

201024159A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

先天性ケトン体代謝異常症（HMG-CoA 合成酵素欠損症、
HMG-CoA リアーゼ欠損症、 β -ケトチオラーゼ欠損症、
SCOT 欠損症）の発症形態と患者数の把握、
診断治療指針に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 深 尾 敏 幸

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

- 先天性ケトン体代謝異常症(HMG-CoA合成酵素欠損症、HMG-CoAリアーゼ欠損症、 β -ケトチオラーゼ欠損症、SCOT欠損症)の発症形態と患者数の把握、診断治療指針に関する研究 1
- 研究代表者 深尾敏幸 (岐阜大学)

II. 分担研究報告

1. ケトン体代謝異常症に関するアンケート調査に関する研究
研究分担者 深尾敏幸 (岐阜大学) 7
2. サクシニル-CoA：3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症の長期経過に関する研究
研究分担者 新宅治夫 (大阪市立大学) 11
3. SCOT欠損症が疑われたがSCOT活性から否定された症例に関する研究
研究分担者 堀川玲子 (国立成育医療センター) 15
4. HMG-CoA リーゼ欠損症の化学診断
研究分担者 重松陽介 (福井大学) 17
5. タンデムマス・有機酸診断、診断指針作成、症例スクリーニング
日本人とアジアの β ケトチオラーゼ欠損症の代謝プロフィールの比較、および *in vitro* probe assay によるケトン体代謝異常診断法の検討
研究分担者 山口清次 (島根大学) 19
6. ケトン体代謝異常症の急性期治療に関する研究
研究分担者 高柳正樹 (千葉こども病院) 25
7. T2欠損症の遺伝子診断に関する研究 MLPA法の確立
研究分担者 深尾敏幸 (岐阜大学) 27

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・別冊 33

I. 厚生労働科学研究費補助金統括研究報告書

先天性ケトン体代謝異常症（HMG-CoA 合成酵素欠損症、
HMG-CoAリアーゼ欠損症、 β -ケトチオラーゼ欠損症、
SCOT欠損症）の発症形態と患者数の把握、
診断治療指針に関する研究

研究代表者 深尾敏幸（岐阜大学）

統括研究報告書

先天性ケトン体代謝異常症（HMG-CoA 合成酵素欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症、 β -ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症）の発症形態と患者数の把握、診断治療指針に関する研究

研究代表者 深尾敏幸 岐阜大学大学院医学系研究科教授

研究要旨

「先天性ケトン体代謝異常症（HMG-CoA 合成酵素欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症、 β -ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症）の発症形態と患者数の把握、診断治療指針に関する研究」班において、1) 全国アンケート調査による患者数の把握を行い、本年度は2次調査も実施でき、特に HMG-CoA リアーゼ欠損症の症例把握、長期経過が明らかとなった。2) HMG-CoA リアーゼ欠損症の有機酸、アシルカルニチン解析結果を検討した。3) 典型的 SCOT 欠損症の臨床経過、SCOT 欠損症が疑われたが活性測定で正常であった症例の臨床経過を検討した。4) 日本を含むアジアにおける β -ケトチオラーゼ欠損症の有機酸、アシルカルニチン分析の検討で、日本人症例の特徴を明らかにできた。5) β -ケトチオラーゼ欠損症の遺伝子診断において MLPA 法を確立し新たな変異を同定した。6) β -ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症などにおけるケトアシドーシス発作時の治療についての検討を加えた。これらの解析を次年度につなげ、ケトン体代謝異常症の診断治療指針を作成する予定である。

研究分担者

深尾敏幸・岐阜大学大学院医学系研究科教授
山口清次・島根大学医学部教授
重松陽介・福井大学医学部看護学科教授
高柳正樹・千葉県こども病院医療局長
新宅治夫・大阪市立大学大学院教授
堀川玲子・国立成育医療センター・第一
専門診療部内分泌代謝科医長

A. 研究目的

小児期にはケトアシドーシスによく遭遇する。一方重篤なケトアシドーシスの中には死亡したり、後遺症を残すような先天性ケトン体代謝異常症が含まれている。先天性ケトン体代謝異常症である β -ケトチオラーゼ (T2) 欠損症とサクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ (SCOT) 欠損症は、合わせても世界で130例程度、日本で十数家系の報告しかない稀な先天代謝異常症である。

研究代表者らは、世界各地から T2 欠損症、SCOT 欠損症の報告例の大半の臨床情報、細胞を集め、診断および分子病態解析を行ってきた。これら疾患の臨床および研究に関して日本の研究代表者らが世界をリードしており、情報発信を続けることが重要である。

これらの疾患は診断が難しい疾患であり、日常診療の中ではいわゆる周期性嘔吐症（自家中毒）と区別がつきにくく診断が適切になされないために重篤なケトアシドーシスを繰り返し、中には精神発達遅滞をきたしたり死亡することもある疾患である。しかし診断さえつければ、高価な治療法を必要とせず、発作を未然に防ぎ正常発達ができる疾患である。そこにこれらの疾患の診断の重要性がある。研究代表

者らにより、両疾患ともに非典型例が存在し、診断されていない例が多く存在する可能性が示唆されている。

一方ケトン体産生障害を来す HMG-CoA 合成酵素欠損症と HMG-CoA リアーゼ欠損症については、日本において前者の報告はなく、後者についても数例が報告されているのみで、その臨床経過、予後についても不明である。

そこで本研究の目的は、これまで行ってきたケトン体利用障害の β -ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症に加えて、ケトン体産生障害の HMG-CoA 合成酵素欠損症と HMG-CoA リアーゼ欠損症の発症形態の把握、患者数の把握、診断治療に関する研究を行い、これら疾患の早期発見、早期治療、QOL の向上をめざし、この2年間で4疾患に対する診断治療指針を作成、広く周知することである。

B. 研究方法

1) 国内患者把握のためのアンケート調査

1次調査

実際に日本でどの程度の患者がいるのか？について全国調査を行った。昨年度の研究班では β -ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症、原因不明のケトアシドーシスの症例についてのアンケートを行ったが、本年度はそれに加え HMG-CoA 合成酵素欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症、原因不明の非ケトン性低血糖症についてのアンケートを行った。ケトアシドーシス発作、非ケトン性低血糖発作を来した症例は開業医や小児科医のいない施設での治療は行われないと考えられ、小児科専門医研修施設へのアンケート調査とした。

2次調査

昨年度および本年度の1次調査にて「症例あり」の

うち既に把握されていたβ-ケトチオラーゼ欠損症、SCOT欠損症の症例を除いて、詳細な臨床経過、臨床検査結果、予後に関する調査を行った。

2) 診断治療指針作成のための検討

研究班を組織し、図1に示すように2年度～23年度の計画を立てた。

本年度は昨年度まとめたβ-ケトチオラーゼ欠損症、SCOT欠損症に関する診断指針を広く配布して、疑われる症例の相談を受け臨床にフィードバックする1年目であり、HMG-CoA合成酵素欠損症、HMG-CoAリアーゼ欠損症にかんしては、その臨床診断、化学診断を検討、アンケート結果のまとめを行った。また本年度からは堀川班、中村班との協力体制により7名の研究協力者を得て、広く情報収集を可能とした。

3) 酵素診断および遺伝子診断のセンター的機能の充実

上記アンケート調査を行うのに先立ち、HMG-CoA合成酵素欠損症とHMG-CoAリアーゼ欠損症の遺伝子検査実施体制を整え、いつでも依頼があれば解析出来るように準備した。

β-ケトチオラーゼ欠損症、SCOT欠損症については日本の症例を含めて酵素診断、遺伝子変異の同定を引き続き行った。遺伝子の一部欠失例の変異同定についてMLPA法の独自開発をおこなった。検またT2欠損およびSCOT欠損の病態のよりよき理解のために欠損細胞におけるマイクロアレイ解析を行った。

(倫理面への配慮)

臨床情報を収集する場合も連結可能匿名化とする。遺伝子変異解析については『先天性ケトン体代謝異常症の診断と遺伝子解析に関する研究』として岐阜大学医学研究等倫理委員会の承認を既に得ており、十分なインフォームドコンセントを得て、承諾書に署名を得て行った。また今回のアンケート調査においては『先天性ケトン体代謝異常症(HMG-CoA合成酵素欠損症、HMG-CoAリアーゼ欠損症、β-ケトチオラーゼ欠損症、SCOT欠損症)の発症形態と患者数の把握のための疫学調査』として岐阜大学医学研究等倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

1) 国内患者把握のためのアンケート調査

(分担報告書 深尾敏幸 1)

