

〔II〕 分担研究報告

## シトリン欠損症モデル (citrin/mGPDH double KO) マウス を用いた病態解析と新規治療法の開発

研究分担者 佐伯 武頼 徳島文理大学健康科学研究所教授

### 研究要旨

シトリン欠損症モデル (citrin/mGPDH double-KO) マウスのメタボローム解析から以下の結果を得た。Capillary electrophoresis/mass spectrometry (CE/MS) 解析、酵素法による代謝物定量、LC/MS を用いるアミノ酸分析の結果、double-KO マウスは、ショ糖投与によって、大きく以下の4種の異常を示すことが判明した。

- (1) glycerol 3-phosphate の顕著な蓄積と細胞質 NADH/NAD<sup>+</sup>比の上昇、
  - (2) TCA サイクル中間体濃度の低下、
  - (3) Citrulline 濃度の上昇に代表できる尿素合成の異常、
  - (4) Saccharopine dehydrogenase (NADP)の阻害に基づく Lysine 濃度の上昇、
- これらの異常所見は、全てアスパラギン酸・グルタミン酸ミトコンドリア膜輸送体としてのシトリンの機能喪失に起因することが明確であり、治療法開発において重要なマーカーとして使用可能であると考ええる。

### A. 研究目的

本分担研究では、分担者らが新たに開発したシトリン欠損症モデルマウスを用いて、シトリン欠損症の病態を解明し、肝移植以外の有効な治療法を開発・確立することにある。シトリン欠損症は、佐伯と小林らが、成人発症 II 型シトルリン血症 (CTLN2) の病因遺伝子として見出した SLC25A13 によってコードされるたんぱく質をシトリンと名づけたことから始まる (Kobayashi et al. Nat Genet 1999;22:159-163)。シトリン欠損はその後、新生児肝炎、または肝内胆汁うっ滞症 (NICCD) を引き起こすこ

となど、多彩な病態を呈することから、これらを総称してシトリン欠損症という疾患概念を確立した (Saheki & Kobayashi J Hum Genet 2002;47:333-341)。シトリンは、さらに、ミトコンドリア膜アスパラギン酸 (Asp)・グルタミン酸 (Glu) 輸送体である (Palmieri et al EMBO J 2002; 20:5060-5069) ことを明らかにし、病態発症機構を推定できるようになった。さらにシトリン欠損症患者の特異な食癖の解析 (Saheki et al. J Inherit Metab Dis 2008;31:386-394) から、従来の高アンモニア血症に対する治療法が、シトリン欠損

症にとっては、非常に危険であることも判明してきた(Yazaki et al. Intern Med 2005;44:188-195; Takahashi et al. Med Sci Monit 2006;12:CS13-15; Fukushima et al. Intern Med. 2010;49:243-247)。その詳細な病態形成機構の解明は、これまで肝移植以外には効果的な治療法がなかった本疾患の病因・病態に基づく新たな治療法開発には欠かせない。そのような目的からシトリン欠損症モデルマウスを作出した結果、現在、その病態解析を行い、新たな治療法を打ち立てることが可能になった。

前年度においては、シトリン欠損症の発症因子となりうるショ糖、エタノール、グリセロールの飲用量、嗜好度を検討し、**double-KO** マウスのみがショ糖の摂取を好まないこと、エタノール、グリセロールの摂取は **mGPD-KO** マウスでも摂取を嫌うこと、さらにマウスが摂取を嫌う溶液の強制投与では、肝臓 G3P 濃度が上昇することを示した。本年度は、ショ糖の強制投与による肝内の代謝中間体の濃度の変動をメタボローム解析で解析した結果を示す。

## B. 研究方法

### 1. シトリン欠損症モデルマウスと対照マウス

シトリン欠損症モデルマウスは、すでに Saheki et al. (J Biol Chem 2007;282:25041-25052) が報告したように、シトリンをコードする *Slc25a13* 遺伝子を破壊 (knock-out; KO) したシトリン欠損 (*citrin* KO) マウス (Sinassac et al. Mol Cell Biol 2004;24(2):527-536) と mitochondrial glycerol 3-phosphate dehydrogenase

(*mGPD*) KO マウスを交配して作成した。作成された *citrin/mGPD double KO* (*Slc25a13<sup>-/-</sup> mGPD<sup>-/-</sup>*) マウスは、ヒトシトリン欠損症である、成人発症 II 型シトリン血症 (CTLN2) や新生児肝内胆汁うっ滞症 (NICCD) と同様の、多くの症状を呈し、シトリン欠損症モデルマウスとして確立できた。本研究では、対照マウスとして、野生型 (*citrin<sup>+/+</sup>/mGPD<sup>+/+</sup>*)、*citrin* KO (*citrin<sup>-/-</sup>/mGPD<sup>+/+</sup>*)、*mGPD* KO (*citrin<sup>+/+</sup>/mGPDH<sup>-/-</sup>*) の 3 種を用いた。

遺伝子診断については、(Sinassac et al. Mol Cell Biol 2004;24(2):527-536; Eto et al. Science 2004;283:981-985) によって記載された方法で行った。なお、本研究の実施に関しては本学動物実験委員会の承認を得た。

### 2. 飼育条件

水と飼育用固形食 CE-2 (343 kcal/100g、たんぱく質 25.1%、脂質 4.8%、糖質 50.0% ; 日本クレア株式会社) は自由摂取とし、12 時間の明暗サイクル (午前 8 時から午後 8 時まで) のもと、一定の温度 (23 ± 1°C) で維持した。実験には、日齢 90 日から 180 日までのマウスを用いた。

### 3. マウスの処理と分析の手順

#### 3-1 ショ糖投与による肝内代謝物濃度への影響

##### 3-1-1 CE/MS を用いるメタボローム解析法による解析

午前 9 時から午前 10 時の間に 4 種のマウスに対照として 0.9% 塩化ナトリウム (NaCl) 溶液 (20ml/kg 体重)、もしくは実験系として 50% ショ糖溶液 (20ml/kg 体重 ; 10g/kg 体重) を胃管にて経口投与し、



1 時間後に頸椎脱臼、freeze-clamp 法により肝臓を採取した。液体窒素下で乳鉢による粉碎を行った後、遠沈管に分取し、肝臓 50mg に対して 500  $\mu$ l の 50  $\mu$ M インターナルスタンダード（ヒューマン・メタボローム・テクノロジー株式会社）入りメタノール溶液を加え、液体窒素で冷却しながら攪拌した。解析は、ヒューマン・メタボローム・テクノロジー株式会社に委託し、CE/MS（capillary electrophoresis/mass spectrometry）を用いるメタボローム解析法によって行った。

### 3-1-2 酵素法による肝内代謝物濃度の定量

CE/MS によるメタボローム解析の結果を酵素法により確認するため、マウスの肝臓の抽出液を作製した。午前 9 時から午前 10 時の間に 4 種のマウスに、対照として 0.9%NaCl 溶液 (20ml/kg 体重)、もしくは実験系として 50%ショ糖溶液 (20ml/kg 体重；10g/kg 体重) を胃管にて経口投与し、1 時間後に頸椎脱臼、freeze-clamp 法により肝臓を採取した。液体窒素で十分に冷却した状態で肝臓を分取・粉碎した後、3%過塩素酸を加え除タンパクし、遠心分離により上清を得た。これを 1M 炭酸水素カリウムで中和し、検体とした。

グリセロール 3-リン酸（glycerol 3-phosphate；G3P）（Lang Methods in Enzymatic Analysis Vol. VI 1984；pp525-531）、ジヒドロキシアセトンリン酸（dihydroxyacetone phosphate；DHAP）（Michal Methods in Enzymatic Analysis Vol VI 1984, pp342-350）、リンゴ酸（malate）（Möllering Methods in Enzymatic Analysis Vol VI 1984,

pp39-47）、クエン酸（citrate）（Möllering Methods in Enzymatic Analysis Vol VI 1984, pp2-12）を酵素法で濃度定量した。

