 15 家系 17 症例に認め、うち肝型 MDS 中 4 家系 6 症例で遺伝子異常を発見できた。内訳は MPV17 (451insC/S170F) 2 例（兄弟例）、POLG (I1185T/A957V)+SUCLG1 (P173A/-) 1 例、DGUOK c.143-308_169del335 homo 2 例

(姉妹例), *DGUOK* (L248P/c.143-308_169del335) 1例である。特に *DGUOK* c.143-308_169del335 変異は日本人のコモン変異の可能性がある。

(3) ミトコンドリア遺伝子異常としても既知、未知含めて 22 症例に変異を発見した。結論: BN-PAGE はミトコンドリア呼吸鎖異常症をはじめとする高乳酸血症の鑑別・スクリーニングに大変有用であると思われ、解析の結果日本人にも mtDNA 枯渇症候群と呼吸鎖 I 単独酵素異常症の頻度が高いことが確認された。

D. 考察

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

E. 結論

以上よりタンデムマスを用いた NBS の必要性は明らかである。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Ohtake A, Aoki Y, Saito Y, Niihori T, Shibuya A, Kure S, Matsubara Y: Non-Hodgkin lymphoma in a patient with cardio-facio-cutaneous syndrome. *J Pediatr Hematol Oncol* in press, 2011, Epub 2010 Jun 2.
- ② Komaki H, Nishigaki Y, Fuku N, Hosoya H, Murayama K, Ohtake A, Goto YI, Wakamoto H, Koga Y, Tanaka M: Pyruvate therapy for Leigh syndrome due to cytochrome c oxidase deficiency. *Biochim Biophys Acta (General Subjects)* 1800(3): 313-315, 2010.
- ③ Sadakata R, Hatamochi A, Kodama K, Kaga A, Yamaguchi T, Soma T, Usui Y, Nagata M, Ohtake A, Hagiwara K, Kanazawa M: Ehlers-Danlos syndrome type IV, vascular type, which demonstrated a novel point mutation in the COL3A1 gene. *Intern Med* 49(16): 1797-1800, 2010.
- ④ Ohte S, Shin M, Sasanuma H, Yoneyama K, Akita M, Ikebuchi K, Jimi E, Maruki Y, Matsuoka M, Miyazono K, Nanba A, Tomoda H, Okazaki Y, Ohtake A, Oda H, Owan I, Yoda T, Furuya H, Kamizono J, Kitoh H, Nakashima Y, Susami T, Haga N, Komori T, Katagiri T: A novel mutation of ALK2, L196P, found in the most benign case of fibrodysplasia ossificans progressiva activates BMP-specific intracellular signaling equivalent to a typical mutation, R206H. *Biochem Biophys Res Commun* 407(1): 213-218, 2011.
- ⑤ Arakawa C, Endo A, Kohira R, Fujita Y, Fuchigami T, Mugishima H, Ohtake A, Murayama K, Mori M, Miyata R, Hatai Y: Liver-specific mitochondrial respiratory chain complex I deficiency in fatal influenza encephalopathy. *Brain Dev* 2011 Mar 25. [Epub ahead of print]
- ⑥ Sanayama Y, Nagasaka H, Takayanagi M, Ohura T, Sakamoto O, Ito T, Ishige-Wada M, Usui H, Yoshino M, Ohtake A, Yorifuji T, Tsukahara H,

Hirayama S, Miida T, Fukui M, Okano Y: Experimental evidence that phenylalanine is strongly associated to oxidative stress in adolescents and adults with phenylketonuria. *Mol Genet Metab*. 2011 Mar 29. [Epub ahead of print]

⑦Nakano Y, Murayama K, Tsuruoka T, Aizawa M, Nagasaka H, Horie H, Ohtake A, Saitou K: Fatal case of mitochondrial DNA depletion with severe asphyxia in a newborn. *Pediatr Int*. 53(2): 240-242, 2011.