本年度は515施設に1次調査を送付し380施設から回答を得た(回答率74%)。HMG-CoAリアーゼ欠損症は本邦にて数例の報告があるが、5例が症例として報告された。HMG-CoA合成酵素欠損症の報告は本邦ではこれまでなく、アンケートでもやはり症例として報告されなかった。β-ケトチオラーゼ(T2)欠損症は6例、SCOT欠損症は5例の報告があった。

HMG-CoAリアーゼ欠損症について: 5例の1

次調査の結果および有機酸スクリーニング、タンデムマススクリーニングを行っている施設、本研究班の研究協力者からの情報で追加4名の計9症例について2次調査を行った。1例は追跡の結果重複(2施設からの報告)であり、実際本邦での把握症例は8症例であった。そのうち2症例は現在追跡調査が不明であった。8例中4例が生後1-4日に低血糖、ほ乳不良、低体温、嗜眠などで発症し、代謝性アシドーシス、低血糖をきたし、その他の4例は生後3ヶ月～2歳2ヶ月に感染症にともなって嘔吐、痙攣、昏睡などで発症していた。発作回数は1例が1回に実で、多くの症例は診断してコントロール中にも発作がみられ、15歳でも発作を来していた。この調査により我が国におけるHMG-CoAリアーゼ欠損症の臨床経過や予後が明らかになった。

2) 診断治療指針作成のための検討

A) サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症の長期経過に関する研究

(分担報告書 新宅治夫)

研究分担者新宅は、日本のサクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症の症例のうち残存活性をもたない兄弟例と残存活性をもつ1例の3例を実際に診療しており、世界の既報告の5例と臨床像の比較検討を行った。残存活性をもたない変異の症例である症例6と7の兄弟例では、学童期にはいっても尿ケトンには常に陽性、血中のケトン体が高いことが明らかになり、また精神発達、成長ともに問題がないことが示された。なかなか長期経過の十分な報告は世界でもなく、貴重なフォローアップデータである。

B) SCOT欠損症疑い例(SCOT活性正常)の経過について

(分担報告書 堀川玲子)

研究分担者堀川らによって検討された症例は、発症時の症状、臨床検査所見からは、SCOT欠損症が疑われ、酵素診断が行われたが、SCOT欠損症は否定的であり、間欠期の経過、検査所見からはSCOT欠損症とは異なっていた。このような症例の経過を検討することはSCOT欠損症の臨床像を理解する上でも重要であり、今後の課題でもある。

C) HMG-CoA リーゼ欠損症の化学診断

(分担報告書 重松陽介)

研究分担者重松は、HMG-CoA リーゼ欠損症の新生児マススクリーニングおよび化学診断の指標について、既診断例2例で検討した。血中アシルカルニチン分析では、C5OHアシルカルニチン(3-hydroxyisovalerylcarnitine)とC6DCアシルカルニチン(methylglutarylcarnitine)の濃度が増加していた。尿有機酸分析では、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸と3-ヒドロキシイソ吉草酸をはじめとする疾患特異的な有機酸が確認された。新生児期ろ紙血でのアシルカルニチンは確認できなかったが、血中C5OHアシルカルニチンの上昇は無症状間歇期にも確認されているのでスクリーニング指標として有用と考えられ、尿有機酸分析で確実な化学診断が可能であると判断された。

D) β-ケトチオラーゼ欠損症のタンデムマス

分析, 有機酸分析の検討

(分担報告書 山口清次)

研究分担者山口は、 β ケトチオラーゼ欠損症の日本人患者と、日本以外のアジア諸国の患者の尿中有機酸、血中アシルカルニチン所見を比較した。日本人患者のうち尿中有機酸異常(2-メチル-3-ヒドロキシ酪酸の上昇)が検出されたのは7例中6例であった。血中アシルカルニチン分析では、7例中3例で異常(C5:1またはC5-OHの上昇)が観察された。これに対し、アジア諸国の患者では、28例中全例に尿中有機酸分析で異常がみられ、血中アシルカルニチンは、C5:1の上昇は23/28例、C5-OHの上昇が20/28例と異常が高頻度に検出された。さらに有機酸排泄量、血中アシルカルニチン濃度もアジア諸国の患者の方が高い傾向がみられた。アジア諸国では日本よりも本症の頻度は高く、異常有機酸、アシルカルニチンの量も高い可能性がある。日本人では β ケトチオラーゼ欠損症は発見しにくい傾向があり、新生児マススクリーニングでも見逃す可能性があることに注意すべきであることを明らかにした。

E) ケトン体代謝異常症の急性期治療に関する研究

(分担報告書 高柳正樹)

研究分担者高柳は、ケトン体代謝異常症の急性期治療に関する検討を行った。これは次年度の診断治療指針作成のための重要なステップであり、臨床実地上、ケトン体合成の抑制、低血糖、アシドーシスの治療について、過去の症例報告、総説、教科書をレビューした上で、指針案とした。

3) 酵素診断および遺伝子診断のセンター的機能の充実.

A) *in vitro* probe assayによるケトン体代謝異常診断法の検討

(分担報告書 山口清次)

培養細胞とタンデムマスを組み合わせる *in vitro* probe assay を応用してケトン体代謝異常の酵素的スクリーニング法の開発のための基礎的検討を行った。すなわちケトン体を培養液に添加して最終産物であるアセチルカルニチンの量を比較した。しかし正常とケトン体代謝異常に有意な差は観察できなかった。またC4-OHは、ケトン体負荷後にすべての細胞において著明な増加がみられた。これは添加したケトン体がカルニチン縫合された3-ヒドロキシブチリルカルニチンを反映しているものと思われる。今後、負荷するケトン体濃度をかえたり、安定同位体ラベルの基質の負荷、脂肪酸を負荷した時の変化等について再検討する予定である。

B) 酵素診断および遺伝子診断のセンター的機能の充実 (T2欠損症の遺伝子診断に関する研究 MLPA法の確立)

(分担報告書 深尾敏幸 2)

T2欠損症の遺伝子診断において、遺伝子内の1つ以上のエクソンを含む挿入、欠失変異は、その代表が遺伝子内の1つ以上のエクソンを含む欠失や挿入変異は、ゲノムPCR-ダイレクトシーケンス

法では同定できないため問題である。MLPA法はエクソンのコピー数の異常を検出する感度のいい方法であり、多くの疾患では既製のMPLAプローブキットが販売されている。しかし稀な疾患においては独自で作成する必要がある、今回T2欠損症についてMLPA法を独自で作成して、このような遺伝子内欠失、挿入変異を検出することが可能とすることができた。

D. 考察

本研究班は、平成21年度に難治性疾患克服事業の研究奨励分野として採択された「先天性ケトン体代謝異常症(β -ケトチオラーゼ欠損症、サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症)の発症形態と患者数の把握、診断指針に関する研究」をさらに拡大し、「先天性ケトン体代謝異常症(HMG-CoA合成酵素欠損症、HMG-CoAリアーゼ欠損症、 β -ケトチオラーゼ欠損症、SCOT欠損症)の発症形態と患者数の把握、診断治療指針に関する研究」として本年度調査研究を行ってきた。本年度は新たに対象疾患として加えたHMG-CoAリアーゼ欠損症について、我が国における症例把握、臨床経過と予後に重要な知見を得ることができた。その一方、HMG-CoA合成酵素欠損症と診断された例はなく、疑いの症例も1次調査で拾い上げなかった。この疾患についての啓蒙の必要性を感じた。これらを来年度の診断治療指針作成に生かしたい。

また昨年度作成した「 β -ケトチオラーゼ欠損症、SCOT欠損症に関する診断指針」を配布したことにより、症例の相談、酵素診断の依頼件数も倍増し、昨年度の研究が、臨床にフィードバックできていることが明らかとなった。あらたにSCOT欠損症2症例を診断できた。

本年度は β -ケトチオラーゼ欠損症の遺伝子診断におけるMLPA法を確立でき、診断精度をあげることができた。つづいてSCOT欠損症の遺伝子診断精度をあげることが目標にしたい。

1名でも多くの先天性ケトン体代謝異常症の児が適切に診断されればと期待している。診断さえ適切につければ、安価なグルコースで治療できる先天性ケトン体代謝異常症をいかにして見逃さず、すべての症例が適切に診断され、後遺症なく成長してもらえるかということについてさらに今後活動していきたい。

E. 結論

平成22年度難治性疾患克服研究事業、研究奨励分野の「先天性ケトン体代謝異常症(HMG-CoA合成酵素欠損症、HMG-CoAリアーゼ欠損症、 β -ケトチオラーゼ欠損症、SCOT欠損症)の発症形態と患者数の把握、診断治療指針に関する研究」班にて、
1) 国内患者把握のためのアンケート調査を1次、2次調査と行い、我が国のHMG-CoAリアーゼ欠損症の患者把握、臨床経過、予後について貴重な情報を得、また2) 診断治療指針作成のための検討において各方面から検討を加え、来年度に4疾患の診断臨床指針を作成する貴重な研究となり、3)