3-1-3 LC/MS/MS によるアミノ酸分析  
ウォーターズ社製 LC/MS システム（UPLC；ACQUITY UPLC、MS/MS；ACQUITY TQD）を用いて肝内アミノ酸濃度の定量を行った。3-1-2 で作製したものを検体とし、アミノ酸の化学修飾を用いる EZ：faast キット（Phenomenex Ltd.、Los Angeles、USA）を使用して分析用サンプルを調製した。分析条件もキット付属のマニュアルに従い、アミノ酸個々に必要な collision energy については、独自で検討し個々に設定した。

## C 研究結果

### 1. CE/MS によるメタボローム解析と酵素法による確認と統計学的解析

本研究では、wild-type、Ctrn-KO、mGPD-KO、および Ctrn/mGPD double-KO マウスの 4 種のマウスに、対照として 0.9%NaCl 溶液の投与を、実験系として 50%ショ糖溶液の投与を行い、1 時間後に freeze-clamp 法で肝臓を採取、肝抽出液を調製し、CE/MS を用いるメタボローム解析法で解析した。その結果、4 種のマウス間、またはショ糖による顕著な代謝変動 5 種を見出した。すなわち、(1) G3P の変化、(2) TCA サイクル中間体の変化、(3) 尿素サイクル中間体の変化、(4) Lys 代謝の変化、(5) その他の変化、である。これらの変化を酵素法による中間体濃度定量、または LC/MS/MS によるアミノ酸分析によって確認するとともに統計的解析を行った。



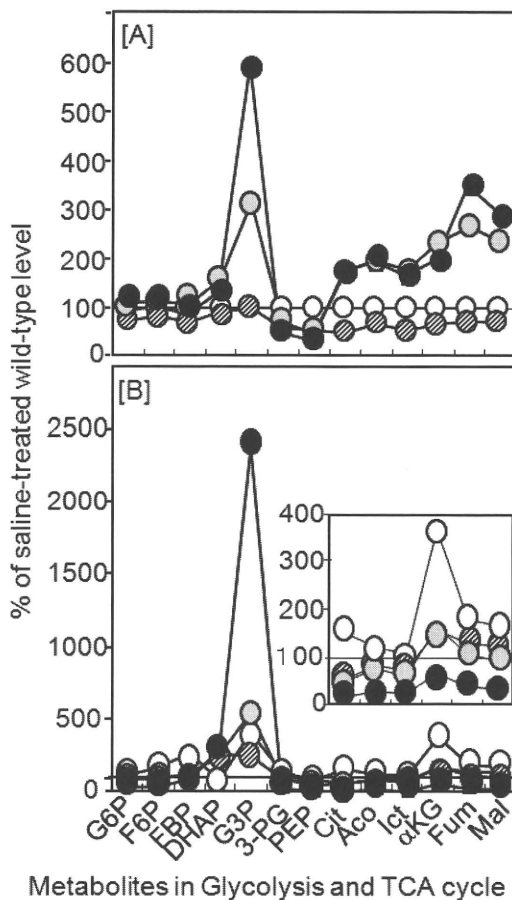


図1. 肝内解糖系および TCA サイクル中間体濃度のマウス間の比較 (A : NaCl 投与条件下, B : ショ糖投与条件下) —CE/MS を用いるメタボローム解析—

0.9%NaCl または 50%ショ糖溶液投与(20ml/kg 体重)1 時間後に freeze-clamp 法で肝臓を取り出し、肝抽出液を調製した。同じ遺伝子型マウス4匹から得た肝臓抽出液を等量混合し解析サンプルとした。Wild-type (○)の個々の代謝物濃度を 100%として、Ctrn-KO (灰色)、mGPD-KO(斜線)、および double-KO(●)と比較した。枠内の図は TCA サイクル中間体濃度の拡大図である。G6P, glucose 6-phosphate; F6P, fructose 6-phosphate; FBP, fructose 1,6-bisphosphate; DHAP, dihydroxyacetonephosphate; 3-PG, 3-phosphoglycerate; PEP, phosphoenolpyruvate; Cit, citrate; Aco, aconitate; Ict, isocitrate; αKG, a-ketoglutarate; Fum, fumarate; Mal, malate.

### 1-1. 解糖系と TCA サイクル中間体の濃度変化

図1には、CE/MS解析による解糖系と TCA サイクル中間体濃度の4種のマウス間の比較を示す。0.9%NaCl 溶液投与下 (図1A) では、wild-type と mGPD-KO マウスに比し、G3P 濃度の上昇とすべての TCA サイクル中間体の濃度の上昇が Ctrn-KO と double-KO マウスで見られた。一方、50% ショ糖溶液投与 1 時間後では、wild-type マウスでの TCA サイクル中間体濃度の増加と、double-KO マウスでの G3P の著しい濃度上昇と TCA サイクル中間体の濃度低下が観察された (図1B)。

### 1-2. ショ糖投与による double-KO マウスにおける G3P 濃度変動と NADH/NAD<sup>+</sup> 比の顕著な上昇—酵素法による解析

肝内 G3P 濃度の変動は、酵素法によって確認でき、統計的処理を行うことができた。G3P 濃度は 0.9%NaCl 溶液投与下では、Ctrn-KO マウスと double-KO マウスにおいて wild-type と mGPD-KO マウスに比べ、有意に上昇していることが確認できた (図2A)。さらに 50%ショ糖溶液投与によって、double-KO マウスにおいて著しい G3P の上昇が観察された (図2A)。それに伴い、細胞質 NADH/NAD<sup>+</sup>比を示す G3P/DHAP (dihydroxyacetone phosphate) 比も 50% ショ糖溶液投与下の double-KO マウスにおいてのみ著しく上昇していることが確認できた (図2B)。

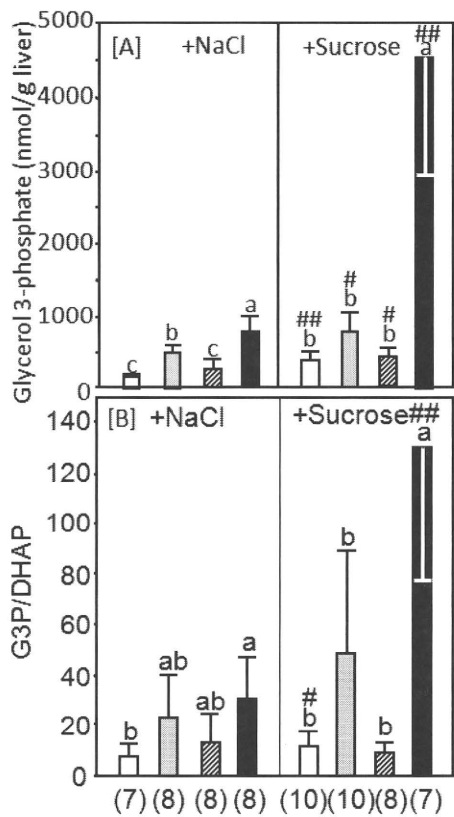


図2. 4種のマウス肝内 G3P 濃度 (A) と G3P/DHAP 比 (B) の比較とショ糖投与の効果—酵素法による測定—

0.9%NaCl 溶液投与、または 50%ショ糖溶液投与 (10g/kg 体重) 1 時間後に freeze-clamp 法で肝臓を取り出し、肝抽出液を調製した。カッコ内の数字はマウスの数を示す。Wild-type (白)、Ctrn-KO (灰色)、mGPD-KO (斜線)、および double-KO (黒) で示す。#p<0.05、##p<0.01 (NaCl 投与群との比較)。マウス群間の比較は one-way ANOVA で統計処理を行った。同じ文字は有意差なし。

