

201024156A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

先天性高インスリン血症の病態解明  
と治療適正化に関する研究

平成22年度総括・分担研究報告書

研究代表者 依藤 亨

平成23(2011)年3月

# 厚生労働科学研究費補助金研究報告書目次

## I. 総括研究報告

- 先天性高インスリン血症の病態解明と治療適正化に関する研究 .....3  
研究代表者 依藤 亨 (大阪市立総合医療センター)

## II. 分担研究報告

1. 先天性高インスリン血症の包括治療の確立に関する研究.....12  
分担研究者： 依藤 亨 (大阪市立総合医療センター)  
吉澤明彦 (信州大学)  
米川幸秀 (京都大学)  
増江道哉 (木沢記念病院)  
西堀弘記 (木沢記念病院)
2. 本邦における先天性高インスリン血症の分子基盤.....24  
分担研究者： 依藤 亨 (大阪市立総合医療センター)
3. 先天性高インスリン血症診断における 18F-DOPA PET.....27  
分担研究者： 増江道哉 (木沢記念病院)  
西堀弘記 (木沢記念病院)
4. 新生児一過性先天性高インスリン血症の診療ガイドライン....32  
分担研究者： 河井昌彦 (京都大学)  
楠田 聡 (東京女子医科大学)  
安達昌功 (神奈川県立こども医療センター)  
市場博幸 (大阪市立総合医療センター)
5. KATP チャネル性先天性高インスリン血症の自然治癒機構に関する研究.....46  
分担研究者： 依藤 亨 (大阪市立総合医療センター)
6. インスリンと IGF-I (Insulin-like growth factor-I) の胎児発育に及ぼす作用に関する研究.....50  
分担研究者： 市場博幸 (大阪市立総合医療センター)
7. 先天性高インスリン血症の新規内科的治療 (オクトレオチド持続皮下注療法)に関する研究.....52  
分担研究者： 依藤 亨 (大阪市立総合医療センター)
8. 先天性高インスリン血症の遠隔期予後の検討－1－  
(顕性糖尿病発症例).....56  
分担研究者： 安達昌功 (神奈川県立こども医療センター)

III.	研究成果の刊行に関する一覧表.....	59
IV.	研究成果の刊行物・別冊.....	65

## I. 総括研究報告

### 先天性高インスリン血症の病態解明と治療適正化 に関する研究

研究代表者

依藤 亨 大阪市立総合医療センター小児代謝・内分泌内科部長

#### 研究要旨

本邦において欧米先進諸国と比べて実態把握・診断・治療面で遅れがあると考えられる先天性高インスリン血症について、早急に診療態勢を整えて国際的水準の医療を実現するとともに、新規医療を開発してより良い予後を達成することを目的とした研究である。先行研究により国内の本症の発症・治療実態を明らかにしたが、その上に立って本年度は以下の成果を得た。（１）国内全症例に対応できる遺伝子・PET 診断体制を確立し、外科治療を含めて安定的に医療を供給する基盤を樹立した。（２）分子疫学研究により、我が国では海外と異なって膵部分切除の対象となる局所病変症例の頻度が格段に高いことを明らかにした。（３） $^{18}\text{F}$ -DOPA PET による診断にアジア人特有の事情があることを見出し、正確な診断のためのアルゴリズム（pancreas percentage 法）を確立した。（４）新生児一過性高インスリン血症の取り扱いガイドラインを策定した。（５）重症とされる KATP チャネル性高インスリン血症でも内科的治療で自然治癒する症例があることを報告し、その機構に関する新たな知見を得た。（６）胎児インスリン、IGF1 の胎児発育に対する影響を検討した。（７）新規の内科的治療としてオクトレオチド持続皮下注療法を開発し、臨床的有用性を検討した。（８）それまで報告の少なかった先天性高インスリン血症の遠隔期予後について顕性糖尿病発症例について調査した。

分担研究者

依藤 亨（大阪市立総合医療センター小児代謝・内分泌内科部長）

増江道哉（木沢記念病院小児科部長）

西堀弘記（木沢記念病院放射線科部長）

米川幸秀（京都大学小児外科学助教）

吉澤明彦（信州大学病態解析診断学助教）

安達昌功（神奈川県立こども医療センター内分泌代謝科部長）

楠田 聡（東京女子医科大学母子総合医療センター教授）

市場博幸（大阪市立総合医療センター新生児科部長）

河井昌彦（京都大学新生児集中治療部准教授）

## A 研究目的

先天性高インスリン血症は、新生児・乳児期に高度の低血糖をきたし、重症例ではしばしば高度の神経学的後遺症を残すため適切な血糖管理が極めて重要である。従来は内科的治療が無効な症例に対しては95%以上の膵垂全摘が行われていたが、治癒しないことも多く、さらに大部分の症例では術後インスリン依存性糖尿病をきたすことが知られている。近年、欧米を中心に本症の40%ではB細胞の過形成が膵の一部に限局しており、局所切除で後遺症なく治癒することが示され、本症の治療は大きく転換しつつある。遺伝子診断上これらの局所性病変は父親由来のK<sub>ATP</sub>チャネル遺伝子異常をもつ個体の母由来アリの欠失が生じることにより発症することが知られるようになった。また、局所病変の同定にK<sub>ATP</sub>チャネル遺伝子診断、選択的動脈内カルシウム注入法18F-DOPAによるPETなどが有効なことも報告されている。