酵素診断および遺伝子診断のセンター的機能の充実をはかることができた。

F. 健康危険情報 該当なし

G 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fukao T, Horikawa R, Naiki Y, Tanaka T, Takayanagi M, Yamaguchi S, Kondo N: A novel mutation (c.951C>T) in an exonic splicing enhancer results in exon 10 skipping in the human mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase gene. *Mol Genet Metab* 100:339-344, 2010
- 2) Fukao T, Ishii T, Amano N, Kursula P, Takayanagi M, Murase K, Sakaguchi N, Kondo N, Hasegawa T. A neonatal onset succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT)-deficient patient with T435N and c.658-666dupAACGTGATT p.N220_I222dup mutations in the OXCT1 gene. *J Inherit Metab Dis.* 33:636, 2010
- 3) Hori T, Fukao T, Kobayashi H, Teramoto T, Takayanagi M, Hasegawa Y, Yasuno T, Yamaguchi S, Kondo N. Carnitine palmitoyltransferase 2 deficiency: The time-course of blood and urinary acylcarnitine levels during initial L-carnitine supplementation. *Tohoku J Exp Med* 221:191-195, 2010
- 4) Fukao T, Sass JO, Kursula P, Thimm E, Wendel U, Ficicioglu C, Monastiri K, Guffon N, Varic I, Zobot M-T, Kondo N. Clinical and molecular characterization of five patients with Succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) deficiency *Biochimica Biophysica Acta Molecular Basis of Disease* in press
- 5) Endo M, Hasegawa Y, Fukuda S, Kobayashi H, Yotsumoto Y, Mushimoto Y, Li H, Purevsuren J, Yamaguchi S: In vitro probe acylcarnitine profiling assay using cultured fibroblasts and electrospray ionization tandem mass spectrometry predicts severity of patients with glutaric aciduria type2. *Journal of Chromatography B* 878: 1673-1676, 2010
- 6) Li H, Fukuda S, Hasegawa Y, Kobayashi H, Purevsuren J, Mushimoto Y, Yamaguchi S: Heat Stress Deteriorates Mitochondrial β -Oxidation of Long-chain Fatty Acids in Cultured Fibroblasts with Fatty Acid β -Oxidation Disorders. *Journal of Chromatography B* 878(20): 1669-1672, 2010
- 7) Kawana S, Nakagawa K, Hasegawa Y, Yamaguchi S: Simple and rapid analytical method for detection of amino acids in blood using blood spot on filter paper,fast-GC/MS and isotope dilution technique. *Journal of Chromatography B* 878: 3113-3118, 2010

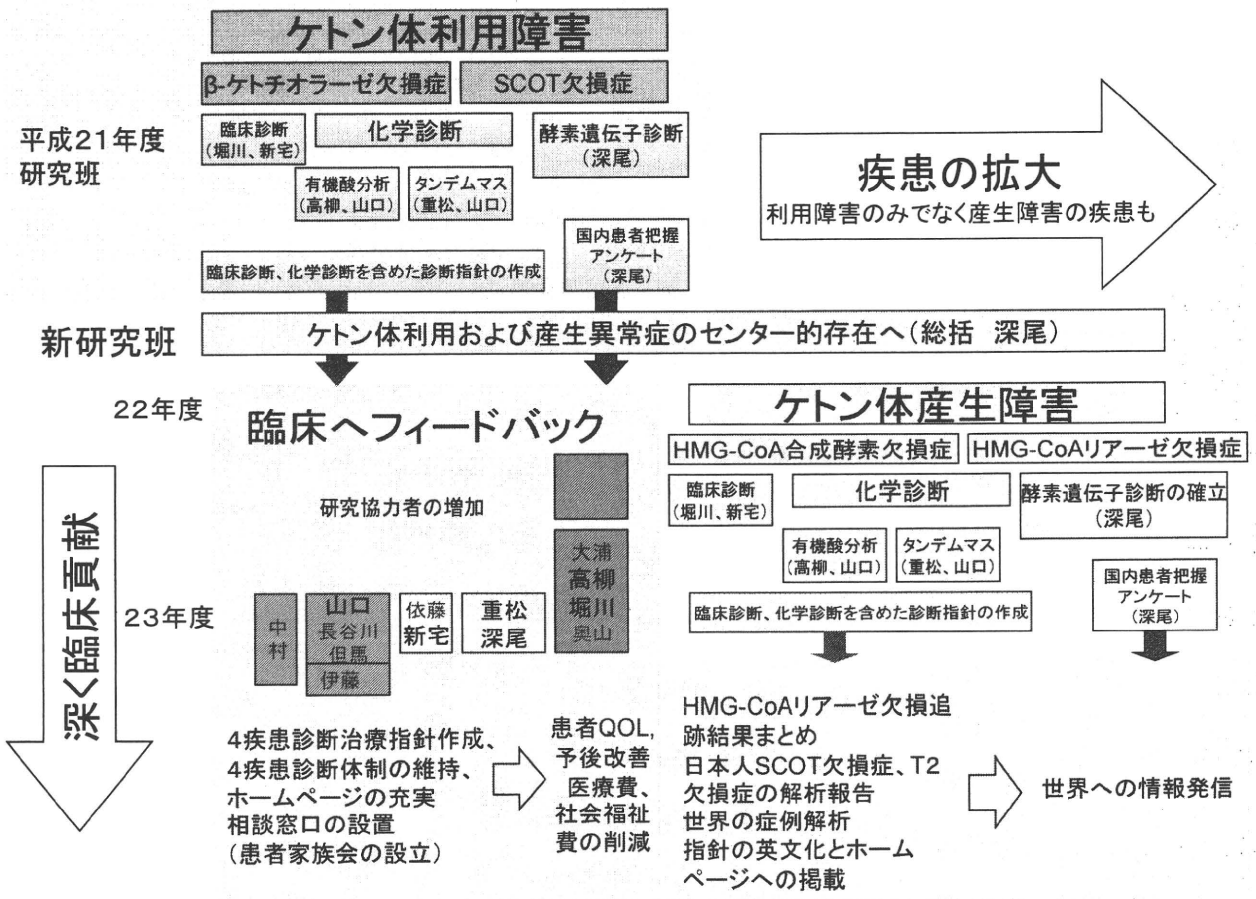
2. 学会発表

- 1) Fukao T, Maruyama S, Ohura T, Toyoshima M, Mushimoto Y, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Kondo N. Subtle abnormality in urinary organic acid and blood acylcarnitine

- profiles may result in misdiagnosis of beta-ketothiolase (T2) deficiency with mild mutations. 2010 Annual symposium of Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. August 31-September 3, 2010 (Istanbul, Turkey)
- 2) Fukao T, Sass, JO, Thimm E, Wendel U, Ficicioglu C, Monastiri K, Guffon N, Baric I, Zobot M-T, Kondo N. Clinical and molecular studies of five patients with succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase deficiency. 2010 Annual symposium of Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. August 31-September 3, 2010 (Istanbul, Turkey)
 - 3) Yamaguchi S: Heat Stress and Acute Encephalopathy in Childhood due to Inherited Organic and Fatty Acid Disorders. International Symposium on Epilepsy in Neurometabolic Diseases. Taipei, Taiwan, March 2010
 - 4) Mushimoto Y, Hasegawa Y, Kobayashi H, Li H, Purevsuren J, Fukuda S, Yamaguchi S: Clinical and genetic investigation of 12 Japan cases of glutaric acidemia type1. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. Fukuoka, March 2010
 - 5) Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Li H, Mushimoto Y, Yamaguchi S: Developed diagnostic method for carnitine cycle disorders using in vitro acylcarnitine probe assay. The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. Fukuoka, March 2010
 - 6) Yamaguchi S: Pediatric emergency and nutritionally treatable inborn errors of metabolism. 7th Asia-pacific regional meeting of the international society for neonatal screening, Lecture. Indonesia, October 2010
 - 7) Yamaguchi S: Expanded newborn screening in JAPAN and the benefit for collaboration with developing countries.. 7th Asia-pacific regional meeting of the international society for neonatal screening, Symposium. Indonesia, October 2010
 - 8) Yamaguchi S: Organic acidemia and its treatment in JAPAN. 7th Asia-pacific regional meeting of the international society for neonatal screening, Symposium. Indonesia, October 2010
 - 9) 深尾敏幸、山口清次、重松陽介、高柳正樹、新宅治夫、堀川玲子 「先天性ケトン体代謝異常症の発症形態と患者数の把握、診断指針に関する研究」 班 先天性ケトン体代謝異常症(T2 欠損症、SCOT 欠損症)の診断指針—日本での診断された症例の検討から 第52回日本先天代謝異常学会総会 10月21~23日、大阪、2010
 - 10) 深尾敏幸、堀友博、近藤直実: サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ(SCOT)欠損症5症例の検討。 第52回日本先天代謝異常学会総会 10月21~23日、大阪、2010
 - 11) 堀友博、深尾敏幸、深澤佳絵、寺澤大祐、近藤直実: 間欠的嘔吐、不機嫌で発症した男児遅発性 OTC 欠損症の1例。 第52回日本先天代謝異常学会総会 10月21~23日、大阪、2010