### 1 - 3. TCA サイクル中間体濃度の変動—酵素法による解析

CE/MS による結果を受け、酵素法によって、citrate、 $\alpha$ -ketoglutarate ( $\alpha$ KG) および malate 濃度のマウス間での比較を行い、ショ糖投与による変化を検討した。図

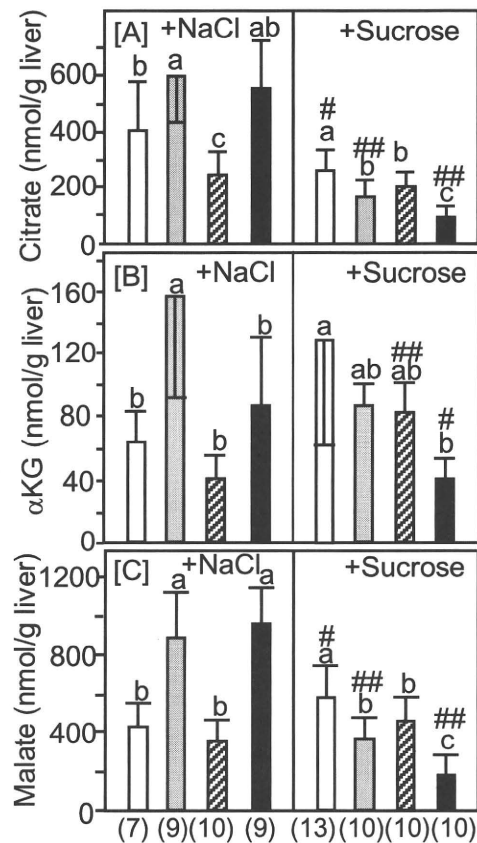


図3. 肝内 citrate (A)、 $\alpha$ KG (B)、malate (C) 濃度の変動—酵素法による測定—

実験条件は図2. と同様。+Sucrose は 50%ショ糖溶液投与 (10g/kg 体重)。カッコ内の数字はマウスの数を示す。Wild-type (白)、Ctrn-KO (灰色)、mGPD-KO (斜線)、および double-KO (黒) で示す。以下の図も同じ指標を用いる。#p<0.05、##p<0.01 (NaCl 投与群との比較)。マウス群間の比較は one-way ANOVA で統計処理を行った。同じ文字は有意差なし。

3A に示すように NaCl 投与条件下では、肝内 citrate 濃度は、Ctrn-KO と double-KO マウスにおいて、wild-type マウスよりも高いレベルにあった。Malate 濃度 (図 3C) もほぼ同様に高いレベルにあったが、 $\alpha$ KG (図 3B) は double-KO マウスですでに低いレベルにあり、50%ショ糖溶液投与によって、double-KO マウスのいずれも最も低いレベルに低下した。Ctrn-KO マウスでは

その低下の程度は少なかった。Wild-type マウスにおいては若干、 $\alpha$ KG および malate と citrate のシヨ糖による変動が異なり、また、mGPD-KO マウスでは citrate 濃度が 0.9%NaCl 溶液投与下で一番低い濃度を示した (図 3A)。

#### 1-4. 尿素サイクルの変動

尿素サイクル中間体濃度の変動を、CE/MS によって得た結果から cross-over point 法で解析した。図 4 に示すようにそれぞれの遺伝子型マウスの 0.9%NaCl 投与条件下での中間体濃度を 100%として 50%シヨ糖溶液投与時の濃度を図示した。Double-KO マウスでの citrulline 濃度の著しい増加とアルギニノコハク酸 (ASA) レベルの基線からの低下が示された。このことは尿素サイクルが citrulline から ASA への反応で阻害されていることを示唆する。LC/MS によるアミノ酸分析の結果 (図 5) は 0.9%NaCl 投与条件下で、Ctrn-KO と double-KO マウスにおいて肝内 Orn、citrulline および Arg レベルが高かった。50%シヨ糖溶液投与条件下では double-KO マウスでのみ citrulline 濃度が顕著に上昇することを示し、double-KO マウスのシヨ糖投与による尿素サイクル異常の特異性を明確に示している。一方、Orn レベルは低下したが、Arg には変化が見られていない。

肝内 Asp 濃度 (図 5D) は、0.9%NaCl 投与条件下で Ctrn-KO マウスと double-KO マウスにおいて有意な低下を示すが、50%シヨ糖溶液投与条件下でも変化がほとんど見られていない。本研究で用いている条件下では細胞質とミトコンド

リアの局在は区別できないので、シトリン欠損の直接の影響を肝内 Asp の局在性的変化を捉えることはできない。理論的にはシトリンの欠損によって細胞質 Asp の低下が起こり、argininosuccinate synthetase 反応の抑制が起こり、citrulline の蓄積を起こすものと考えられる。

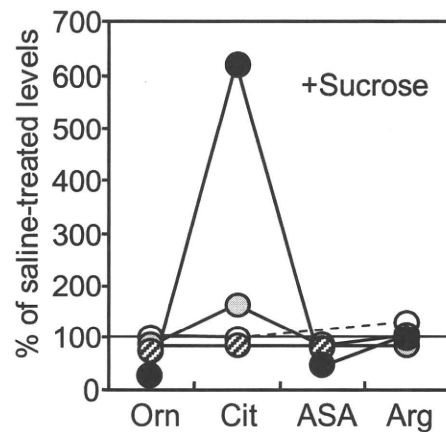


図 4. Cross-over point 法による double-KO マウス肝におけるシヨ糖投与によって生じた尿素サイクル異常 (CE/MS 解析)

50%シヨ糖溶液投与 (10g/kg 体重) 1 時間後に freeze-clamp 法で肝臓を取り出し、肝抽出液を調製した。同じ遺伝子型マウス 4 匹から得た肝臓抽出液を同じ重量当たりで混合し解析サンプルとした。CE/MS 解析によって得た各尿素サイクル中間体濃度を用い、0.9%NaCl 溶液投与群の値を 100%として 50%シヨ糖溶液投与群の値を%で表した。Wild-type (白)、Ctrn-KO (灰色)、mGPD-KO (斜線)、および double-KO (黒) で示す。Orn ; Ornithine、Cit ; Citrulline、ASA, argininosuccinate; Arg; Arginine.