一方、本邦では本症の診断、治療に必要な検査、薬剤の多くが保険未承認であることも手伝って、旧態の治療が続行されてきた。その結果、本来回避可能な膵垂全摘により医原性糖尿病を発症した患者も少なくなかったと思われる。本研究では先行研究で明らかにした我が国での発症実態を基盤に、我が国の実情に合っ

た海外に劣らない診療体制を整えるとともに、新規医療を開発して、さらに進んだ診療体制を確立することを目標とした。

## B. 研究方法

1) 国内全症例に対応できる包括医療体制の確立

先行研究にて行った全国調査の結果、我が国における持続性先天性高インスリン血症の発症頻度がおよそ4万出生に一人であることが明らかになった。すなわち、年間に30人弱の新規患者発生があると考えられる。この数に迅速に対応できる遺伝子診断システムとして、*ABCC8*, *KCNJ11*, *GLUD1*, *GCK* 遺伝子のゲノムDNAからのPCR増幅と直接塩基配列決定、またMLPA法によるエクソン欠失の有無を概ね2週間以内に検討できる体制を確立し、局所性病変の可能性のある症例18F-DOPA PETへ国内紹介して検査を実施する体制を整えた。

2) 我が国の本症の分子疫学調査

上記システムの一環として研究代表者の施設を中心に、全国から依頼を受けて遺伝子診断を行い、本邦における分子疫学背景を調査した。このことにより、どのような治療戦略を必要とする患者がどの程度我が国に存在するのかを明らかにすることを試みた。

### 3) 18F-DOPA PETによる局所性病変の局在診断の有効性と問題点の検討

本邦において18F-DOPA PETが唯一可能な施設である木沢記念病院中部療護センターにおいて蓄積したデータを解析し、診断上の有用性と問題点を検討した。さらに、主観的になりがちなPET診断を定量化して、より確実に診断することを試みた。

### 4) 新生児一過性高インスリン血症の取り扱いガイドライン

現在臨床的取り扱いに一定の方針がなく、混乱がみられる新生児一過性高インスリン血症に関して、国内疫学調査の結果検討、文献データベース上のエビデンスの収集、エキスパートによる検討をおこない、我が国における取扱ガイドラインの原案を作成した。

### 5) KATPチャネル性先天性高インスリン血症の自然治癒機構

臨床的に自然治癒したKATPチャネル性先天性高インスリン血症において、18F-DOPA PET, ASVS法によるインスリン分泌能の検討を行い、自然治癒の機構についての知見を得ることを試みた。

### 6) インスリンとIGF-I (Insulin-like growth factor-I)の胎児発育に及ぼす作用に関する研究

インスリン、IGF-Iの胎児発育に対する影響をみるため、糖尿病母体児を対象として、臍帯血中のインスリン・IGF1をはじめとする糖代謝関連因子の濃度を測定し、児の臨床所見に関するデータと合わせて収集した。

### 7) 先天性高インスリン血症の新規内科的治療(オクトレオチド持続皮下注射法)

### に関する研究

永続型先天性高インスリン血症重症例のうち、膵垂全摘以外の外科治療が困難と考えられた児に対してポンプを用いた在宅オクトレオチド持続皮下注射による治療を試み、その効果・副作用について長期観察を行った。

### 8) 先天性高インスリン血症の遠隔期予後の検討(顕性糖尿病発症例)

これまで報告の少なかった先天性高インスリン患者の長期予後について、顕性糖尿病を発症した群について、神奈川県立こども医療センターの患児を中心に調査した。

## C. 研究結果

### 1) 国内全症例に対応できる包括医療体制の確立

(分担報告書 依藤 亨・吉澤明彦・米川幸秀・増江道哉・西堀弘記)

重症の新生児先天性高インスリン血症のうち、KATPチャネル性でジアゾキサイド抵抗性の症例では、高カロリー輸液などで血糖を維持しつつ、早期に治療方針を策定する必要がある。本研究において国内発症のほぼ全例に対応して2週間以内にKATPチャネルの全40エクソン、エクソン-イントロン境界の塩基配列決定とMLPA法によるエクソン欠失の診断を行うことが可能なスループットを実現した。さらに実際に本システムを用いて外科治療の適応となる症例を迅速に18F-DOPA PETを行える体制を確立し、その結果を参考にして、適応のある症例12例の外科治療を行った。

### 2) 我が国の本症の分子疫学調査

(分担報告書 依藤 亨)

研究期間内に我が国の持続性先天性高インスリン血症 85 例について遺伝子解析を行い、うち 30 例に遺伝子変異を同定した。KATP チャンネル変異が 24 例で最も多かったが、うち 19 例は父由来の片アレル変異で、膵部分切除の対象となり得る局所性病変であることが示唆された。重症例の大部分は KATP チャンネル変異陽性のため、我が国の重症例では局所性病変の比率が海外での報告より高いことが示唆された。