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし



II. 厚生労働科学研究費補助金分担研究報告書

先天性ケトン体代謝異常症（HMG-CoA 合成酵素欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症、β-ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症）の発症形態と患者数の把握、診断治療指針に関する研究

分担研究課題：ケトン体代謝異常症に関するアンケート調査に関する研究

研究分担者 深尾敏幸 岐阜大学大学院医学系研究科

研究要旨

「先天性ケトン体代謝異常症（HMG-CoA 合成酵素欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症、β-ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症）の発症形態と患者数の把握、診断治療指針に関する研究班」の患者数の把握、その臨床像、予後を調査する目的にて平成 22 年度にアンケート調査を行った。2 次調査をおこなうことで、今回日本における HMG-CoA リアーゼ欠損症の臨床的特徴について明らかとなった。本症の予後は必ずしもよくなく、本症の早期診断、早期治療は本研究の課題であると考えられた。

A. 研究目的

「先天性ケトン体代謝異常症（HMG-CoA 合成酵素欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症、β-ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症）の発症形態と患者数の把握、診断治療指針に関する研究班」の患者数の把握、その臨床像、予後を調査する目的にて平成 22 年度にアンケート調査を行った。

B. 研究方法

HMG-CoA 合成酵素欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症、β-ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症の 4 疾患は発症すれば救急対応可能な小児科専門医研修施設を受診、加療を受けることが想定されるため、全国の 515 の小児科専門医研修施設について 1 次アンケートを実施した。アンケート用紙を送付し、4 疾患および、原因不明の重篤なケトアシドーシス発作の症例（β-ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症の未診断候補症例）および、原因不明の非ケトン性低血糖発作症例（HMG-CoA 合成酵素欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症）の有無について回答をお願いした。また有機酸スクリーニング、タンデムマススクリーニングを行っている施設、本研究班の研究協力者に対しても、同様のアンケートを行った。症例があったという回答の病院および検査施設や研究協力者から症例があると情報を得た病院に対して二次調査用紙

を送付し、患者臨床情報を収集した。

（倫理面への配慮）

本研究は「先天性ケトン体代謝異常症（HMG-CoA 合成酵素欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症、β-ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症）の発症形態と患者数の把握のための疫学調査」として岐阜大学医学研究等倫理審査委員会の承認を経て、個人情報保護に配慮して行った。

C. 研究結果

1) 一次調査

本年度は 515 施設に 1 次調査を送付し 380 施設から回答を得た（回答率 74%）（表 1）。

HMG-CoA リアーゼ（HMGL）欠損症は本邦にて数例の報告があるが、5 例が症例として報告された。

送付先	515
返信	380(回答率74%)
症例無し	348
症例あり	29
HMGL欠損症	5
HMGS欠損症	0
T2欠損症	6
SCOT欠損症	5
severe KA	13
Non K hypoG	5

HMG-CoA 合成酵素（HMGS）欠損症の報告は本邦ではこれまでなく、アンケートでもやはり症例として報告されなかった。β-

ケトチオラーゼ（T2）欠損症は 6 例、SCOT 欠損症は

5例の報告があった。

2) 二次調査

HMG-CoA リアーゼ欠損症：5例の1次調査の結果および有機酸スクリーニング、タンデムマススクリーニングを行っている施設、本研究班の研究協力者からの情報で追加4名の計9症例について2次調査を行った。1例は追跡の結果重複（2施設からの報告）であり、実際本邦での把握症例は8症例であった（表2）。そのうち2症例は現在追跡調査が不明であった。8例中4例が生後1-4日に低血糖、ほ乳不良、低体温、嗜眠などで発症し、代謝性アシドーシス、低血糖をきたし、その他の4例は生後3ヶ月～2歳2ヶ月に感染症にともなって嘔吐、痙攣、昏睡などで発症していた。発作回数は1例が1回に実で、多くの症例は診断してコントロール中にも発作がみられ、15歳でも発作を来していた。

D. 考察

平成21年度にβ-ケトチオラーゼ欠損症、SCOT欠損症に対して行った1次調査では523施設に送付し、378施設から回答を得ており（回答率72%）、ほぼ同様の回答率をえることができた。これも昨年2疾患の診断指針の送付などフィードバックをおこなったことで、高い回答率を得ることができたと考えている。

一次調査にてβ-ケトチオラーゼ(T2)欠損症、SCOT欠損症の2疾患については、日本において研究代表者が活性測定など最終診断に関与していることから把握している症例であった。しかしHMG-CoA リアーゼ欠損については今回はじめて症例の把握ができ、一次調査は有意義であった。

二次調査で今回は特にHMG-CoA リアーゼ欠損症についてまとめた。本症は半数が新生児期に発症し、てんかんを合併したり、発達の遅れを残している症例もあった。それは初発もしくは比較的早期の低血糖発作によると考えられており、早期診断、初期治療が重要と考えられた。診断されれば、重篤な発作を予防でき、10歳を超えると発作を来しにくくなるというケトチオラーゼ(T2)欠損

症、SCOT欠損症とは少し状況が異なる可能性があり、この疾患の予後の改善は重要な課題と考えられた。

E. 結論

平成22年度のアンケート調査を行った。2次調査をおこなうことで、今回日本におけるHMG-CoA リアーゼ欠損症の臨床的特徴について明らかとなった。本症の予後は必ずしもよくなく、本症の早期診断、早期治療は本研究の課題であると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Thümmel S, Dupont D, Acquaviva C, Fukao T, de Ricaud D. Different Clinical Presentation in Siblings with Mitochondrial Acetoacetyl-CoA Thiolase Deficiency and Identification of Two Novel Mutations. *Tohoku J Exp Med* 220:27-31, 2010
- 2) Fukao T, Zhang G, Matsuo N, Kondo N: CpG islands around exon 1 in Succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) gene were hypomethylated even in human and mouse hepatic tissues where SCOT gene expression was completely suppressed. *Molecular Medicine Reports* 3:355-359, 2010
- 3) Fukao T, Nguyen HT, Nguyen NT, Vu DC, Can NTB, Pham ATV, Nguyen KN, Kobayashi H, Hasegawa Y, Bui TH, Niezen-Koning KE, Wanders RJA, de Koning T, Nguyen LT, Yamaguchi S, Kondo N. A common mutation, R208X, identified in Vietnamese patients with mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) deficiency *Mol Genet Metab* 100(1):37-41, 2010
- 4) Fukao T, Horikawa R, Naiki Y, Tanaka T, Takayanagi M, Yamaguchi S, Kondo N: A novel mutation (c.951C>T) in an exonic splicing enhancer results in exon 10 skipping in the human mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase gene. *Mol Genet Metab* 100:339-344, 2010
- 5) Fukao T, Ishii T, Amano N, Kursula P, Takayanagi M, Murase K, Sakaguchi N, Kondo N, Hasegawa T. A neonatal onset succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT)-deficient patient with T435N and c.658-666dupAACGTGATT p.N220_I222dup mutations in the OXCT1 gene. *J Inherit Metab Dis.* 33:636, 2010
- 6) Hori T, Fukao T, Kobayashi H, Teramoto T, Takayanagi M, Hasegawa Y, Yasuno T, Yamaguchi S, Kondo N. Carnitine palmitoyltransferase 2

deficiency: The time-course of blood and urinary acylcarnitine levels during initial L-carnitine supplementation. *Tohoku J Exp Med* 221:191-195, 2010

2. 学会発表

- 1) Fukao T, Maruyama S, Ohura T, Toyoshima M, Mushimoto Y, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Kondo N. Subtle abnormality in urinary organic acid and blood acylcarnitine profiles may result in misdiagnosis of beta-ketothiolase (T2) deficiency with mild mutations. 2010 Annual symposium of Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. August 31-September 3, 2010 (Istanbul, Turkey)
- 2) Fukao T, Sass, JO, Thimm E, Wendel U, Ficicioglu C, Monastiri K, Guffon N, Baric I, Zobot M-T, Kondo N. Clinical and molecular studies of five patients with succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase deficiency. 2010 Annual symposium of Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. August 31-September 3, 2010 (Istanbul, Turkey)
- 3) 深尾敏幸、山口清次、重松陽介、高柳正樹、新宅治夫、堀川玲子 「先天性ケトン体代謝異常症の発症形態と患者数の把握、診断指針に関する研究」 班先天性ケトン体代謝異常症(T2 欠損症、SCOT 欠損