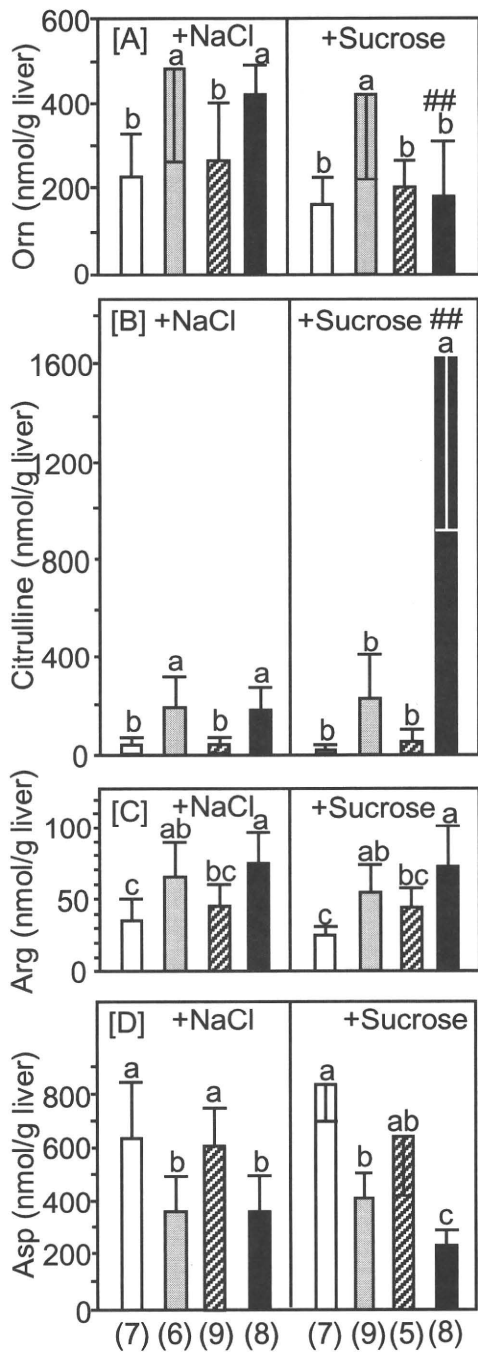


図5. 4種のマウス肝内 Orn, citrulline, Arg, および Asp 濃度の比較とシヨ糖投与による変動—LC/MS/MSによるアミノ酸分析—  
実験条件は図3と同様。カッコ内の数字はマウスの数を示す。## $p < 0.01$  (NaCl投与群との比較)。マウス群間は one-way ANOVA で統計処理を行った。

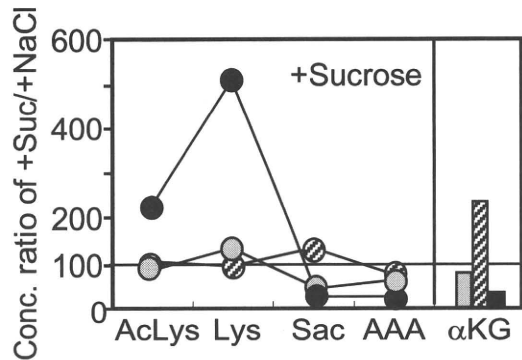


図6. シヨ糖投与によって生じた double-KO マウス肝臓における Lysine 代謝異常—Cross-over point 法による解析—  
50%シヨ糖溶液投与 (10g/kg 体重) 1 時間後に freeze-clamp 法で肝臓を取り出し、肝抽出液を調製し、解析サンプルとした。CE/MS 解析によって得た各 Lys 代謝中間体濃度および  $\alpha$ -KG) 濃度を用い、0.9%NaCl 溶液投与群の値を 100%として 50%シヨ糖溶液投与群の値を%で表した。AcLys, N<sup>6</sup>-acetyllysine; Sac, saccharopine; AAA, aminoadipic acid.

#### 1-5. Lys 代謝の異常 (図6, 図7)

メタボローム解析による成果の 1 つは、50%シヨ糖溶液投与による肝内 Lys の増加の検出である。それだけでなく、Lys 代謝経路の中間体の結果から、Lys  $\rightarrow$  saccharopine 反応が阻害されていることが、cross-over point 法による解析で明らかになった。図6には cross-over point 法によって、Lys の蓄積とそれ以降の Lys 代謝経路中間体の低下と Lys からの側副路と考えられる N<sup>6</sup>-acetyllysine 濃度の上昇が明らかである。なお、saccharopine dehydrogenase (NADP) 反応の、他の基質である  $\alpha$ -KG 濃度も図3Bに示すように、double-KO マウスではシヨ糖投与で低下していた。Lys 濃度の増加はアミノ酸分析によって証明できた (図7)。

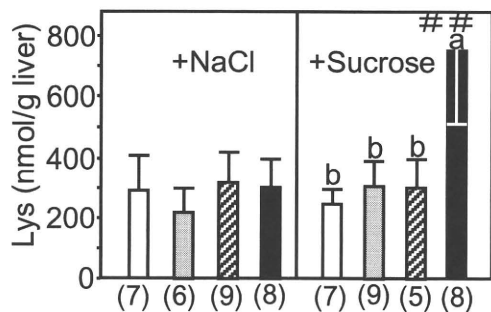


図 7. 4 種のマウス肝臓 Lys 濃度の比較とショ糖投与の効果—LC/MS/MS によるアミノ酸分析—

実験条件は図 3. と同様。0.9%NaCl または 50%ショ糖溶液投与 (10g/kg 体重)。カッコ内の数字はマウスの数を示す。## $p < 0.01$  (NaCl 投与群との比較)。マウス群間は one-way ANOVA で統計処理を行った。同じ文字は有意差なし。

#### 1-6 その他のアミノ酸の変化

以下に Ala、Glu、Gln、Arg の濃度変化を示す。そ

肝内 Ala 濃度は、0.9%NaCl 溶液投与下では 4 種のマウス間に差はなかったが、50%ショ糖溶液投与によって、wild-type マウスでは著しく増加し、また mGPD-KO マウスでも上昇したが、Ctrn-KO と double-KO マウスでは有意な上昇はなかった。

Glu 濃度は、0.9%NaCl 溶液投与下では Ctrn-KO と double-KO マウスで wild-type と mGPD-KO マウスより高いレベルにあったが、50%ショ糖溶液投与によって前 2 者では有意に低下し、Ctrn-KO マウスは、変化しなかった wild-type や mGPD-KO マウスのレベルになり、double-KO マウスではそれより有意に低いレベルになった。

Gln 濃度は、0.9%NaCl 溶液投与下で

double-KO マウスでは wild-type のレベルより有意に高かったが、いずれも他 2 者のレベルとは有意差がなかった。50%ショ糖溶液投与は wild-type の Gln レベルを有意に上昇させ、double-KO マウスの Gln レベルを有意に低下させた。Ctrn-KO と mGPD-KO マウスのレベルは変化がなかった。

これ以外のアミノ酸レベル、また、分枝アミノ酸 (BCAA) や BCAA/AAA 比、Thr/Ser 比などには有意な変化は見られなかった。

#### C. 考察

シトリン欠損症のモデルとなりうるマウスとして、Slc25a13 の遺伝子破壊マウスである Ctrn-KO マウスが最初に作成された (Sinasc et al. Mol Cell Biol 2004; 24(2):527-536)。このマウスはしかしながら、絶食時の脂肪肝を除いて、ほとんどのシトリン欠損症症状を示さなかった。その理由は、ヒトでは肝臓のグリセロリン酸シヤトル活性が弱い、げっ歯類では活性が高いことによると予想されたので、mGPD をも欠損する Ctrn/mGPD double-KO マウスを作成した。作出された double-KO マウスは血漿シトルリン高値、摂食時の高アンモニア血症、脂肪肝、低血糖などのシトリン欠損症で観察される多くの症状を示し、さらにショ糖投与による高アンモニア血症の増強も起こした。このことから double-KO マウスはヒトシトリン欠損症モデルマウスとして確立された (Saheki et al. J Biol Chem 2007;282: 25041-25052)。

本研究の目的は、**double KO** マウスの詳細な病態を明らかにし、病態に基づく治療法を確立することである。今回、ショ糖投与による肝臓内での代謝変動を検討した。メタボローム解析、それに続く酵素法による代謝中間体の測定、またはアミノ酸分析によって、ショ糖投与後の肝臓では以下の5つの代謝異常が明確となった。すなわち、1) G3P の顕著な蓄積と細胞質 NADH/NAD<sup>+</sup>比の上昇、2) TCA サイクル中間体濃度の低下、3) Citrulline 濃度の上昇、4) Lys 濃度の上昇、5) その他、である。

#### 1) G3P の顕著な蓄積と細胞質 NADH/NAD<sup>+</sup>比の上昇

肝臓 G3P 濃度は NaCl 投与の条件下でも高いレベルにあるが、ショ糖の投与で著しく高いレベルに上昇した。この現象は **double-KO** マウスに特異的であった。これは、細胞質 NADH をミトコンドリアへ輸送できないため、NADH が蓄積して解糖系の **glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase** の段階が阻害され、DHAP が G3P に還元されて生じる。事実、G3P/DHAP 比の上昇も観察され、細胞質 NADH の蓄積の結果であることが示された。肝臓 G3P 濃度は、シトリン欠損症の病態を感知する有力なマーカーと考えられる。