### 3) 18F-DOPA PET による局所性病変の局在診断の有効性と問題点の検討

(分担報告書 増江道哉・西堀弘記)

現時点で 18F-DOPA PET を行える我が国唯一の施設である木沢記念病院中部療養センターにて、重症度が高く手術治療の対象と考えられる患児を対象に PET を行い、遺伝子検査、また手術例では病理所見と比較したところ、PET で単一局所性と診断された症例では、100% 診断が正確であったのに対し、多発性・びまん性と診断された症例では病理所見と異なる結果となる症例がかなりあることが判明した。PET 診断の精度を改善するために定量的診断法 (pancreas percentage 法) を開発し、診断精度は格段に改善した。

### 4) 新生児一過性高インスリン血症の取り扱いガイドライン

(分担報告書 河井昌彦、楠田聡、安達昌功、市場博幸)

現在保険適用のある唯一の先天性高インスリン血症治療薬としてジアゾキサイドがある。新生児一過性高インスリン血症は、一過性ではあるものの一部は重症化

するため高カロリーの輸液に加えてジアゾキサイドが使用されることがある。しかしながら、一過性症例の多くは低出生体重児であるため、持続性症例と比較して副作用が出やすい可能性がある。平成 21 年度に先行研究として行った疫学調査の結果、さらに文献上のエビデンスにてこの事実が確認されたため、新生児医療・内分泌医療のそれぞれのエキスパートにより妥当と考えられる管理指針を策定した。

### 5) KATP チャンネル性先天性高インスリン血症の自然治癒機構

(分担報告書 依藤 亨)

新生児期にけいれんをきたした KATP チャンネル性局所性先天性高インスリン血症のうち、内科治療で自然軽快した症例を経験した。本例は ASVS によってもインスリン分泌過剰が消失していることが確認できたが、興味あることに 18F-DOPA PET 上の局所取り込み像は軽快後もほぼ同様に残存していた。このことは、自然軽快が異常 B 細胞のアポトーシスによるものではなく、機能的変化であることを示唆しており、さらにインスリン分泌能と 18F-DOPA の取り込みに関与する DOPA decarboxylase の活性が必ずしも相関しないことを示唆していた。今後の内科的治療の可能性を考えるうえで重要な所見と考えられた。

### 6) インスリンと IGF-I (Insulin-like growth factor-I) の胎児発育に及ぼす作用に関する研究

(分担報告書 市場博幸) 胎児発育に対するインスリンと IGF-I の作用を検討する目的で、糖尿病母体児 250 例について、

臍帯血中の IRI、CPR、IGF-I 濃度、在胎期間、出生体重、出生時身長、HFD の有無、SFD の有無、生後 2 時間血糖値、低血糖治療の有無、母の糖尿病型に関するデータベースを作成した。一過性・持続性先天性高インスリン血症の臨床診断に寄与するデータが集積できた。

7) 先天性高インスリン血症の新規内科的治療（オクトレオチド持続皮下注療法）に関する研究

（分担報告書 依藤 亨）

重症の持続性先天性高インスリン血症に対して糖尿病用の持続皮下注ポンプを用いたオクトレオチド長期皮下注治療を試みた。全員が目立った副作用や低血糖のトラブルなく治療を継続することができ、一部症例では自然軽快に持ち込むことができた。外科治療困難と考えられる症例に対する優れた内科治療法となる可能性があると考えられた。

8) 先天性高インスリン血症の遠隔期予後の検討— 1 —（顕性糖尿病発症例）

（分担報告書 安達昌功）

神奈川県立こども医療センターにて、治療後顕性糖尿病を発症した先天性高インスリン血症 5 例を後方視的に検討した。全例が 95%以上の膵組織を切除した例であり、糖尿病発症時期としては、術直後あるいは思春期年齢での発症が多かった。発症間もない時期は、経口糖尿病薬での管理も可能であったが、長期的には 1 型糖尿病と同様のインスリン治療が必要となっていた。しかしその場合、低血糖の管理に注意が必要な場合があることが確認された。

## D. 考察

平成 21 年度の先行研究開始時点では、欧米と比較して大きく遅れていると考えられた我が国の先天性高インスリン血症の診療状況であったが、本研究により診断・治療技術面では、ほぼ同等のレベルを達成できたといえる。さらに、遺伝子診断のスループットの改善と遺伝子診断から 18F-DOPA PET へのスムーズな施設間連携が確立されて、技術的に本邦の例に対応できる目途がついた。

また、症例を積み重ねる中で我が国での本症の診断における特有の事情が明らかになり、海外の成果がそのまま我が国の診療に適用できないことも明らかになった。すなわち、我が国では膵部分切除による後遺症のない根治が望める KATP チャネル性局所性病変の患者が海外より多いことが明らかになった。しかしながら、比較的広範囲に広がった局所性病変が多いことも明らかになり、部分切除の上で問題を投げかけている。また一方、18F-DOPA PET による局在診断は、海外で報告されるより解釈が難しいことも明らかになったが、それに対する定量的診断法の開発により対応の道筋も次第に明確になってきた。