症)の診断指針—日本での診断された症例の検討から 第52回日本先天代謝異常学会総会 10月21~23日、大阪、2010

4) 深尾敏幸、堀友博、近藤直実: サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ(SCOT)欠損症5症例の検討。 第52回日本先天代謝異常学会総会 10月21~23日、大阪、2010

5) 堀友博、深尾敏幸、深澤佳絵、寺澤大祐、近藤直実: 間欠的嘔吐、不機嫌で発症した男児遅発性 OTC 欠損症の1例。 第52回日本先天代謝異常学会総会 10月21~23日、大阪、2010

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表2 日本におけるHMG-CoA lyase欠損症

症例	生年	性別	家族歴	初回発作 発症時期	誘因	臨床症状	検査結果							診断時期	発作回数	最後の発作	現在の年齢	予後
							pH	HCO3	血糖	NH3	AST	ALT	LDH					
MA	1990	F	なし	生後4日		ほ乳力低下, 多呼吸								生後6ヶ月	7回以上	10歳	20歳?	
ST	1995	M	なし	生後2日		低体温, 痙攣	7.27		23		555	794	4168	1歳3ヶ月	5回以上	15歳	15歳	視力障害, 発達遅滞, てんかん
MS	1995	M	なし	生後7ヶ月	感染(発熱)	嘔吐, 嗜眠, 痙攣 (Reye's-like)	7.15		6	900	617	274	2206	生後7ヶ月	1回	生後7ヶ月	15歳	てんかん, 正常発達
KY		F		生後1日		嘔吐, 傾眠	7.28		<10	1080								追跡不可能
KE	1996	M	なし	1歳3ヶ月	感染(発熱)	昏睡, 痙攣 (Reye's-like)	7.19	10.8	<40	229	75	31	535	1歳3ヶ月	3回	2歳	14歳4ヶ月	正常発達 (160cm 45kg)
AS	1996	F	なし	2歳2ヶ月	発熱	傾眠, 痙攣	7.11	12.2	11	56	164	50	386	2歳2ヶ月				追跡不可能
MO	1999	F	なし	生後2日		低血糖, ほ乳不良								1歳1ヶ月	5回以上	7歳	11歳	発達遅滞, てんかん
MM	2006	M	なし	生後3ヶ月	上気道炎	嘔吐, 意識障害	7.204	18.6	0	>1000	231	93	458	生後3ヶ月	10回以上	4歳	4歳	正常発達

先天性ケトン体代謝異常症（HMG-CoA 合成酵素欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症、 β -ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症）の発症形態と患者数の把握、診断治療指針に関する研究

分担研究課題：サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ欠損症の長期経過に関する研究

研究分担者 大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学 新宅治夫

研究要旨

Succinyl-CoA:3-Ketoacid CoA-transferase（以下 SCOT）欠損症は、乳児期に著しいケトアシドーシスで発症し死亡することもある、遺伝性ケトン体代謝異常症である。本症の報告はきわめて少なく、本邦の兄妹例について残存活性と長期予後について検討した。その結果、残存活性と長期予後に相関を認めたため、少しでも本症が疑われた場合早期に酵素診断を行い、注意深い経過観察が必要と考えられた。

A. 研究目的

Succinyl-CoA:3-Ketoacid CoA-transferase（以下 SCOT）欠損症は、Acetoacetate を Aceto-acetyl-CoA に活性化する酵素の欠損で、乳児期に著しいケトアシドーシスで発症し死亡することもある常染色体劣性遺伝形式を取る先天性ケトン体代謝異常症である。本症の報告は世界でも少なく、本邦での報告は数例のみである。昨年報告した 8 例（世界で報告されている 5 例と我々の 3 例）の残存活性と予後について報告したが、さらに症例 6 と症例 7 の兄妹例の長期予後について検討したので報告する。

B. 研究方法

酵素活性の測定はリンパ球、皮膚繊維芽細胞、用いて行った。出生前診断は胎児絨毛と培養羊水

細胞を用いて酵素活性の測定により行った。症例 6 と症例 7 の兄妹例については自宅で尿ケトン体のチェックを行い、年に数回血中ケトン体の測定のために外来通院し、現在まで 17 年間経過観察を行った。

（倫理面への配慮）

家族の希望により出生前診断の目的と手技について説明し同意を得て実施した。

C. 研究結果

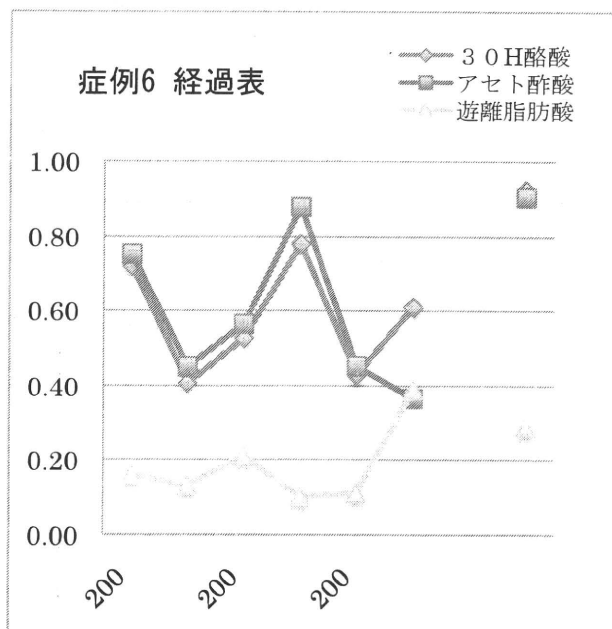
下表の症例 1～5 はこれまでに世界で報告された 5 例で、症例 6 は 1994 年我々が発見した本邦初例、症例 7 は、その次子で出生前診断にて本症と診断したが両親の希望で妊娠継続し出生した第 2 例、症例 8 は 1999 年幼児期に発症し酵素活性の測定により SCOT 欠損症と診断した本邦第 3 例である。

表. SCOT 欠損症 8 例の症状・予後と残存活性

症例	1	2	3	4	5	6	7	8
性別	M	M	M	F	F	M	F	M
血族結婚	-	+	-	+	+	-	-	-
発症月齢	2d	7	1	20	10	6	3	17
初発症状								
ケトアシドーシス	+	+	+	+	+	+	+	+
多呼吸	+	+	+	+	+	+	-	-
嘔吐	-	-	-	-	+	+	-	+
筋緊張低下	-	-	-	+	+	+	-	+
発作間欠期								
臨床症状	-	-	-	-	-	-	-	-
持続性ケトシス	+	+		+	+	+	+	+
予後	死	死	生	生	生	生	生	生
年齢	6m	21m	4y	3y	4y	6y	3y	2y
SCOT 活性	0	<5	20	22	23	14	15	24

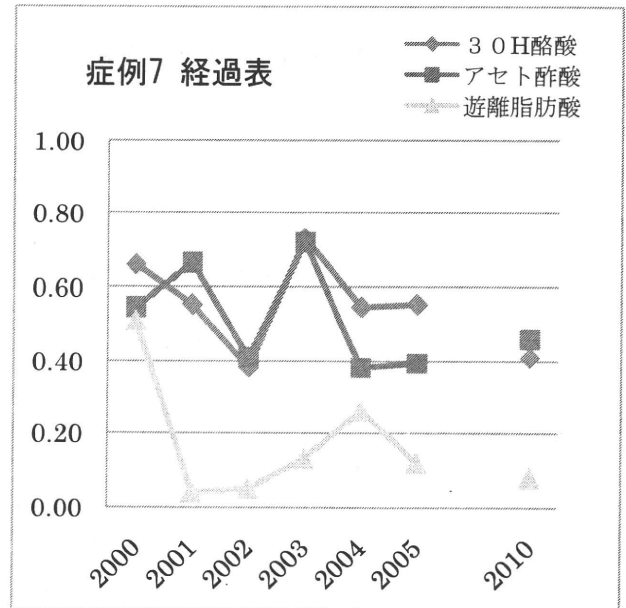
症例 6 と症例 7 は学童期を通じて無症状であったが、自宅で行っていた尿中ケトン体のチェックでは常に陽性であった。しかし、症例 8 では経過症例 6 と症例 7 は学童期を通じて無症状であったが、自宅で行っていた尿中ケトン体のチェック中完全に尿ケトン体が陰性化し、血中総ケトン体の測定でも $0.07\sim 0.10$ mmol/L と全く正常値であったこともたびたび観察された。