#### 2) TCA サイクル中間体濃度の低下

TCA サイクル中間体の肝内濃度は NaCl 投与下では **Ctrn-KO** マウスとともにむしろ高いレベルであった。このことは、シトリン (AGC) が乳酸からの糖新生に必須であることと関連すると考えられる。糖新生が抑制されることから TCA サイクル中間体濃度が上昇し、そのため、脂肪酸合成の

促進を起こしていると考える。同様の、TCA サイクル中間体の蓄積と脂肪酸合成の亢進という現象は、**phosphoenolpyruvate carboxykinase** 欠損マウスにおいて報告されている (**Burgess et al. J. Biol. Chem. 2004;279:48941-4894**)。ショ糖投与によって、**double-KO** マウスの TCA サイクル中間体濃度は低下した。この現象は、ショ糖投与によって解糖系が阻害された結果と考える。

#### 3) Citrulline 濃度の上昇

ショ糖投与時の高アンモニア血症の病態発生には、シトリン欠損による細胞質 Asp レベルの低下が原因と考えられるが、現在の方法では細胞質とミトコンドリアを分けて Asp を測定できない。そのため、ショ糖投与による Asp レベルの低下は観察されていない。しかし、**citrulline** レベルの著しい上昇がショ糖投与後に **double-KO** マウス肝臓において観察され、明らかに **citrulline** → **ASA** の段階が阻害されていると考えられるので、細胞質 Asp の欠如を伴っていると推測される。細胞質 Asp レベルの低下には、解糖系の抑制による TCA サイクルの抑制、それによるエネルギー産生の抑制もあり、Glu と Gln の分解の促進が起こり、Glu の低下も関わっていると考え。事実、両アミノ酸濃度はショ糖投与で低下している。また、**wild-type** と **mGPD-KO** マウスでは Ala 濃度がショ糖投与後上昇したが、**Ctrn-KO** と **double-KO** マウスでは増加せず、解糖系の阻害による Pyr の供給不足、および (または)、Glu 濃度の低下による Ala 合成の低下が原因と考えられる。**Ctrn-KO** マウスでは、グリセロリン酸シヤトルが活性のため、細胞質での NADH の



蓄積が起こらず、エネルギー産生障害は軽度であり、Ctrn (AGC) 欠損があっても、細胞質にオキザロ酢酸を介して Asp が生成し、尿素合成に異常をきたさないものと考えられる。なお、citrulline の増加、ASA の低下に比べ、Arg の減少は少ないので、Glu 分解を主とするアミノ酸分解とともに尿素合成の促進が同時に起こっていると推測している。

#### 4) Lys 濃度の上昇

Lys 濃度の上昇と Lys 代謝経路の阻害は、メタボローム解析によってはじめて得られた結果である。メタボローム解析では Lys 代謝経路の中間体である saccharopine、2-aminoadipic acid、N<sup>6</sup>-acetyllysine が検出できた。前 2 者の著しい低下と N<sup>6</sup>-acetyllysine の増加が Lys 濃度の上昇とともに見出されたことから、明らかに Lys → saccharopine の段階が阻害されていると断定される。Lys の増加はアミノ酸分析から統計的にも確認できた。この段階では  $\alpha$ -ketoglutarate が基質として必要であり、この濃度も減少していることから、Kamoun et al. (J Inherit Metab Dis 2002;25:1-6) が記載しているように、少なくとも、 $\alpha$ -KG の availability が低下していると考えられる。

#### 5) その他の変化

Wild-type マウスおよび mGPD-KO マウスではショ糖投与によって肝内 Ala 濃度の上昇が認められたが、Ctrn-KO と double-KO マウスでは上昇は見られなかった。これは、上述のように、Ctrn の欠損があると、解糖系の抑制があり、Pyr 産生が増加しないことと同時に Glu の低下を反映したものと考えられる。

## D. 結論

シトリン欠損症モデルマウスを用い、肝内で起こっていると思われる代謝異常を本マウスへのショ糖投与によって再現し、大きく 5 種の異常を検出した。これらの異常は基本的には、AGC 欠損による細胞質 Asp 供給不全とリンゴ酸・Asp シャトル機能不全による細胞質 NADH 蓄積を受けての解糖系阻害とオキザロ酢酸低下による Asp 供給不足に起因する代謝障害である。この改善を目指した治療法の開発が望まれる。

## C. 論文発表

1. Kimura A, Kage M, Nagata I, Mushiake S, Ohura T, Tazawa Y, Maisawa S, Tomomasa T, Abukawa D, Okano Y, Sumazaki R, Takayanagi M, Tamamori A, Yorifuji T, Yamato Y, Maeda K, Matsushita M, Matsuishi T, Tanikawa K, Kobayashi K, Saheki T. Histological findings in the livers of patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency. *Hepatol Res* 2010;40: 295-303.
2. Fukushima K, Yazaki M, Nakamura M, Tanaka N, Kobayashi K, Saheki T, Takei H, Ikeda S. Conventional diet therapy for hyperammonemia is risky in the treatment of hepatic encephalopathy associated with citrin deficiency. *Inter Med* 2010;49 (3): 243-247
3. Saheki T, Inoue K, Tushima A, Mutoh K, Kobayashi K. Citrin deficiency and current treatment concepts. *Mol Genet Metab.* 2010;100 Suppl 1:S59-64.

4. Pardo B, Rodrigues TB, Contreras L, Garzón M, Llorente-Folch I, Kobayashi K, Saheki T, Cerdan S, Satrústegui J. Brain glutamine synthesis requires neuronal-born aspartate as amino donor for glial glutamate formation. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2011;31(1): 90-101.
5. Fu HY, Zhang SR, Wang XH, Saheki T, Kobayashi K, Wang JS. e mutation spectrum of the SLC25A13 gene in Chinese infants with intrahepatic cholestasis and aminoacidemia. *J Gastroenterol.* 2010 Oct 7.
6. Ushikai M, Horiuchi M, Kobayashi K, Matuda S, Inui A, Takeuchi T, Saheki T. Induction of PDK4 in the heart muscle of JVS mice, an animal model of systemic carnitine deficiency, does not appear to reduce glucose utilization by the heart. *Mol Genet Metab.* 2010 Dec 9.

#### D. 学会発表

佐伯武頼、井上加奈子、津島杏弥、小野裕実、小林圭子、山本隆. シトリン欠損症モデルマウスの病態解析—発症誘導因子、嗜好および肝代謝—. 第 57 回日本実験動物学会 [2010.5.10]京都

Saheki T, Kobayashi K. Pathophysiology and therapy of citrin deficiency judging from analysis of the model mice. AASPP (Asia Africa Science Promotion Project) Joint Meeting at Beijin [May 24. 2010] Beijin, China

佐伯武頼、小林圭子. シトリン欠損症. 代

謝におけるアスパラギン酸・グルタミン酸ミトコンドリア膜輸送体の重要性—新規治療法の開発を目指して. 熊本大学生命資源研究・支援センターセミナー [2010.7.9] 熊本

Saheki T, Kobayashi K. Pathophysiology and therapy of citrin deficiency judging from analysis of the model mice. AASPP Symposium at Changchu [July 31, 2010] Changchu, China

佐伯武頼、桂菜摘、横川茉奈、吉積由加里、井上可奈子、小林圭子. シトリン欠損症モデルマウスはげっ歯類標準飼料 AIN-93M を嫌い、摂取量低下による体重減少が起こる. 第 52 回日本先天代謝異常学会 [2010.10.31] 大阪