一方、診断がついても局所性病変が膵頭部にあるときや、びまん性であるときなどは、外科的対応は必ずしも容易ではない。膵全摘は、治療後治癒しない、あるいは糖尿病を発症することがきわめて多く、我々の神奈川県立こども医療センターでの遠隔期予後の調査でもその事実が確認できた。また、頭部病変の部分切除には膵管・胆管損傷の危険がつきまとう。



そのような症例に対して、自然治癒を狙った内科療法の開発が望まれる。本研究ではそういった症例に対してのオクトレオチド持続皮下注射のデータを集積しているが、目立った合併症なく多くの症例が管理可能であることが明らかになりつつあり、さらに一部の症例ではこの治療で膵切除なく自然治癒に持ち込むことができた。また、自然治癒の機構は従来不明であったが、本研究でそれが異常B細胞のアポトーシスによる死滅によるのではなく、機能的変化であることが明らかになった。自然治癒の機構のさらなる解明により、それを人為的に操作することが可能になれば、将来的に大部分の症例に手術を行わずに治療することが可能になる可能性がある。

先天性高インスリン血症には、持続性のものに加えて一過性のものが存在する。一過性でも一時的には重症である者も多く、また持続期間も長いものでは数か月に及ぶことが知られている。そういった症例に持続高カロリー輸液のみで臨むのか、先般保険適用されたジアゾキサイドを使用するのかについては確立したガイドラインが存在しない。ジアゾキサイドは一過性高インスリン血症の多くに有効であるが、低体重児が多い一過性本症では副作用もやすく、慎重に使用すべきであることが明らかになった。本研究では、全国症例のアンケート調査、文献データベースによる報告調査、新生児医療・内分泌医療のエキスパートによる議論を経て、一過性本症の診療に関するガイドラインの原案を策定した。また、臨床的に一過性病変と持続性病変を鑑別す

ることが治療方針の策定に有用であるが、一過性病変の患児の方が低出生体重の傾向があるのみで、その他の手がかりに有用なものがないのが現状である。胎児発育において、インスリン・IGF1がもつ役割の解明は両者の臨床的鑑別に有用であると思われたため、主として糖尿病母体児を対象として臍帯血中インスリン、IGF1と胎児発育を多数例について記録したデータベースを作成した。今後のデータの解析により鑑別に有用な事実が明らかになる可能性がある。

## E. 結論

平成21年度の疫学調査の成果をもとに、平成22年度の研究で我が国の持続性先天性高インスリン血症の診療の欧米先端センターレベルまでの改善が技術的、スループットの的に可能となり、実際に多くの症例の治療に応用された。また、我が国独特の本症の臨床的実態も明らかになり、それに対応する診断技術の改善も開発された。さらに、局所切除が難しい症例に対する新規内科的治療の基礎的、応用的研究が進み、外科的治療が困難であった一部症例では、内科的に治癒に持ち込むことができた。今後、欧米レベルをしのぐ治療水準を達成することも可能である。また、持続性に対して一過性の本症も臨床的に重症であることがしばしばであったが、一過性病変の臨床的鑑別に重要な基礎資料の整備、暫定的診療ガイドラインの策定も行った。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文・著書発表

- 1) Yorifuji T, Kawakita R, Nagai S, et al. Molecular and Clinical Analysis of Japanese Patients with Persistent Congenital Hyperinsulinism: Predominance of Paternally Inherited Monoallelic Mutations in the KATP Channel Genes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:E141-5.
- 2) 川北理恵、杉峰啓憲、長井静世、河井昌彦、楠田 聡、依藤 亨 本邦における先天性高インスリン血症の実態調査 *日児誌* 2011, 115:563-569.
- 3) Masue M, Nishibori H, Fukuyama S, et al. Diagnostic accuracy of [<sup>18</sup>F]fluoro-L-DOPA PET scan for persistent congenital hyperinsulinism in Japan: The first study on Asians. *Clin Endocrinol* 2011 (in press)
- 4) Yorifuji T, Hosokawa Y, Fujimaru R, et al. Lasting 18F-DOPA PET uptake after clinical remission of the focal form of congenital hyperinsulinism. *Horm Res Pediatr* 2011 (in press).
- 5) 依藤 亨 低血糖 特集 小児の輸液ベシックガイド *小児科臨床* 2011; 74:247-252.
- 6) 依藤 亨 炭水化物 児玉浩子、玉井浩、清水俊明編 *小児臨床栄養学* pp37-39 診断と治療社 2011
- 7) 依藤 亨 低血糖 *小児内科* 2010, 42 巻 7 号 1088-1092. 特集「先天代謝異常を見逃さない」
- 8) 依藤 亨 低血糖症の原因遺伝子

医学のあゆみ 2010, 232 巻 ; 1214-1215

9) 依藤 亨 高インスリン血症低血糖症 *小児科診療* 2010, 73 巻増刊 特集 小児の治療指針; 570-572.