⑧Nagasaka H, Tsukahara H, Takatani T, Sanayama Y, Takayanagi M, Ohura T, Sakamoto O, Ito T, Wada M, Yoshino M, Ohtake A, Yorifuji T, Hirayama S, Miida T, Fujimoto H, Mochizuki H, Hattori T, Okano Y: Cross-sectional study of bone metabolism with nutrition in adult classical phenylketonuric patients diagnosed by neonatal screening. *J Bone Miner Metab*, in press, 2011.

2. 学会発表

①Ohtake A, Murayama K, Yamazaki T, Honda M, Harashima H, Itoh A, Sanayama Y, Fujinami A, Tsuruoka T, Ajima M, Baba K, Takayanagi M, Compton A, Iwasa H, Okazaki Y, Mori M,

Ryan MT, Thorburn DR: Diagnoses and molecular bases of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. 3月7日～10日 Fukuoka Convention Center, (Fukuoka, Japan), 2010

②Ohtake A, Murayama K, Yamazaki T, Honda M, Harashima H, Itoh A, Fujinami A, Tsuruoka T, Ajima M, Baba K, Takayanagi M, Compton A, Yamamoto S, Iwasa H, Okazaki Y, Mori M, Ryan MT, Thorburn DR: Diagnoses and molecular bases of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan. SSIEM (Society for the Study Group of Inborn Errors of Metabolism) 2010 Annual Symposium. 8月31日-9月3日 Istanbul Lütfi Kırdar Convention & Exhibition Center (Istanbul, Turkey), 2010