Saheki T, Kobayashi K. Citrin deficiency: Pathophysiology and treatment based on animal model analysis. Asia Pacific Conference on Human Genetics [December 2. 2010] Hong Kong, China  
Invited speaker

佐伯武頼、井上可奈子、小野裕実、桂菜摘、横川茉奈、吉積由加里、小林圭子. Citrin 欠損症における糖質の毒性とたんぱく質（アミノ酸）・脂質の治療効果. 第 14 回日本病態栄養学会 [2011.1.16] 横浜 シンポジウム

## 成人型シトルリン血症(CTLN2)患者における食事摂取の特徴

研究分担者 池田修一 信州大学脳神経内科、リウマチ・膠原病内科  
共同研究者 矢崎正英 信州大学脳神経内科、リウマチ・膠原病内科  
共同研究者 福島和広 信州大学脳神経内科、リウマチ・膠原病内科  
共同研究者 中村未生 信州大学附属病院 栄養科

研究要旨：CTLN2患者の栄養特性を明らかにするために、39-52歳の男性患者5名の食事摂取を食事頻度調査にて検索した。平均蛋白質、脂質、炭水化物のエネルギー比（PFC比）は $19\pm 3\%:44\pm 5\%:37\pm 4\%$ であり、以前報告された若年層(1-33歳)のシトリン欠損症患者( $19\pm 2\%:44\pm 5\%:37\pm 7\%$ 、Saheki et al. J Inherit Metab Dis 2008)とほぼ一致していた。特にCTLN2患者は穀類摂取量が少なく、同世代の日本人平均の56%であった。また、一般的な日本人では脂質摂取量は加齢とともに低下するが、この傾向はCTLN2患者には見られなかった。今回の結果から、過去の若年層シトリン欠損症患者の結果と同様に、本研究における5名のCTLN2患者でも、低炭水化物、高蛋白・高脂質食が特徴的であり、そのPFC比は年齢やCTLN2の発症に影響されない可能性が示唆された。

### A. 研究目的

成人型シトルリン血症(CTLN2)は、シトリン欠損に起因し、肝性脳症を引き起こす疾患であるが、肝疾患に対する病院食である低蛋白食は、病態を悪化させることが報告されており、本症患者に対する適切な病院食を確立することは非常に重要である。今回、CTLN2患者の栄養特性を明らかにするために、39-52歳の男性患者5名の食事摂取を食事頻度調査にて検索した。

### B. 研究方法

本症患者（肝移植未施行）5名について（全例男性、39-52歳）、食事頻度調査を行い、その栄養特性について検索した。CTLN2の診断は、高アンモニア血症に伴う脳症症状の存在と、*SLC25A13*遺伝子解析結果に基づいて行った。

（倫理面への配慮）

全例に研究の主旨を説明し、調査に対する同意を得て研究を行った。

### C. 研究結果

患者5名の平均食事摂取熱量は $2445\pm 430$  kcal/dayであり、平均蛋白質、脂質、炭水化物のエネルギー比（PFC比）は $19\pm 3\%:44\pm 5\%:37\pm 4\%$ であった。本研究におけるCTLN2患者は特に穀類摂取量（ $309\pm 33$  g/day）が低く、同世代の日本人平均（ $553\pm 197$  g/day）の56%だった。通常、一般的な日本人では脂質摂取量は加齢とともに低下するが、この傾向はCTLN2患者には見られなかった。とりわけ、同年齢の日本人健常者に対して（ $73\pm 119$ g/day）、CTLN2患者で乳製品の摂取量が有意に多かった（ $309\pm 186$ g/day,  $p<0.01$ ）。

### D. 考察

同年代日本人男性における平均PFC比は、 $14\%:25\%:61\%$ であるため、患者の食事では、明らかに炭水化物の比率が低く、とくに脂質の比率が高かった。また過去に報告された、18名の若年シ



トリン欠損症患者(1-33歳、CTLN2発症者は1名)の平均 PFC 比とほぼ同程度であり(19±2%:44±5%:37±7%、Saheki et al. *J Inherit Metab Dis* 31:386-94,2008)、CTLN2患者でも低炭水化物、高蛋白・高脂質食が特徴であり、そのPFC比は年齢やCTLN2の発症に影響されない可能性が示唆された。

現在当院では、以上の結果を踏まえて、食事摂取熱量を1720 kcal/day、PFC比を15%:45%:40%とした食事をCTLN2患者の基本食として、患者へ提供している。

#### E. 結論

CTLN2患者の好む食事内容は、低炭水化物・高蛋白・高脂質食が特徴であり、そのPFC比は年齢やCTLN2の発症に影響されない可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Nakamura M, Yazaki M, Kobayashi Y, Fukushima K, Ikeda S, Kobayashi K, Saheki T, Nakaya Y: The characteristics of food intake in patients with type II citrullinemia. *J Nutr Sci Vitaminol*, 2011 in press.

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

## シトリン欠損症患者に対するピルビン酸ナトリウムの有効性の検討

研究分担者 大浦敏博 東北大学医学部非常勤講師、仙台市立病院小児科

### 研究要旨

シトリン欠損症には NICCD（シトリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞症）と CTLN2（成人型シトルリン血症 2 型）の年齢依存性の二つの病態が知られている。今回、33 歳で発症した CTLN2 患者にピルビン酸ナトリウムを投与し、その有効性を検討した。当初、低炭水化物食とアルギニン投与で治療を開始したが、改善が得られなかったため、第 111 病日よりピルビン酸ナトリウムを開始した。その後、アンモニア、シトルリン、PSTI は漸減し、中性脂肪はピルビン酸ナトリウム開始後 4 ヶ月で正常化した。ピルビン酸ナトリウム投与はシトリン欠損症に有用であると考えられた。

### A. 研究目的

成人型シトルリン血症 2 型を発症した 33 歳男性に対してピルビン酸ナトリウムを投与し、症状、検査値を指標として有効性、安全性について検討を行った。

### B. 研究方法

患者は入院後第 45 病日よりアルギ U<sup>®</sup>、低炭水化物食を開始。さらに第 111 病日よりピルビン酸ナトリウムを開始した。ピルビン酸ナトリウムは武蔵野化学研究所製の試薬を用いた。効果の判定は臨床症状、アンモニア、シトルリン、PSTI（膵分泌性トリプシンインヒビター）値で行い、入院日より 320 日間経過観察した。シトリンをコードする *SLC25A13* の変異解析は鹿児島大学分子病態生化学講座で行った。

#### （倫理面への配慮）

臨床試験にあたっては東北大学大学院医学系研究科、岩手県立一戸病院の倫理委員会の

承認を得た。また、試薬を転用したピルビン酸ナトリウム投与にあたっては患者・家族より書面で同意を取得した。

### C. 研究結果

症例：患者は 33 歳男性。突然の見当識、意識障害で発症、近医にて高アンモニア血症（ $400 \mu\text{g/dl}$  以上）を指摘され入院、シトルリン高値より成人型シトルリン血症 2 型と診断された。遺伝子検査では S225X/Q549X の複合ヘテロ接合体であった。また兄は新生児肝炎の既往だい歴があり、患者と同じ変異を有していたが、現在未発症である。

経過：図に経過を示した。第 45 病日より低炭水化物食（P:F:C=19:46:35）を開始した。しかし、その後もシトルリン値は  $13.2\text{mg/dl}$  と上昇、中性脂肪も  $1239\text{mg/dl}$  と著増した。アンモニアも  $150\text{-}200 \mu\text{g/dl}$  と高値で推移した。第 111 病日よりピルビン酸ナトリウムを  $3\text{g/}$ 日より開始。2 週間後に  $6\text{g}$ 、開始 1 か月（第