10) 依藤 亨 先天性高インスリン血症 *小児科臨床ピクシス* 23 見逃せない先天代謝異常、pp241-3、高柳正樹編 中山書店 2010

11) 依藤 亨 機能検査・負荷試験 低血糖鑑別のための負荷試験 *小児科臨床ピクシス* 23 見逃せない先天代謝異常、pp130-3、高柳正樹編 中山書店 2010

12) 依藤 亨 臨床症状からの診断手順 低血糖 *小児科臨床ピクシス* 23 見逃せない先天代謝異常、pp5-7、高柳正樹編 中山書店 2010

13) 依藤 亨 乳児持続性高インスリン血症低血糖症 *小児内分泌学* pp487-490 日本小児内分泌学会編 診断と治療社, 2010

14) 依藤 亨 新生児低血糖・新生児糖尿病 *小児内分泌学* pp135-6 日本小児内分泌学会編 診断と治療社, 2010

15) 依藤 亨 インスリンノーマ *小児内分泌学* pp491-2 日本小児内分泌学会編 診断と治療社, 2010

16) 河井昌彦 血糖調節機構とインスリン過剰症 *ネオネイタルケア* 第23巻1号 p76-83 2010. メディカ出版(大阪)

17) 河井昌彦 持続性高インスリン血症低血糖症 *ネオネイタルケア* 第23巻2号 p192-197 2010. メディカ出版(大阪)

18) 河井昌彦 低血糖による脳障害の予防 *母子保健情報* 62号 p5-8 2010 恩賜財団母子愛育会(東京)

## 2. 学会発表

1) 依藤 亨 臨床内分泌入門4 新生児低血糖症の診断アルゴリズム 第20回臨床内分泌代謝 Update (札幌) (教育講演) 平成23年1月28日

2) 依藤 亨、細川悠紀、藤丸季可、川北理恵 我が国の先天性高インスリン血症の分子疫学 第55回日本人類遺伝学会 (さいたま市) 平成22年10月30日

3) 佐々木昶、谷口紫野、細川悠紀、藤丸季可、玉川信吉、刀祢裕美、依藤 亨 乳児持続性高インスリン性低血糖症の1例 第188回大阪小児科学会 (高槻) 平成22年9月26日

4) 依藤 亨 HNF4A 異常により新生児一過性高インスリン性低血糖症と家族性糖尿病をきたした3例 第53回日本糖尿病学会 (岡山) 平成22年5月29日

5) 増江道哉, 徳見哲司, 葛西武司, 西堀弘記, 福山誠介, 依藤亨 先天性高インスリン血症の遺伝子診断と 18F-DOPA PET による膵臓病変局在診断 第94回東海臨床遺伝代謝懇話会 (名古屋) 平成23年2月1日

6) 増江道哉, 徳見哲司, 葛西武司, 西堀弘記, 福山誠介, 依藤亨 18F-fluoro-L-DOPA PET による定量的指標を用いた持続性高インスリン血症の膵臓病変局在診断 第251回日本小児科学会東海地方会 (名古屋) 平成23年2月6日

7) 丸茂千恵子、河井昌彦、河田紗耶架、岩永甲午郎、吉田佳代、道和百合、松倉崇、柴田実、丹羽房子、長谷川豪、平家俊男. 低血糖に対しジアゾキシドを使用し、動脈管開存症・心不全の管理に難渋

した1例. 第24回近畿小児科学会 (2010年神戸)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

## II. 分担研究報告

# 先天性高インスリン血症の包括治療の確立に関する研究

## 分担研究者

依藤 亨（大阪市立総合医療センター小児代謝・内分泌内科部長）  
吉澤明彦（信州大学病態解析診断学助教）  
米川幸秀（京都大学小児外科助教）  
増江道哉（木沢記念病院小児科部長）  
西堀弘記（木沢記念病院放射線科部長）

## 研究要旨

本研究の先行研究により、我が国における持続性先天性高インスリン血症の発症頻度がおよそ 37000 出生に一人で、年間に 30 人前後の患児が出生することが明らかになった。このうち約半数がジアゾキサイド反応不良の KATP チャンネル性と考えられる。すなわち年間 15 人前後が手術適応になる可能性があり、早急に局所性かびまん性かの診断を行うことと、その結果による外科治療の適応の有無の判断を迫られることになる。これら症例については約 2 週間以内に遺伝子診断によりびまん性、局所性の判断を行い、局所性であれば 18F-DOPA PET による局在部位診断を行って、外科治療適応があれば、病理医による術中迅速診断のもとで外科医による膵切除が必要である。本研究では、全 40 エクソンからなる KATP チャンネルの全エクソンシーケンスと変異の親由来の決定を 2 週間以内に施行可能なスループットの確立と、局所性判断後の PET 診断体制の確立を行った。また、実際に 12 例に外科治療が行われ、局所性病変と考えられた症例のほとんどが術後糖尿病などの後遺症のない治癒に導かれた。

## A. 研究目的

先天性高インスリン血症は、新生児期・乳児期に持続する低血糖症で発症する。稀な疾患であるが重篤な低血糖をきたした児には高頻度で神経学的後遺症を残すため<sup>12)</sup>、その適切な管理は临床上極めて重要である。本症は、生後 3-4 カ月以内に軽快する一過性のものと、それ以降も持続する持続性のものに大別される。一過性本症は母体糖尿病、母体薬剤投与や胎児機能不全によるストレス誘発性のものなどが知られており、一般に非遺伝性であると考えられている。一方持続性本