【症例 6】1993/9/16 生まれの男児で、周産期に異常なし。生後 5 ヶ月に胃腸炎に罹患し嘔吐で入院した。生後 6 ヶ月に嘔吐、筋緊張低下、多呼吸、末梢チアノーゼで発症し、重症の代謝性アシドーシス (pH7.08, BE-22.2, HCO₃⁻ 1mmol/L) と尿ケトン強陽性を認めた。その他の血糖、乳酸、ピルビン酸、クレアチンキナーゼ、アンモニア、アミノ酸などの生化学的検査は正常であった。血中アセト酢酸 4.5 mmol/L, 3 ヒドロキシ酪酸 7.7 mmol/L であった。アルカリ剤とグルコースの点滴でアシドーシスは 4 日後に改善した。しかし、ケトン血症 (アセト酢酸 1.2 mmol/L, 3 ヒドロキシ酪酸 1.7 mmol/L) は持続した。尿の GCMS では上記のケトン体の上昇以外特徴的な有機酸代謝の異常は認めなかった。これらの結果からケトン体代謝異常症が疑われたため、SCOT 活性の測定を行い診断した。その後も胃腸炎などの感染症でケトン血症を認めたがいずれも入院又は外来で点滴を受け改善した。その後の経過は順調で、学童期に入っても尿中ケトンは常に陽性 (2+から 3+) で、血中ケトン体も $0.86\sim 1.83$ (平均 1.25) mmol/L であったが、無症状に経過していた。現在 16 歳で普通の高校に進学しサッカーの選手としてクラブ活動も行っている。身長 175cm, 体重 56.5kg でやや細身。



【症例 7】1995/10/19 生まれの女児で、症例 1 の妹のため出生前診断で SCOT 欠損症と診断されていた。周産期に異常なく、生後 4 ヶ月の健診時に

尿ケトン (4+) でケトン血症 (ケトン体 4 mmol/L) を認めたが無症状であった。その後も乳幼児期を通じて無症状に経過していた。学童期に入っても尿中ケトンは常に陽性 (1+から 3+) で、血中ケトン体も $0.79\sim 0.95$ (平均 1.25) mmol/L であったが、無症状に経過し発達は正常であった。現在 14 歳で身長 159cm, 体重 46.8kg でやや細身。



【症例 8】1997/8/5 生まれの男児で、周産期に異常なし。1 歳 5 ヶ月に嘔吐と意識障害で救急へ搬送され、代謝性アシドーシス (pH 6.955, BE -30.7) で精査のため転院となった。頭部 CT スキャン、脳波、髄液所見に異常を認めず。血液検査で乳酸値正常、アミノ酸分析、カルニチン分析で代謝異常の所見なし、有機酸分析でも著明なケトosisのみで特に異常な有機酸の増加は認めなかった。2 回目の発作は、1 歳 8 ヶ月に嘔吐はなかったものの意識消失にて救急へ搬送となり、アシドーシス (pH 7.124, BE -23.5) で、血中乳酸値は正常、血中ケトン体は、3 ヒドロキシ酪酸 5.775 mmol/L, アセト酢酸 1.85mmol/L と増加し、尿中ケトン体は 3+ であった。アルカリ剤とグルコースの点滴で回復した。この症例は意識消失を伴う重度のケトアシドーシス発作を 2 回おこし、いずれも血糖、乳酸、アンモニア値はほぼ正常で、尿中有機酸分析でもケトン体の増加以外有機酸代謝異常の所見はなく、ケトン体代謝の異常症が疑われた。当科受診時は発作間欠時と考えられたが、血中ケトン体が高値であったため SCOT 活性の測定を行い診断した。しかし、その後発作無く経過し、血中ケトンは完全に正常化し尿中ケトンも消失する時期があることが確認された。

D. 考察

SCOT 欠損症は意識消失を伴う重度のケトアシドーシス発作をおこすが、血糖、乳酸、アンモニア値はほぼ正常で、尿中有機酸分析でもケ

トン体の増加以外有機酸代謝異常の所見がないため、診断されないこともある。本症は新生時期から乳児期に発症し、残存活性の低いものは早期に発症し死亡している。残存活性が高い場合1歳を越えて発症する事もあり、また症状は比較的軽いと思われるが、症例8のように意識障害をきたす重症のケトアシドーシス発作を繰り返すこともあるため、少しでも本症が疑われた場合早期に酵素診断を行い、注意深い経過観察が必要と考えられた。しかし、症例8では間欠的に完全にケトン血症が正常化し尿ケトンが陰性化する時期があることが確認され、間欠時にケトン体の陰性かを持ってSCOT欠損症を否定できないことが明らかとなった。

今回の兄妹例の長期フォローでは、外来での血中総ケトン体が常に高値（左図）であるだけでなく、自宅でチェックしている尿中ケトン体も常に陽性の状態が続いているが、学童期には全く無症状で経過し、精神発達も全く正常であることが確認された。また身体発育もやや細身の傾向が認められたものの全く正常であった。

一般にSCOT欠損症の場合、アシドーシス発作時の遊離脂肪酸、血中ケトン体の同時測定は診断上非常に有用であり、非発作時においても食後2時間などケトン体が本来低いはずの時間帯で著しく高い場合はケトン体利用障害の可能性がある。生理的なケトーシスでは遊離脂肪酸もケトン体と同様に高くなるが、ケトン体利用障害ではケトン体の値は遊離脂肪酸の値と比して高く、空腹やストレス早期から遊離脂肪酸（FFA）と総ケトン体（TKB）の比は0.3以下となる。この兄妹例のFFA/TKB比の経過では、ほぼ常に0.3を下回る低値となっている（右図）。このような状況

では感染症などのストレスにより容易にケトアシドーシスが発症すると考えられる。しかし、この兄妹例では学童期に入って発熱を伴う感染症に罹患しても、一度もアシドーシス発作を認めていない。このように一定の年齢に達した患者がケトーシスを伴いながらもほとんど発症しない事実から、逆に乳幼児期の早期発見と予防的な治療により乳幼児期を無事に経過すれば、その後はほとんど無治療で良好な発育発達が望めると考えられる。

E. 結論

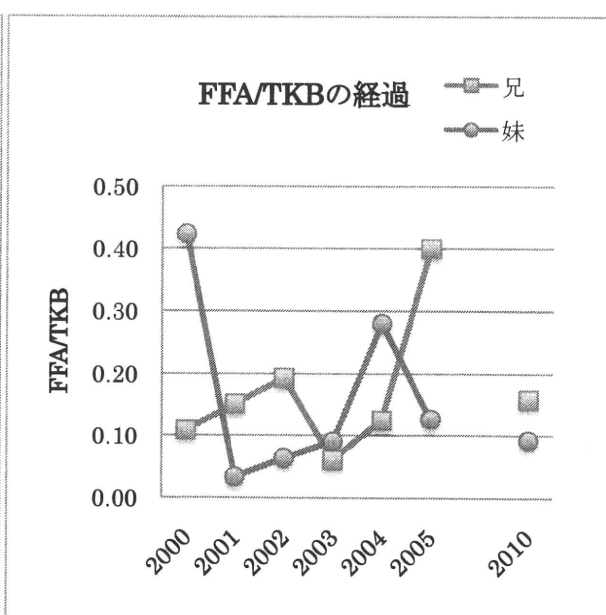
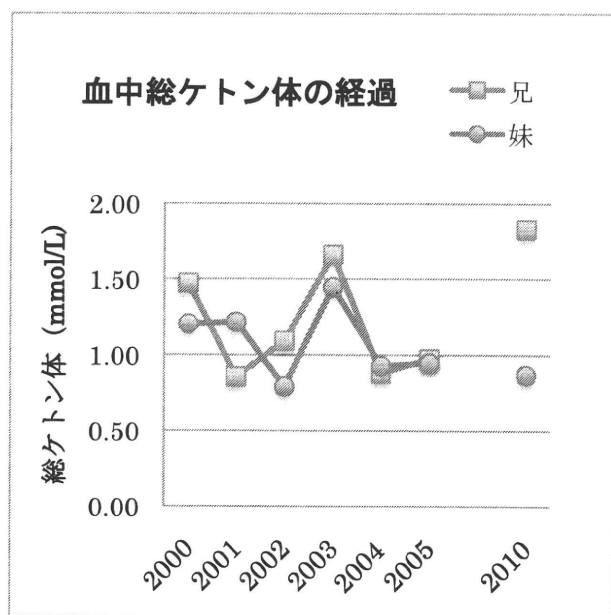
ケトアシドーシスを認め少しでも本症が疑われた場合早期に酵素診断を行い、注意深い経過観察が必要と考えられた。しかし、乳幼児期を過ぎればある程度のケトーシスが持続していても発育発達にはあまり影響せず正常に成長することが確認された。