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

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

資料1 二次アンケート調査用紙

平成 21 年度厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

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

研究代表者 大竹 明

各位 殿

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

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

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

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

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

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

2010 年 3 月 23 日

埼玉医科大学小児科 大竹 明

〒350-0495

埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38

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

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

長鎖脂肪酸代謝異常症に関する2次調査

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

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

①患者背景

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

基礎疾患の有る場合はそれについてのコメントをお願いします。

6) 家族歴

ライ様症候群 有 無

有の場合は姻戚関係：

新生児・乳児突然死 有 無

有の場合は姻戚関係：

繰り返す低血糖発作やけいれん性疾患 有 無

有の場合は姻戚関係：

筋疾患（筋緊張低下、筋力低下、労作時の筋痛、横紋筋融解症 等）

有 無

有の場合は姻戚関係：

心疾患（心肥大、心内膜線維弾性症 等） 有 無

有の場合は姻戚関係：

肝症状（肝腫大、肝機能障害 等） 有 無

有の場合は姻戚関係：

その他 有 無

有の場合はその詳細と姻戚関係：

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

マス・スクリーニング陽性

急性発症

↓

哺乳障害 筋緊張低下 呼吸障害 嘔吐

けいれん 低血糖 高アンモニア血症

家族歴異常

肝障害 心症状 筋力低下 労作時筋痛

横紋筋融解

慢性発症

↓

哺乳障害 筋緊張低下 呼吸障害 嘔吐

けいれん 低血糖 高アンモニア血症

家族歴異常

肝障害 心症状 筋力低下 労作時筋痛

横紋筋融解

③発症時の検査値（できる範囲で貴院での単位もご記入下さい）

AST ALT CK NH3

血糖

ガス分析 動脈 静脈

pH HCO₃⁻ BE

血中総ケトン体 3-OH 酪酸 アセト酢酸

血中遊離脂肪酸 _____

尿中ケトン体 _____

血中フリーカルニチン _____

アシルカルニチン _____

血中乳酸 _____

ピルビン酸 _____

血中アミノ酸分析（特徴的なもののみご記入下さい）

尿中有機酸分析（特徴的なもののみご記入下さい）

血中アシルカルニチン分析（タンデムマス：特徴的なもののみご記入下さい）

④確定診断方法

1) 酵素活性 実施 未実施

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

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

2) 遺伝子検査 実施 未実施

その詳細：

⑤治療：行った場合は下欄に具体的にお書き下さい

生活指導（空腹を避ける、早めの病院受診 等）

コーンスターチ

頻回食

食事中的脂肪摂取減量

MCT 摂取

L-カルニチン

その他

⑥合併症

ライ（様）症候群

乳児突然死あるいはそのニアミス

インフルエンザ脳症

精神発達遅滞（軽度 重度 程度不明）

けいれん（てんかん）

心臓（あれば具体的に _____）

肝臓（あれば具体的に _____）

筋肉（あれば具体的に _____）

腎臓（あれば具体的に _____）

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

⑦ 予後

生存： _____ 歳で、 intact survival 後遺症あり

死亡： _____ 歳で、死因は _____

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

研究代表者

埼玉医科大学小児科 大竹 明

共同研究者

熊本大学小児科 遠藤 文夫

国立成育医療センター・臨床検査部 奥山 虎之

千葉県こども病院・代謝科、小児救急総合診療科 高柳 正樹

島根大学小児科 長谷川 有紀

広島大学小児科 但馬 剛

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

〔II〕 分担研究報告

分担研究報告 1)

新生児ミトコンドリア疾患

長鎖脂肪酸脱水素酵素（VLCAD）欠損症について

分担研究者 遠藤文夫
熊本大学医学薬学研究部
小児科学分野

研究要旨

先天代謝異常症の中でも新生児に発症するものは最重症型であり、突然死症例として発見されることも稀ではない。脂肪酸 β 酸化異常症の1つである Very long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency (VLCAD 欠損症)の新生児に対し、迅速な救急対応にて救命、正常発達を認めたものの、突然死をきたした症例を経験した。タンデムマス検査は診断において有用であり、また他大学との連携により確定診断が可能であった。しかし VLCAD 欠損症における突然死を回避することはできなかった。

A. 研究目的

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

B. 研究方法
症例の検討

在胎 39 週 4 日、3566g 自然経腫分娩で出生した男児である。両親に血族結婚はなく、家系内に特に突然死、先天代謝異常、心疾患を認めない。日齢 1 に呻吟、多呼吸が出現したが、自然に軽快するため経過観察していた。日齢 2 に呼吸障害で肺炎を疑い、抗生剤投与後、小児救急拠点病院に往診依頼した。診察時は SPO_2 99%、HR : 108/分、RR : 80/分、活気なく capillary refill の程度遅延を認めた。低血糖 (42mg/dl)、高 K 血症 (7.05mmol/L)、血液ガス分析は pH 7.294、 pCO_2 29.4mmHg、 pO_2

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

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

C. 研究結果

リンパ球脂肪酸酸化能試験(表 3、福井大学)においても VLCAD 欠損が強く疑われた。酵素活性も低値(表 4)であり、遺伝子検査(図 2、広島大学)ではエクソン・イントロンジャンクションに変異をみとめ、スプライシング異常が疑われる。生後 2 歳までほぼ正常の発達がみられた。1 歳時に嘔吐下痢症でアシドーシス発作を起こしたが、早期の輸液療法により悪化せずに軽快した。2 歳時に RS ウイルス感染症に罹患し、咳と喘鳴を認めた。症状が軽度

であったため、外来治療となったが、翌朝、意識消失し突然死をきたした。死因は不整脈の可能性が考えられた。

VLCAD 欠損症はミトコンドリア脂肪酸β酸化において、長鎖脂肪酸が代謝されず、低血糖、筋力低下を主症状とする脂肪酸代謝異常症である。常染色体劣性遺伝で頻度は約 15 万人出生に 1 例と推測されている。重症例では新生児期から乳児期にかけて低血糖、高アンモニア血症、心筋、骨格筋障害を呈し、突然死をきたすことがある。また、新生児期に心室細動、呼吸停止で発症した例も報告されている。本例はまさに心室細動で発症した貴重な例と考えられる。診断にいたる過程ではタンデムマス分析が非常に有用であった。今回の事例は日齢2の発症であり、スクリーニングには該当しなかったが、ハイリスク児スクリーニング検査で迅速に異常が検出された。タンデムマスでは C14:1, C16, C16+C18/C2 が上昇しており、VLCAD 欠損症が最も考えられた。この時点で治療としては MCT ミルク、カルニチンの補充を行いながら次の診断ステップとしてリンパ球脂肪酸酸化試験を福井大学、重松先生にお願いした。結果を表3に示す。

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

以上のように原因不明の心室細動など心筋障害、心伝導系障害の場合にも、先天代謝異常を鑑別することは重要であり、タンデムマス分析は本例が早期発症のため発症前診断には至らなかったが、手掛