症は、大部分が遺伝性と考えられている。既にいくつかの原因遺伝子が同定されており、代表的なものとして膵β細胞のグルコース応答性インスリン分泌に重要な ATP 感受性カリウムチャンネルを構成する SUR1 (*ABCC8* 遺伝子)、Kir6.2 (*KCNJ11* 遺伝子) の異常によるものが最も多く、次いで高インスリン血症・高アンモニア血症症候群をきたすグルタミン酸脱水素酵素 (*GLUD1* 遺伝子) 異常が多いとされている。持続性高インスリン血症は、欧米では 5 万人に 1 人程度の発症

頻度と報告されている<sup>3)</sup>。従来、内科的治療に抵抗性の症例では神経学的後遺症を回避するために95%以上の腓垂全摘が行われてきたが、多くは治癒しないか、術後糖尿病に至っており<sup>2)</sup>、その予後は必ずしも芳しいものではなかった。近年になって、欧米を中心に持続性本症の分子遺伝学的理解が進み、治療方法の長足の進歩が見られるようになった<sup>4)5)</sup>が、本邦では保険適応の制限などとも関連して本症の診断・治療は大きく後れをとっていた。我々は先行研究により、それまで明らかなでなかった本症の我が国での発症実態を明らかにした<sup>6)</sup>。その結果、年間我が国全体でおよそ15例にKATPチャンネル遺伝子診断と、その結果によって18F-DOPA PETが新規に必要であることが判明した。一方、臨床的には高カロリー輸液などの対症療法で容易に維持できるのは1-2か月以内と考えられるため、2週以内の遺伝子診断結果と、それに引き続18F-DOPA PET検査を行い、さらに手術を含めてこの期間内に対応できる体制の確立を試みた。

## B. 研究方法

全部で40エクソンに及ぶKATPチャンネル遺伝子検査を容易にするため、エクソン39個からなるABCC8サブユニットをPCR 17反応でカバーできるように、近接するエクソンをまとめて増幅できるようなプライマーを設定した(図1)。得られたPCR産物を磁気ビーズで生成して、増幅に用いたプライマー、一部は内部プライマーを用いてBigDye terminator cycle sequencing kit ver 3.1を使用してシーケ

ンシング反応を行い、ABI prism 3100xl自動シーケンサーにて塩基配列決定した。得られたデータはSoft Genetics社製Mutation Surveyor softwareを用いて迅速に変異解析を行えるよう設定し、片アリル変異が同定された場合は速やかに両親の検索を行い変異の親由来を確定した。

変異解析により、局所性病変の可能性のある症例について、木沢記念病院中部療育センターと連携して速やかに18F-DOPA PETを行える体制を樹立し、さらにその結果を用いて外科治療可能な症例については外科治療を行った(期間中12例)。手術を行った症例については病理所見と術前診断の関連を検討した<sup>7)</sup>。

## C. 研究結果

### ① 遺伝子検査

前述のPCR-シーケンシングシステムにより、安定してPCR産物を得て塩基配列決定することが可能となった。再検査の必要も少なく、概ね2週間以内に両親の検討を含めてデータを得ることが可能となった。手術例の病理所見の検討結果からみて、遺伝子検査の結果は、病変が局所性かびまん性かの診断に関してはPET以上の精度を持つことが推定された<sup>7)</sup>。現時点でのスループット・正確性は我が国の全症例をカバーするのに十分で、本研究終了後の高度医療としての永続提供への道が開かれた。

### ② 18F-DOPA PET

本PETは、保険診療適用外の検査で、木沢記念病院倫理委員会の承認をうけ家族同意のもとで施行した。現時点で、木沢記念病院中部療護センターは東アジアで

先天性高インスリン血症に本検査を施行可能な唯一の施設である。遺伝子診断施設（大阪市立総合医療センター）と連携のうえ、局所性病変の可能性のある患児について遺伝子検査結果の速やかな連絡のもと、PET 検査を施行できる体制を整えることができた。

### ③ 外科治療

遺伝子診断、PET 検査の結果に基づいて、適応のある 12 症例に対して膵切除を施行した。遺伝子検査の結果、びまん性病変と予めわかっている症例については当初から膵全摘を施行したが、局所性病変が想定される症例には、PET 検査の結果を参考にしつつ、術中病理診断を施行しながら切除範囲を決定した。手術に伴う目立った合併症はなく、びまん性で膵全摘を行った症例では 1 例に低血糖が残存、1 例に術後糖尿病が発症したが、局所性と考えられた症例では、膵全体に及ぶ巨大局所性病変をもち、膵全摘が避けられなかった 1 例を除いて膵部分切除が可能であった。局所切除の 1 例では病変の境界が不明瞭で、術後軽度の低血糖傾向が残存したがコーンスターチ併用で管理可能であった。その他の局所性病変患者は部分切除で合併症なく治癒できた。

## D. 考察

先行疫学調査の結果と合わせて、本邦症例の全例に欧米並みの医療を提供できる体制が整ったと考えられる。後述の依藤の遺伝疫学報告のように、遺伝子検査・PET 検査を行った症例の一部は局所性病変が膵頭部に局在しており外科切除に際して膵管・胆管の損傷のリスクが高い場