146 病日) 後に 9g/日まで増量し維持量とした。中性脂肪はピルビン酸ナトリウム開始後漸減し、正常化した。PSTI も 97ng/ml を最高に漸減したが、60 前後と高値で推移している。アンモニア値は 150 以下で、意識障害などの症状は見られなくなった。

#### D. 考察

シトルリンはミトコンドリア膜に存在し、そ

胞内の NADH/NAD<sup>+</sup>比が上昇し多彩な症状が引き起こされるものと考えられる。患者では MA シヤトルが機能しないためリンゴ酸・クエン酸 (MC) シヤトルを利用して NADH を酸化するものと想定されている。MC シヤトルが作動すると、アセチル CoA が細胞質に蓄積し、脂肪酸の合成が亢進する。今回、患者において中性脂肪が著増したのは細胞質に蓄積した NADH を酸化するための結果であると考えられる。

ピルビン酸ナトリウムは投与すると細胞質に入り、乳酸に変換される際に NADH が酸化され NAD<sup>+</sup>となり、細胞質内の NADH/NAD<sup>+</sup>比を改善すると考えられている。現在、シトルリン欠損症患者にピルビン酸ナトリウムを投与することで、細胞質内 NADH/NAD<sup>+</sup>比を改善し、代謝不全を是正することが期待されている。

今回提示した患者においても、ピルビン酸ナトリウム投与後中性脂肪値は徐々に改善し、PSTI、シトルリン値も漸減した。これは、ピルビン酸ナトリウムにより肝細胞内 NADH/NAD<sup>+</sup>比が改善し、代謝不全が是正されたものと推察される。シトルリン欠損症では炭水化物を摂取するとブドウ糖が解糖系で代謝される際に NADH が産生され代謝不全はさらに進行する。そのため、患者では低炭水化物食事療法が行われたが、高アンモニア血症、高シトルリン血症は改善せず、中性脂肪は更に上昇した。そこで、ピルビン酸ナトリ

ウムの機能はアスパラギン酸・グルタミン酸輸送体 (AGC) である。AGC はリンゴ酸・アスパラギン酸 (MA) シヤ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役割を担っている。AGC の機能喪失により細胞質内のアスパラギン酸が欠乏するのみならず、MA シヤトルの障害により肝細

ウムを投与したところ、アンモニア、シトルリン、PSTI 値はそれぞれ改善し、有用であったと考えられる。使用中、副作用は認められなかった。

#### E. 結論

33 歳で成人型シトルリン血症 2 型を発症した患者に低炭水化物食に加えてピルビン酸ナトリウムを併用したところ検査値、症状の改善を認めた。ピルビン酸ナトリウムはシトルリン欠損症のコントロールに有用であると考えられる。

謝辞：患者様のデータをお送り頂いた岩手県立一戸病院精神科 竹内淳子先生（現 十和田市立中央病院）に深謝します。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Kimura A, Kage M, Nagata I, Mushiake S, Ohura T, Tazawa Y, Maisawa S, Tomomasa T, Abukawa D, Okano Y, Sumazaki R, Takayanagi M, Tamamori A, Yorifuji T, Yamato Y, Maeda K, Matsushita M, Matsuishi T, Tanikawa K, Kobayashi K,



Saheki T. Histological findings in the livers of patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency. *Hepatol Res.* 40:295-303' 2010

- ・ 大浦敏博, シトリン欠損症. 小児科臨床ピクシス 23 「見逃せない先天代謝異常」 総編集 五十嵐隆、専門編集 高柳正樹 252-253、中山書店、東京 2010年12月

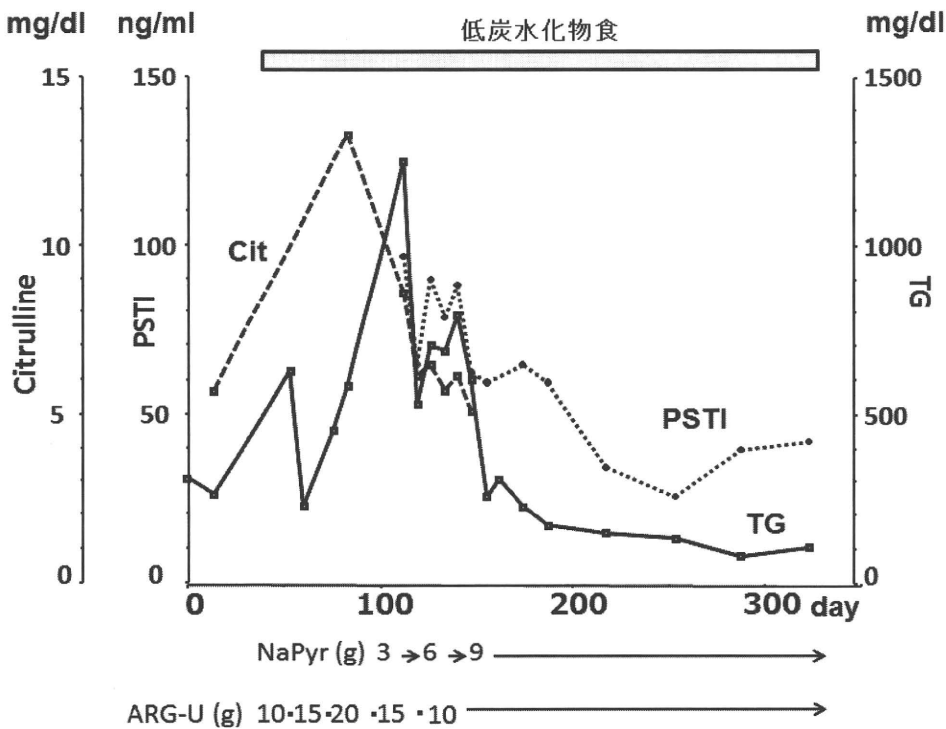
- ・ 第 52 回日本先天代謝異常学会、大阪 2010年10月21日～23日
- ・ 菊池敦生、坂本修、大浦敏博、呉繁夫：シトリン欠損症の迅速遺伝子診断. 第113回日本小児科学会、盛岡 2010年4月23～25日

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

2. 学会発表

- ・ 大浦敏博：シトリン欠損症マススクリーニングの可能性 (Feasibility of mass-screening for citrin deficiency).

図：治療経過および検査データの推移



## シトリン欠損症患者の倦怠感および QOL の実態解明に関する研究

小林京子 （東京大学大学院医学系研究科）

岡野善行 （大阪市立大学大学院医学研究科）

要約：シトリン欠損症の適応・代償期（見かけ状健康）において指摘される倦怠感の実態は、これまで明らかにされておらず、この時期の倦怠感と QOL との関連も明らかになっていない。そこで本研究は、シトリン欠損症患者の倦怠感と QOL の実態を PedsQL 倦怠感尺度および QOL 尺度を用いて明らかにするとともに、両者の関連を探索することとした。53 名のシトリン欠損症患者とその親 51 名からの回答を得、シトリン欠損症患者の倦怠感、健康な子どもに比して強く、QOL は低いことが明らかになった。また、倦怠感合計点と QOL 合計点間に、強い相関が示され、両者の関連が明らかになった。さらに、シトリン欠損症患者と親の倦怠感および QOL 評定の評価者間差は、中程度であり、親は患者自身よりも、倦怠感を低く、QOL を高く評定しており、患者自身よりも患者の健康状態を良好であると捉えていることが明らかになった。