F. 研究発表

1. 論文発表
特になし
2. 学会発表
特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし



先天性ケトン体代謝異常症（HMG-CoA 合成酵素欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症、 β -ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症）の発症形態と患者数の把握、診断治療指針に関する研究

分担研究課題：SCOT 欠損症が疑われたが SCOT 活性から否定された症例に関する研究

研究分担者 堀川 玲子（成育医療センター 内分泌代謝科）

研究要旨

SCOT 欠損症は、新生児期もしくは乳幼児期に、著しいケトアシドーシスをきたし、多呼吸、意識障害で発症する。我々は臨床像および発作時経過から SCOT 欠損症を強く疑い、活性測定を行ったが、SCOT 欠損症は否定的な症例を経験した。SCOT 欠損症は疑って酵素診断を行わないと診断できないが、重篤なケトアシドーシスを呈し、発作時所見からは強く本症を疑う症例においても、活性測定で否定的な症例があることがわかり、さらに今後の検討が必要と考えられた。

A. 研究目的

SCOT 欠損症は、新生児期もしくは乳幼児期に、著しいケトアシドーシスをきたし、多呼吸、意識障害で発症する。我々は臨床像および発作時経過から SCOT 欠損症を強く疑い、活性測定を行ったが、SCOT 欠損症は否定的な症例を経験した。そこで臨床像について詳細に報告する。

B. 症例

【症例】11ヶ月 男児

【主訴】呼吸が速い、ぐったりしている、37℃後半の発熱

【現病歴】母は妊娠初期であり、授乳するとお腹が痛くなるため、5月8日夜から断乳した。その後はお茶のみ摂取していた。5月9日朝はおかゆ、昼はうどん、赤ちゃんせんべい、ポーロ、夜はピザの端の部分、パスタを食べた。いつもよりは食べたが量は少ない印象であった。5月10日朝起きた後、ぐったりしていた。おかゆを2口食べたが、2回嘔吐した。昼過ぎから37.5℃の発熱あり、お茶は飲んでいて、15時くらいから呼吸が速くなり、近医受診した。ベネトリン吸入するも多呼吸は持続し、当院救急外来紹介受診した。下痢なし。風邪症状なし。出生後初めての熱であった。薬剤誤飲のエピソードなし。

【周産期歴】自然妊娠、妊娠中は特に異常を認め

ない。40週4日、Wt 2498g、Ht 50cm、HC 33cm CC 29cm、apgar 9/10にて出生した。仮死なし、黄疸なし、新生児MS正常であった。7ヶ月から離乳食開始したが断乳するまでは母乳が主であった。

【既往歴】特になし。乳児検診にて特に異常を指摘されず。入院歴なし。

【発達歴】定頸3ヶ月、座位保持7ヶ月、独歩11ヶ月、有意語11ヶ月

【生活歴】アレルギーなし、予防接種はBCG、ポリオ1回

【家族歴】幼少時の突然死の家族歴なし

【身体所見】

RR 80/min, HR 160-180/min, SpO₂ 100%(room), BT 38.2℃, BP 100/mmHg 意識清明, 陥没呼吸なし

【検査所見】

5月11日血液検査

pH 7.074, PCO₂ 13.0 mmHg, HCO₃ 6.5 mEq/L, BE -25.4 mEq/L, AG 20.8 mEq/L

WBC 12400 (Seg 60.0%)/ μ l, AST 50 IU/L ALT 18 IU/L, LDH 331 IU/L BUN 14.6 mg/dl, Cre 0.25 mg/dl, UA 16.5 mg/dl, Na 134 mEq/L, Cl 103 mEq/L, K 4.7 mEq/L, CPK 106 IU/L CRP <0.2 mg/dl, NH₃ 77 μ g/dL, Lac 7.8mg/dL Pyr 0.28mg/dL

FFA 2115 μ Eq/L, ACAC 2456 μ mol/L 3-HB 9044 μ mol/L, TKB 11500 μ cmol/L

【経過】5月11日、救急外来受診後に著明なアシドーシスを認めた。挿管、動脈ライン確保、末梢

静脈ライン確保し、糖分を含む輸液開始し、ICUにてメイロン持続静注施行した。その後メイロン中止、ミルク注入でもアシドーシスの再燃を認めなかった。5月13日に抜管した。5月16日にICUから病棟へ移動した。ミルク、離乳食開始し、経管から経口へ移行できた。座位保持、立位、歩行再獲得に時間を要さなかった。病棟では尿ケトンはずべて陰性であった。

著明なケトアシドーシス、乳酸正常、アンモニア正常であり、血中アミノ酸分析、濾紙血によるタンデムマス、尿中有機酸分析では特異的所見なく、SCOT欠損症が疑われた。

短期間の経過で著明なケトアシドーシスとなったことから、何らかの代謝異常が潜んでいる可能性は否定できない。特に発熱などストレス時には中止が必要である。家族には自宅で尿ケトンチェックして頂き、2+以上なら救急外来を受診するように指示した。

その後は現在4歳になるが、大きなケトアシドーシス発作もなく、発作間欠期のケトン体の値も正常範囲である。

本患者さんのリンパ球、皮膚線維芽細胞を用いた活性測定において、明らかなSCOT活性の低下は認められず、SCOT欠損症は否定的である。

現在T2欠損症およびSCOT欠損症の遺伝子検査を念のため施行中である。

C. 考察

本患者さんは、生後11ヶ月、断乳の直後の体調不良から著しいケトアシドーシスを来している。発作時の血液pHは7.074、 HCO_3^- 6.5 mEq/Lと著明なアシドーシスで、ケトン体は11,000 $\mu\text{mol/L}$ 以上であり、遊離脂肪酸/総ケトン体比も0.18である。しかも急性期有機酸分析では特異的な有機酸は検出されず、昨年度研究班で作成

した診断指針でも強くSCOT欠損を疑う症例である。

重篤な発作はその1回で、その後の経過では発作はなく、また間欠期のケトン体も低いことであり、残存活性を有するSCOT欠損症との鑑別が今後問題になった症例であった。

今後このような症例の蓄積も重要であり、本症例についても、通常の活性測定では異常は認められていないが、十分な解析を行っておくことが新たな疾患単位の確立などにむけて必要と考えられる。

D. 研究発表

1. 論文発表

1) Fukao T, Horikawa R, Naiki Y, Tanaka T, Takayanagi M, Yamaguchi S, Kondo N: A novel mutation (c.951C>T) in an exonic splicing enhancer results in exon 10 skipping in the human mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase gene. *Mol Genet Metab* 100:339-344, 2010

2. 学会発表

1) 深尾敏幸、山口清次、重松陽介、高柳正樹、新宅治夫、堀川玲子 「先天性ケトン体代謝異常症の発症形態と患者数の把握、診断指針に関する研究」 班

先天性ケトン体代謝異常症(T2欠損症、SCOT欠損症)の診断指針—日本での診断された症例の検討から 第52回日本先天代謝異常学会総会 10月21~23日、大阪、2010

E. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

先天性ケトン体代謝異常症（HMG-CoA 合成酵素欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症、 β -ケトチオラーゼ欠損症、SCOT 欠損症）の発症形態と患者数の把握、診断治療指針に関する研究

分担研究課題： HMG-CoA リアーゼ欠損症の化学診断

研究分担者 重松陽介（福井大学医学部教授）

研究要旨

HMG-CoA リアーゼ欠損症の新生児マススクリーニングおよび化学診断の指標について、既診断例 2 例で検討した。血中アシルカルニチン分析では、C5OH アシルカルニチン（3-hydroxyisovalerylcarnitine）と C6DC アシルカルニチン（methylglutarylcarnitine）の濃度が増加していた。尿有機酸分析では、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸と3-ヒドロキシイソ吉草酸をはじめとする疾患特異的な有機酸が確認された。新生児期ろ紙血でのアシルカルニチンは確認できなかったが、血中 C5OH アシルカルニチンの上昇は無症状間歇期にも確認されているのでスクリーニング指標として有用と考えられ、尿有機酸分析で確実な化学診断が可能であると判断された。

A. 研究目的

3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル CoA（HMG-CoA）リアーゼ欠損症（本症）においては、代謝ブロックの部位である HMG-CoA から上流の3-メチルクロトニル-CoA までのアシル CoA が蓄積する。そのうち3-ヒドロキシイソバレリル CoA と3-メチルグルタリル CoA がそれぞれカルニチンと結合し、3-ヒドロキシイソバレリル(C5OH) カルニチンと3-メチルグルタリル (C6DC) カルニチンが増加することになる。その増加の程度は、ロイシンの異化代謝の亢進状況によって変化すると考えられるが、まだ不明の点が多い。本症の尿有機酸の異常については既に報告されているところではあるが、アシルカルニチンの変化と関連づけた分析は少ない。