合や大きな局所性病変で結局膵全摘の対象になってしまう例があり、これらの症例に対する対応が今後の課題と考えられた。また、PET 検査単独では判断の難しい症例が存在した（分担報告 増江・西堀）。後述の増江・西堀報告のように定量的 PET 評価法 (pancreas percentage 法) の開発で PET 診断の精度は大きく改善したが、現実の症例の対応に際しては遺伝子検査の併用も必須と考えられた。

本疾患の発症頻度から考えて、また、医療資源の有効利用の面からも本症の診断施設は我が国に 1 か所で十分と考えられる。外科治療に関しても小児内分泌医、病理医、小児外科医の密接な連携が必要な事、また疾患そのものがまれで、経験を集積することが外科治療成績の改善に重要であるため、なるべく施設を絞って行うべきと考えられた。実際に今年度対象となった患者も検体は全国から寄せられ、PET 検査も航空機を利用して遠方から来院した患者も少なくない。本研究終了後の永続的な医療提供のためには、早期の保険適用あるいは高度医療としての承認が必要である。また、ホームページ開設などの方法で診断・治療手段が利用可能であることを医療関係者・国民に周知する必要もあると考えられた。平成 23 年度の継続研究のなかで、今後の医療提供方法を検討していく予定である。

### 【引用文献】

- 1) Menni F. de Lonlay P. Sevin C. Neurologic outcomes of 90 neonates and infants with persistent hyperinsulinemic hypoglycemia.

- Pediatrics 2001 ; 107(3) : 476-9.
- 2) Meissner T, Wendel U, Burgard P.  
Long-term follow-up of 114 patients  
with congenital hyperinsulinism.  
Eur J Endocrinol. 2003 ; 149(1) :  
43-51.
  - 3) Bruining, G. Recent advances in  
hyperinsulinism and the  
pathogenesis of diabetes mellitus.  
Curr Opin Pediatr 1990 ; 2 : 758-765.
  - 4) Stanley CA. Advances in Diagnosis  
and Treatment of Hyperinsulinism  
in Infants and Children. J Clin  
Endocrinol Metab. 2002 ; 87(11) :  
4857-4859.
  - 5) Kapoor RR, James C, Hussain K.  
Advances in the diagnosis and  
management of hyperinsulinemic  
hypoglycemia. Nat Clin Pract  
Endocrinol Metab. 2009 ; 5(2) :  
101-12.
  - 6) 川北理恵、杉峰啓憲、長井静世 本  
邦における先天性高インスリン血症  
の実態調査 日児誌 2011,  
115;563-569.
  - 7) Yorifuji T, Kawakita R, Nagai S et  
al. Molecular and Clinical  
Analysis of Japanese Patients with  
Persistent Congenital  
Hyperinsulinism: Predominance of  
Paternal Inherited Monoallelic  
Mutations in the KATP Channel  
Genes. J Clin Endocrinol Metab.  
2011;96:E141-5.



PCR、シーケンシングの条件<sup>7)</sup>

(1) Sequences of the primers

\* Sequences of the primers routinely used for amplification and sequencing are shown.

Gene	exon	Amplification primers	Additional sequencing primers
ABCC8	1	5'- TCACACTCGGGACCCCTGAAC -3' 5'- GATGAGCTGGTGTGCGAGTG -3'	
	2	5'- GGACCAGGCTGAATGAGTTG -3' 5'- TGCCCAGCTCAGAGAGGTTG -3'	
	3	5'- CAGCTCTGCCCAGCCCATAC -3' 5'- CTGTCTATCCTCCTTCAACCAGACTG-3'	
	4-6	5'- ACACCCAGGCACGCTTATTC -3' 5'- CACACATTTGGCCTGTTGCAC -3' 5'- CGTGTCCATTATGGCACAG -3'	5'-CCCCATCTGTTAGAGATCAAG-3' 5'-TGCAGAGGATGTGACCACTG-3'
	7	5'- CCCACACTGCCCTTGTCAAATG-3' 5'- CCCCTGGCACACTGTAAACAG -3'	
	8	5'- CCGTGTGCTCCTTAGTTACTG -3' 5'-ACCAAGGCTTGTCCCACCTCTAG-3'	
	9-10	5'-CCCCCTTACCCGAGCTCTG-3' 5'-TCCTGGGCATCTCCATGTGTAG-3'	
	11-12	5'-CATCACTCGAGCAAGCCCTTG-3' 5'-CCTGAGATCCTGCTCAGAGCTC-3'	
	13-16	5'-GAGTGGGCCCCCCAATAAATG-3' 5'-TCTCCCCCTAAGACTCAGCGTG-3'	5'-CCTGCTGTGTCGGACTTCTG-3' 5'-ACTCCCCCTGCTCTGGAAAGTG-3'
	17-18		