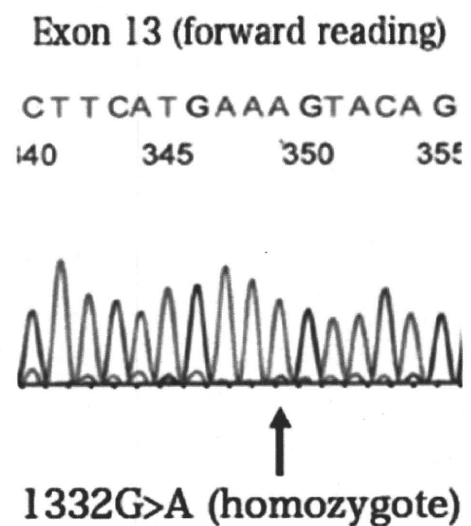
表1：リンパ球脂肪酸酸化能試験

Index	Mean±SD	Patient
dC2	271.2±124.8	115.7
d ₂ :C12	13.95±8.53	15.24
d ₂ :C14	20.06±10.91	574.71
d ₃ :C16	70.76±41.97	485.04
d ₂ :C12/d ₂ :C14	0.632±0.2	0.027
dC2/d ₃ :C16	4.91±2.56	0.24

表2：Palmitoyl-CoA dehydrogenase 酵素活性

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

図：遺伝子診断



かりとしても非常に有用と思われた。逆にこのような早期発症例ではタンデムマスの限界も明らかにな

った。また、リンパ球を用いた脂肪酸酸化能試験はタンデムマススクリーニングの次の精査としての意義は大きいことが確認された。遺伝子診断についてはこれまでに報告されていない変異と思われ、貴重な症例と考えられる。

本例は、MCT ミルクの使用、カルニチン内服、食事療法によって、正常発達を認めていた。1歳児嘔吐下痢に伴うアシドーシス発作を経験したが早期の十分な輸液により改善していた。しかし、感染に伴う突然死を防ぐことはできなかった。

D. 考察・結論

心室細動で発症した VLCAD 欠損症を報告した。発症時のクライシスは救命しえたものの非常に危険な疾患であることがあらためて認識された。タンデムマススクリーニングでの発症予防は不可能であったが、診断においては効果的であり、また他大学との連携により迅速な確定診断が可能であった。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

Nakamura K, Sekijima Y, Nakamura K, Hattori K, Nagamatsu K, Shimizu Y, Yasude T, Ushiyama M, Endo F, Fukushima Y, Ikeda S. Cerebral hemorrhage in Fabry's disease. *J Hum Genet.* 55, 259-61. (2010)

Nakamura K, Hattori K, Endo F. Newborn Screening for lysosomal disorders. *Am J Med*

Genet. (2011 in press)

Shigeto S, Katafuchi T, Okada Y, Nakamura K, Endo F, Okuyama T, Takeuchi H, Kroos MA, Verheijen FW, Reuser AJJ, Okumiyama T Improved assay for differential diagnosis between Pompe disease and acid alpha-glucosidase pseudodeficiency on dried blood spots. *Mol. Genet. Metab.* (2011 in press)

中村公俊 Fabry病の疫学と診断 *神経内科* 73, (2010)

中村公俊 アミノ酸代謝異常症、尿素サイクル異常症、糖原病の新しい治療法 *小児内科* 42, 1191-1194 (2010)

中村公俊、遠藤文夫 先天性アミノ酸代謝異常症 高チロシン血症 *日本臨床 別冊 肝・胆道系症候群 I 肝臓編(上)* 486-489 (2010)

2. 学会発表

G. 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

分担研究報告 2)

長鎖脂肪酸代謝異常症の遺伝学的検査実施時の倫理的配慮について

研究分担者 奥山虎之 国立成育医療センター 臨床検査部長

研究要旨

2011年2月に日本医学会から発表された遺伝学的検査・診断に関するガイドライン（医学会ガイドライン）をもとに、長鎖脂肪酸代謝異常症の遺伝学的検査のあり方を検討した。遺伝学的検査は、発症者の確定診断として有用であり、出生前診断にも応用可能である。