今回、本症患者の血中アシルカルニチンと尿有機酸を分析し、上記診断指標物質の異常度を検討した。

B. 研究方法

タンデムマス・スクリーニングで実施している方法を用いて血清中アシルカルニチンを分析した。即ち、血清 5 μ l に、重水素標識アシルカルニチンを内部標準として含むメタノール液 186.3 μ l を加え、攪拌後遠沈し上清を得た。上清は 96 穴マイクロプレートウエルに移し、タンデム質量分析計での定量分析に供した。尿有機酸分析では、0.1mg クレアチニ

ン含有尿に内部標準として tropic acid 0.02mg を加え、酸性条件で酢酸エチルを用いて抽出操作を行い、溶媒相を窒素気流下で濃縮乾涸した。乾涸残渣は TMS 誘導体化し、ガスクロマト・質量分析 (GC/MS) 法で分析し、内部標準量を用いて定量した。

C. 研究結果

表 1 に示した通り、カルニチン分析では、本症患者 ST では 7 歳無症状期において C5OH カルニチンと C6DC カルニチンの上昇が明らかであったが、患者 MO では C5OH カルニチンは明らかに上昇していたものの C6DC カルニチンの上昇は軽度であった。他施設でのカルニチン分画測定で患者 MO の急性発症時の遊離カルニチンが著しい低値であった。

尿有機酸分析では、本症で尿中排泄増加が報告されている多くの有機酸が 2 例とも異常増加していた。患者 MO については、尿資料が入手できなかったため、他検査施設での急性発症時尿の分析結果を定性判定で提示した。

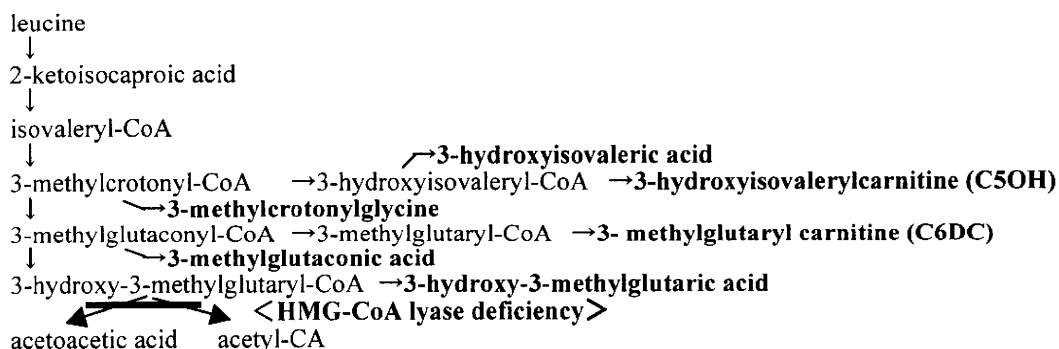
D. 考察

本症患者の血清アシルカルニチン分析では、無症状間歇期においても C5OH カルニチンと C6DC カルニチンの上昇がみられたので、新生児期のろ紙血アシルカルニチン分析においても、これらを指標としてスクリーニングすることが可能であろうと考え

られた。ただし、C6DC カルニチンの上昇は症例 MO で軽度であり、この指標の有用性は低いと思われた。また、症例 MO の急性発症時に著しい低カルニチン血症が認められており、このような状況では C5OH カルニチンにおいても必ずしも異常増加と判定されない可能性があるため、たとえば C5OH/C0 比などを追加指標として採用しておく必要があると考えられた。

C5OH カルニチンと C5OH/C0 比でスクリーニングする場合、これらの上昇する疾患について、尿有機酸分析にて鑑別診断が必要であるが、今回の本症 2 例ともほぼ典型的に本症に特異的な有機酸異常が確認され、定量的な有機酸分析が行われれば、ほぼ確実に化学診断に至るものと考えられた。

図 1:ロイシン異化代謝経路



E. 結論

本症は、新生児期のタンデムマス・スクリーニングにおいても、C5OH カルニチンを主たるスクリーニング指標とし、C6DC カルニチンと C5OH/C0 比を補助スクリーニング指標とすることで発見することができると考えられる。さらに、尿有機酸分析での化学診断により、早期からの治療が行われれば、本症患者の神経学的予後の改善が期待される。

G. 研究発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録 なし

表 1 HMGCoAリアーゼ欠損症の検査所見

患者	S.T.			M.O.		
	急性発症回復後	1年後間歇期	6年後間歇期	急性発症回復後	急性発症時(千葉)	
病期						
年齢	1歳	2歳	7歳			
<検査項目>						
尿有機酸分析	(有機酸: μg/mgCr)	(ref.)				
	3-hydroxyisovaleric	<25	90.1	64.5	39.6	(++)
	glutaric	<4	23.1	9.7	8.3	(ND)*
	3-methylglutaric	<6	127.0	110.7	124.9	(ND)*
	3-methylglutaconic	<4	1330	851	1172	(-)?
	3-methylcrotonylglycine	<6	46.4	22.7	32.2	(ND)*
	3-hydroxy-3-methylglutaric	<20	762	307	544	(+++)
血清アシルカルニチン分析	(アシルカルニチン: nmol/ml)					
	C0 (free carnitine)	31.3±8.4		24.4	33.9	0.8
	C2 (acetylcarnitine)	6.2±2.1		8.9	18.8	(ND)*
	C5OH	0.06±0.03		1.45	1.19	(ND)*
	C6DC	0.05±0.03		1.42	0.19	(ND)*

*ND: no data

先天性ケトン体代謝異常症（ β -ケトチオラーゼ欠損症、サクシニル-CoA:3-ケト酸 CoAトランスフェラーゼ欠損症）の発症形態と患者数の把握、診断指針に関する研究

分担研究課題

タンデムマス・有機酸診断、診断指針作成、症例スクリーニング

日本人とアジアの β ケトチオラーゼ欠損症の代謝プロフィールの比較、および *in vitro* probe assay によるケトン体代謝異常診断法の検討

研究分担者 山口清次
(島根大学医学部小児科学教授)

研究要旨

β ケトチオラーゼ欠損症の日本人患者と、日本以外のアジア諸国の患者の尿中有機酸、血中アシルカルニチン所見を比較した。日本人患者のうち尿中有機酸異常（2-メチル-3-ヒドロキシ酪酸の上昇）が検出されたのは7例中6例であった。血中アシルカルニチン分析では、7例中3例で異常（C5:1 または C5-OH の上昇）が観察された。これに対し、アジア諸国の患者では、28例中全例に尿中有機酸分析で異常がみられ、血中アシルカルニチンは、C5:1 の上昇は 23/28 例、C5-OH の上昇が 20/28 例と異常が高頻度に検出された。さらに有機酸排泄量、血中アシルカルニチン濃度もアジア諸国の患者の方が高い傾向がみられた。アジア諸国では日本よりも本症の頻度は高く、異常有機酸、アシルカルニチンの量も高い可能性がある。日本人では β ケトチオラーゼ欠損症は発見しにくい傾向があり、新生児マススクリーニングでも見逃す可能性もある。

もう一つのプロジェクトとして、培養細胞とタンデムマスを組み合わせる *in vitro* probe assay を応用してケトン体代謝異常の酵素学的スクリーニング法の開発のための基礎的検討を行った。すなわちケトン体を培養液に添加して最終産物であるアセチルカルニチンの量を比較した。しかし正常とケトン体代謝異常に有意な差は観察できなかった。また C4-OH は、ケトン体負荷後にすべての細胞において著明な増加がみられた。これは添加したケトン体がカルニチン抱合された 3-ヒドロキシブチリルカルニチンを反映しているものと思われる。今後、負荷するケトン体濃度、安定同位体ラベルの基質の負荷、脂肪酸を負荷した時の変化等について再検討する価値はある。

研究協力者

長谷川有紀、小林弘典、虫本雄一、

Purevusren Jamiyan

(以上 島根大学小児科)

重松陽介 (福井大学小児科)

深尾敏幸 (岐阜大学小児科)

A. 研究目的

β ケトチオラーゼ欠損症の生化学診断は、尿中有機酸分析、および血中アシルカルニチン分析によって行われる。本症は間欠的に起こるケ

トーシス発作を主徴とし、安定期には正常と変わらぬ生活をし知能も正常なことが多い。しかし重篤なケトアシドーシス発作に遭遇すると、その後遺症として中枢神経障害が起こる可能性がある。新生児マススクリーニングで発症前に診断できることが望ましい。しかし日本人の患者数は少ない。そこで、アジア諸国の患者と日本人患者の代謝プロフィールを比較検討した。また重篤なケトトーシスを主徴とするいわゆる「ケトン体代謝異常」として β ケトチオラーゼ欠損症