19-21	5'-CTGCCCAGCAGGGTGATG-3' 5'-CCAGAGGCCACACTAAGCAG-3' 5'-GAGGTGGGCAGTTAGGCCCTG-3' 5'-CCCAGAGAGGTTGGGTGAG-3' 5'-GGCCCTCAGCAGTTGCTAC-3'	5'-CTCACCCCTGGGCATAGCTACC-3'
22	5'-CACTTGCAGTGGATGAGCTG-3' 5'-CCTGCTTCTTGCCACAAGGAG-3'	5'-CCTCAGGCAGGGACAAAGTAG-3' 5'-ATGCCCTGATTACCCCTCAG-3'
23-26		5'-GCCAGTCACACCTGGCTGAG-3'
27-28	5'-ATTGGCAGAGGATGCCAGAC-3' 5'-GGAGGGAACACGACCCCTATTAC-3'	
29	5'-ATGGGCTGGTGGCATTGTC-3' 5'-TGTCCCTGCTGGTGATATC-3'	
30-33	5'-GAGTGGGTGGACATTCAG-3' 5'-GAGGTGACTGCGAAGCCATC-3' 5'-CCTGTGACCTCCCACACCTG-3'	5'-TGTCTGGTGACGTGTGCATG-3' 5'-CTCTGAGCAGGCAGTGGATG-3' 5'-TGGCACGTGGTCAGACATG-3'
34-36	5'-ACCTGAGACACGGGCTTCTG-3' 5'-CACGCCCTGTGCTCTTGGAC-3'	
37-39	5'-CAGAGCCAGGCTGGTTCTACTG-3'	5'-ATGGGAGCTGAGCCACAGAC-3'
	<i>KCNJ11</i> 1	
	5'-CGAGAGGACTCTGCAGTGAG-3' 5'-GCTTGGCTGAAGATGAGGGTC-3' 5'-CATCGTGCAGAACATCGTG-3' 5'-TAACACCCCTGGATGAGCAG-3'	
	<i>GCK</i> 1	
	5'-TCCACTGTGGAGGGTCTCTG-3'	

		<p>5'- TCCC TGGG AAG ATG TGG TTC-3'</p> <p>5'-CCCAGGAGAACCCACACATTC-3'</p> <p>5'-GACCCCTTCTCAAAGAGCCTG-3'</p> <p>5'-CTCGGTGTCAGATGCCCTG-3'</p> <p>5'-TGTGAGTCTGGGAGTGCCTG-3'</p> <p>5'-TATCCGGCTCAGTCACCTG-3'</p> <p>5'-GGGCTACATTTGAAAGGCAGAG-3'</p> <p>5'-CCCTGTGCAGGAGGTAGTGAC-3'</p> <p>5'-AACAAAGCCATTATCTGCAATG-3'</p> <p>5'-GACCTCAGTGGGAGCAGTG-3'</p> <p>5'-CGCCCTGAGACCAAGTCTG-3'</p> <p>5'-CCCTCCCTGGAGAACGAG-3'</p> <p>5'-AACCGCAAGGAACCTTGGAG-3'</p> <p>5'-CCCAAGCTCCAAGATTTCGTAG-3'</p> <p>5'-GCACCTTCCCATGGAGCCTG-3'</p>	
2			
3-4			
5-7			
8			
9			
10			
	<i>GLUDI</i>	<p>5'-TTCTAGCCATGGTAACTTGG-3'</p> <p>5'-CCAGGGATTCTCAACTTTTG-3'</p> <p>5'-CATACACACACTCCTAATTAGC-3'</p> <p>5'-CATGAATCATACCAAGGTTTC-3'</p> <p>5'-AGAGTATGGATTTACATTTGGTC-3'</p> <p>5'-GGGATCAGTATGTCACAGTTC-3'</p> <p>5'-TTGAAATTAAAGGTCTTAGCTTC-3'</p> <p>5'-GCCGAACAAGATTATCGATACTC-3'</p>	
5			
6			
7			
10			

11	5'-CTGTTAGCAATATCTTGTGATCTC-3' 5'-CTGTCTCTGAAGGAAAGAGCAG-3'	
12	5'-ACAGGGACACAAAGCAGGTC-3' 5'-CAGTCTGGCGGCTGAGATAG-3'	

(2) Amplification conditions.

The amplification conditions were the same for all exons of the *ABCC8*, *KCNJ11*, and *GCK* genes except for exon 3 of the *ABCC8* gene; 25  $\mu$ l reactions containing 1 x GC buffer I, 200  $\mu$ M each of the dNTPs, 30 ng of template DNA, 0.5 U of LA-Taq DNA polymerase (Takara, Japan) and 50 pmole of each primer. The initial denaturation at 94°C for 2 minutes was followed by 30 cycles of denaturation at 94°C for 30 seconds, annealing at 60°C for 30 seconds, and extension at 72°C for 60 seconds. For exon 3 of the *ABCC8* gene, amplifications were performed in 25  $\mu$ l reactions containing 50 ng of genomic DNA, 10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 50 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.01% (w/v) gelatin, 25 pmol of each primer, and 1.25 U AmpliTaq Gold DNA polymerase (Perkin-Elmer) with the initial denaturation at 94°C for 10 min followed by 30 cycles of denaturation at 94°C for 30 sec, annealing at 55 °C for 30 sec and extension at 72 °C for 30 sec. Exons of the *GLUDI* gene were amplified in the same condition as for exon 3 of the *ABCC8* gene except that the annealing temperature was lowered to 53°C.