### 研究共同者

神戸大学大学院保健学研究科 法橋尚宏

### A. 研究目的

シトリン欠損症は、申請時期に子宮内発育不全、肝内胆汁うっ滞症（NICCD）で発症、1 歳までに自然寛解する（Tamamori, et al., 2002, Tamamori, et al., 2004）。その後、幼児期から思春期は適応・代償期とされ、見かけ状健康とされる（Saheki & Kobayashi, 2002, 小林, 他, 2006）一方、食癖以上、成長障害、易疲労（倦怠感）などの症状が指摘されている。中でも、倦怠感、さまざまな疾患において、苦痛をともなう

症状の一つであること（Swain, 2000）、学齢期にあっては倦怠感が不登校の影響要因になっていることなど（Bakker, et al., 2009, Sankey, et al., 2006）、QOL に対する影響が指摘されており、シトリン欠損症患者においても、見かけ健康とされるこの時期の倦怠感が QOL を阻害している可能性がある。しかし、これまでにシトリン欠損症患者の倦怠感の実態を明らかにしたものはなく、倦怠感と QOL との関連も明らかになっていない。

さらに、小児の医療利用には、親が子どもの健康状態をどのように評定しているかが影響することがこれまでに報告されている。そのた

め、シトリン欠損症患者においても、患者自身の倦怠感・QOL 評定と親の評定の相違を明らかにすることは重要であろう。

そこで、本研究は、シトリン欠損症患者の倦怠感を定量的に明らかにすること、倦怠感とQOL との関連を示すこと、さらに、シトリン欠損症患者と親の倦怠感およびQOL に対する評定の評価者間差を探索することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 対象者

対象者は、シトリン欠損症で外来受診中の53名のシトリン欠損症患者とその親51名である。外来受診時に研究説明を行い、研究参加同意が得られたシトリン欠損症患者とその親からの質問紙への回答を得た。シトリン欠損症患者は平均年齢が8.85歳（範囲1～30歳）、性別は29名（54.7%）が男性であった。一方、親は母親が43名（84.3%）で、次いで父親4名（7.8%）、無回答4名（7.8%）であった。シトリン欠損症以外で定期的な受診の必要な疾患があるとしたものは3名（5.7%）であった。

### 2. 調査項目

#### (1) シトリン欠損症患者の倦怠感

倦怠感の評価には PedsQL Multidimensional Fatigue Scale 日本語版（以下 PedsQL 倦怠感尺度）（Kobayashi, Okano, & Hohashi, 2010）を用いた。PedsQL 倦怠感尺度は、米国の Varni, J. W. のより開発され（Varni, Seid, & Rode, 1999）、2010年2月現在23ヶ国で使用されている子どもの倦怠感の評価尺度で、あらゆる健康状態の子どもにも適用できる。尺度の構成は、18項目、3つの下位尺度「全般的な疲労について（6項目）」

「睡眠／休息時の疲労について（6項目）」「認知的疲労について（6項目）」のいずれかに属するものとなっている。

自己評価尺度と、同項目内容の代理評価尺度を備え、子ども自身の自己評価と親からみた子どもの倦怠感を代理評価尺度で評価することができる。自己評価尺度の適用年齢は、5-18歳、代理評価尺度の適用年齢は子どもの年齢で2-18歳となっており、2-4歳は親の代理評価のみとなる。過去1ヶ月間（5-7歳の自己評価は2-3週間）の疲労の状態について、5段階のリックターとスケール（全然大変でない：100点、少し大変：75点、まあまあ大変：50点、かなり大変：25点、とても大変：0点）で回答する。下位尺度得点および倦怠感合計得点はそれぞれに属する項目の得点の総和を有効回答数で割る算出する。有効回答数が50%以下の場合には倦怠感合計点または下位尺度得点は算出されない。得点範囲は0～100点で、高得点ほど倦怠感が低いことを示す。日本語版開発時のクロンバックの $\alpha$ 係数は、自己評価尺度0.87、代理評価尺度0.93、本研究では自己評価尺度0.62、代理評価尺度0.94であった（Kobayashi, Okano, & Hohashi, 2010）。

#### (2) シトリン欠損症患者のQOL

QOLの評価には、子どものQOL包括尺度であるPedsQL Generic Core Scales 日本語版（以下PedsQL QOL尺度）（Kobayashi & Kamibeppu, 2010）を用いた。WHOの健康の概念（WHO,1948）に基づいて開発され、23項目、4つの下位尺度（身体的機能：8項目、感情の機能：5項目、社会的機能：5項目、学校：5項目）から構成される。得点の算出方法、得点範囲はPedsQL倦怠感尺度と同様である。高い

得点ほど高い QOL を示す (Varni, Seid, & Rode, 1999).

クロンバックの係数は、自己評価尺度 0.64 ~ 0.85, 代理評価尺度 0.90 ~ 0.92 が報告されている (Kobayashi & Kamibeppu, 2010).

### 3. 分析方法

シトリン欠損症患者の倦怠感および QOL の実態として、PedsQL 倦怠感尺度および PedsQL QOL 尺度の平均得点を算出した。また、先行研究で得られた疾患をもたない健康児の得点 (Kobayashi, Okano, & Hohashi, 2010) との比較を Mann-Whitney の U 検定を用いて行った。さらに、健康児の PedsQL 倦怠感尺度得点および PedsQL QOL 尺度得点からパーセンタイル値を得、25 パーセンタイル未満、50 パーセンタイル未満、75 パーセンタイル未満、75 パーセンタイル以上のそれぞれにあてはまるシトリン欠損症患者の人数を集計した。

倦怠感と QOL の関連は、PedsQL 倦怠感尺度得点と PedsQL QOL 尺度得点間の Spearman の順位相関係数を算出することで検討した。効果量は、Cohen の効果量 (Cohen, 1988) に従い、相関係数の絶対値 0.1 以上 0.30 未満を小、0.30 以上 0.50 未満を中、0.50 以上を大とした。

患者-親間の倦怠感および QOL 認識についての評価間差は、シトリン欠損症患者とその親の双方の回答が得られた 36 組を用いて解析した。評価間差の指標として用いられる相関係数 (Spearman の順位相関係数)、級内相関係数を算出し、一致度は Cohen の効果量に基づき (Cohen, 1988)、絶対値の 0.1 以上 0.30 未満を小、0.30 以上 0.50 未満を中、0.50 以上を大と

した。また、評価者間の得点差を親の代理評価得点から患者の自己評価得点の減算の絶対値を算出し、平均点を評価間の絶対差とした。さらに、親の代理評価得点から患者の自己評価得点の減算を行い、平均点を差の方向性とした。差の方向性については、下位尺度間の差の方向性の平均点を比較するために、それぞれの平均点を標準偏差で除し、下位尺度ごとの平均点の差を標準化した (d) (Sneeuw, et al., 1998, Sneeuw, et al., 1997)。d は、0.2 以上 0.5 未満を小、0.5 以上 0.8 未満を中、0.8 以上を大とした (Cohen, 1988)。

全ての統計解析には IBM SPSS 14.0 for Windows を用いた。

### C. 研究結果

#### 1. 倦怠感と QOL の実態

シトリン欠損症患者の PedsQL 倦怠感尺度の自己評価および代理評価の平均点を表 1 に示した。先行研究における健康児との平均点と比較すると、シトリン欠損症患者の自己評価では、全般的疲労 ( $P < 0.00$ )、認知的疲労 ( $P = 0.01$ )、倦怠感合計 ( $P = 0.001$ ) に健康児との有意な差が明らかとなり、親の代理評価では、認知的疲労を除く全ての下位尺度得点と合計点で有意な差が示された。

また、健康児の PedsQL 倦怠感尺度および QOL 尺度得点のパーセンタイル値それぞれに対するシトリン欠損症患者の得点分布を図 1, 2 に示した。健康児の 50 パーセンタイル値以下のシトリン欠損症患者は、PedsQL 倦怠感尺度で 31 人 (79%)、PedsQL QOL 尺度で 25 人 (67%) であった。