A. 研究目的

近年、医療の様々な場面で、遺伝学的検査が広く用いられるようになったが、臨床的な遺伝学的検査における倫理的配慮については、これまで限られた遺伝学関連 10 学会の学会員を対象としたガイドラインの他に参考となるべきものはわずかであった。10 学会ガイドラインは、遺伝学的検査のリスクを強調するあまり、遺伝学的検査が広く日常診療で行うことの障壁となっていた。この問題を解決するために、日本医学会は、新たなガイドラインを作成した。上記の背景のもとに、本研究では、旧来の遺伝関連 10 学会による遺伝学的検査ガイドライン（10 学会ガイドライン）と 2011 年 2 月に日本医学会から発表された遺伝学的検査・診断に関するガイドライン（医学会ガイドライン）の比較検討をもとに、わが国の実情に即した長鎖脂肪酸代謝異常症の遺伝学的検査施行時の倫理的配慮について検討する。

B. 研究方法

遺伝関連 10 学会による遺伝学的検査ガイドライン（10 学会ガイドライン）と 2011 年 2 月に日本医学会から発表された遺伝学的検査・診断に関するガイドライン（医学会ガイドライン）のそれぞれ該当する部分を抽出し、その変化を明らかにする。さらに、その変化が、長鎖脂肪酸代謝異常症の遺伝学的検査施行時に与える影響について検討する。

（倫理面への配慮）

本研究では、特に倫理面での問題はない。

C. 研究結果

1. 医学会ガイドラインの概要

1) 遺伝学的検査の適用範囲については、DNA や RNA の検査だけでなく、遺伝生化学的検査、染色体検査も含まれる。

2) 医学会ガイドラインは、アンブレラであるという立場を明確にし、診療科別のガイドラインやマニュアルは、各医学会分科会が作成することを推奨している。

3) 医学会ガイドラインでは、遺伝学的検査実施上の留意点（倫理的配慮）を遺伝学的検査の用途に即して示した。特記すべきことは、すでに発症している患者の診断を目的として行われる遺伝学的検査については、検査の説明は、主治医が行うこととし、10 学会ガイドラインが義務づけていた検査前の遺伝カウンセリングは、必要に応じて行うこととした点である。

2. 長鎖脂肪酸代謝異常症の遺伝学的検査

医学会ガイドラインをもとに長鎖脂肪酸代謝異常症の遺伝学的検査の在り方を検討した。長鎖脂肪酸代謝異常症の診断には、緊急を要する場合が少なくないので、事前に遺伝カウンセリングを行うために不必要な時間をとられて、診断および治療が手遅れになることは極力避けなければならない。また、本疾患は常染色体劣性遺伝病であり、

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
研究分担報告書

本症を子に持つ両親に本症が次に生まれる確率は25%である。出生前診断も考慮される重篤な疾患である。本症は、食事療法などの内科的治療が有効であるので、新生児期から治療的介入をするためにも、出生前診断は意義がある。

D. 考察

近年のゲノム医学の進歩により、今日、多くの遺伝学的検査が日常診療の中に組み入れられている。しかし、一般の臨床医を対象とした遺伝学的検査のガイドラインは我が国ではこれまで示されてこなかった。そのため、遺伝学関連10学会が編纂した「遺伝学的検査ガイドライン」を参考に対応している現状があったが、10学会ガイドラインは、すべての遺伝学的検査について、検査前に十分な遺伝カウンセリングを行うことを要求しており、長鎖脂肪酸代謝異常症のような迅速な診断・治療を行う必要のある疾患のガイドラインとしては極めて不適切であった。今回の医学会ガイ

ドラインは、この点の改良がみられ、長鎖脂肪酸代謝異常症にも適用できるガイドラインとなっている。ただし、医学会ガイドラインは、アンブレラであるので、医学会分科会が今後作成するガイドラインで、個々の疾患について記載する必要がある。

E. 結論

医学会ガイドラインに基づく遺伝学的検査が、長鎖脂肪酸代謝異常症の確定診断および出生前診断に有用である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし