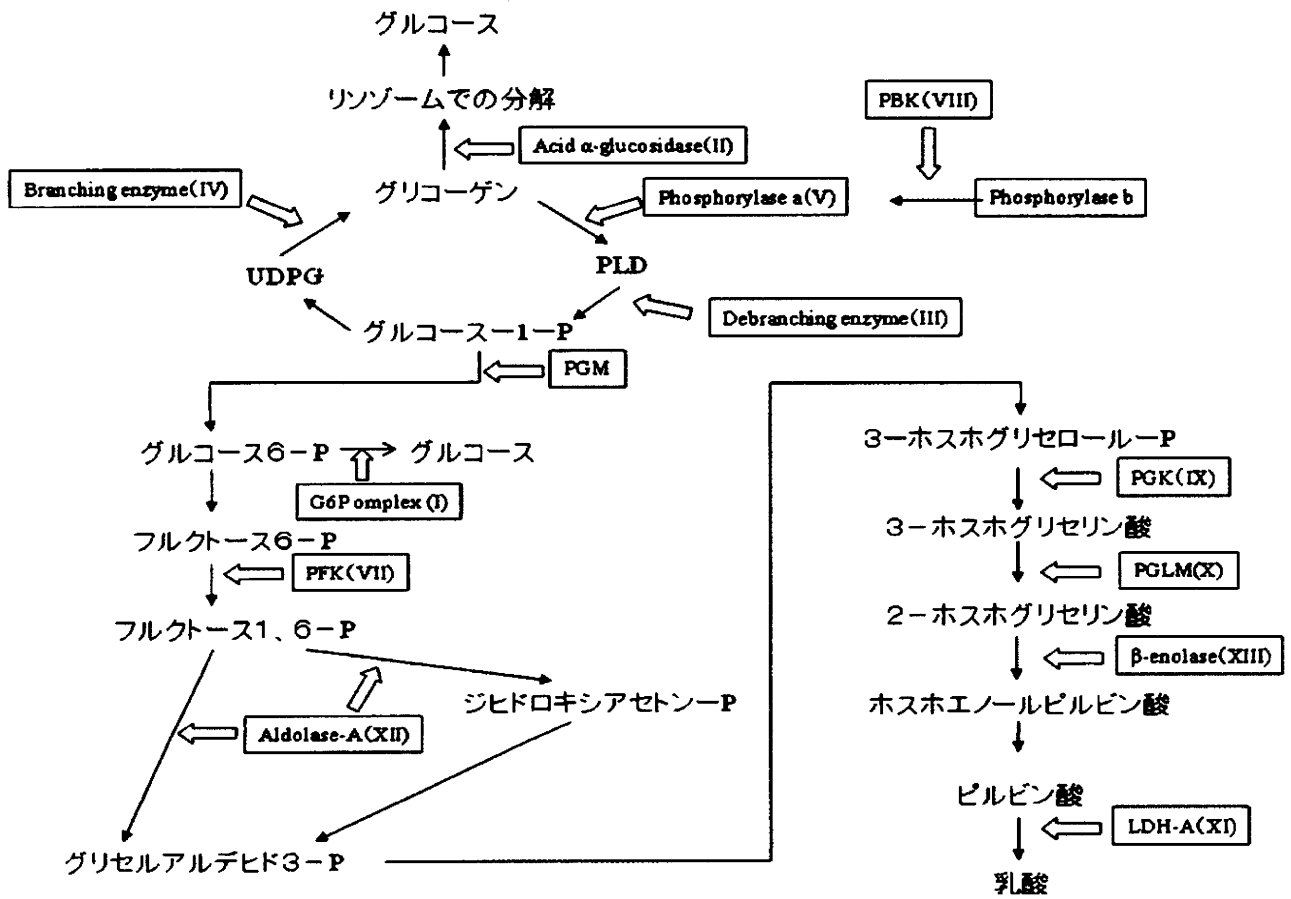
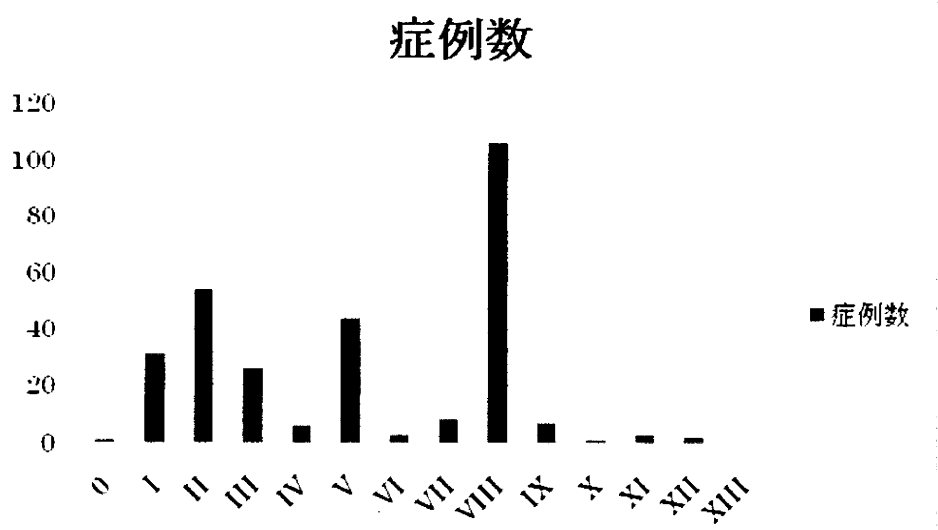


嫌気性解糖系の代謝マップ



我が国における糖原病の診断例の病型分布



糖原病の診断検査

検体検査—糖原病の負荷検査

杉江 秀夫 杉江 陽子 浜松市発達医療総合センター小児神経科

要旨

糖原病に関する臨床的負荷テストについて、おもに筋型糖原病、肝型糖原病に関して述べる。遺伝子検査、生化学的検査の進歩により、小児において侵襲のある負荷検査は採用されなくなる傾向にある。しかし数多い代謝異常を絞る込むうえでは、今回述べる負荷テストは、いまだに重要な役割がある。その評価・方法とともに、診断に至る検査法の実際について詳細を記す。

Key Words

糖原病
前腕運動負荷試験
Fernandes の負荷試験
低血糖
ミオグロビン尿症

はじめに

遺伝子診断を含めてさまざまな化学診断、生化学診断法が開発されつつある今日、いくぶん手間のかかる負荷テストの意義は薄れつつある。しかしながら、種々の診断負荷テストは、今なお小児科診療のうえで疾病の病態を類推させる意味のある重要な臨床検査のひとつである。

他稿との重複を避けるため、本稿では、とくに糖原病（筋型、肝型）に関する負荷テストおよび検査の評価、診断への特殊検査、診断にいたるフローチャートについて紹介する。

糖原病（表1）

糖原病は、グリコーゲン分解に関与する酵素の先天性欠損により、組織などにグリコーゲンが蓄積する疾患をさしている。その中で低血糖、肝腫大を示す症例を肝型糖原病、筋痛、筋力低下、横紋筋融解症（ミオグロビン尿症）など筋症状を呈する症例を筋型糖原病とよぶ。表現型として両者をあわせもつものを、肝筋型糖原病とよぶ。この違いは、おもに酵素発現の臓器特異性に依存している。しかし、筋型糖原病のすべてが筋細胞にグリコーゲンが蓄積しているわけではなく、組織学的にはまったく正常の場合もある。

表1 糖原病の分類

病型	欠損酵素	蓄積グリコーゲン構造	酵素診断によく利用される組織	遺伝子好発変異の診断(%)	病型
糖原病0型	Glycogen synthetase	正常	肝臓	—	肝型
糖原病I型	Glucose-6-phosphatase	正常	肝臓	Ia型の90%	肝型
糖原病II型	Acid maltase	正常	リンパ球	—	肝筋型
糖原病III型	Debranching enzyme	リミットデキストリン	筋, 肝臓, 白血球, 赤血球, 線維芽細胞	—	肝型, 肝筋型
糖原病IV型	Branching enzyme	アミロヘクチン様	赤血球, 肝臓	—	肝型, 肝筋型
桃源病V型	Muscle phosphorylase	正常	筋	50%	筋型
糖原病VI型	Liver phosphorylase	正常	肝臓, 白血球?	—	肝型
糖原病VII型 (PFK)	phosphofruktokinase	正常	筋, 赤血球	—	筋型
糖原病VIII型 (PBK)	Phosphorylase kinase	正常	赤血球, 筋, 肝臓	—	肝型, 筋型, 肝筋型
糖原病IX型 (PGK)	Phosphoglycerate kinase	正常	赤血球, 白血球, 筋	—	筋型
糖原病X型 (PGLM)	Phosphoglycerate mutase	正常	筋	—	筋型
糖原病XI型 (LDH)	Lactic dehydrogenase	正常	筋, 血清 電気泳動パターン	—	筋型
糖原病XII型	Aldolase-A	正常	赤血球, 筋	—	筋型
糖原病XIII型	β -enolase	正常	筋	—	筋型
PGM欠損症	phosphoglucomutase	正常	筋	—	筋型

骨格筋における解糖は筋収縮のためのエネルギー供給が目的であるのに比べて、肝臓での解糖の目的は、おもにグルコースを供給するもので、この点骨格筋における解糖と肝臓でのそれとは目的性に違いがある。なお糖原病II型は嫌気性解糖系の経路とは異なったリソゾーム内でのグリコーゲン分解異常であり、他の筋型糖原病とは臨床生化学的にも異なっている。

現在までに報告のある糖原病は15種類である(表1)。われわれが2002年に行った筋型糖原病の全国調査、およびわれわれの経験と比較すると、筋型糖原病の頻度はII, III, V型の3種類で約70%を占めている²⁾。また肝型糖原病ではI, VIII型が、肝筋型糖原病ではIII型が多い。糖原病の病型の命名は糖原病VII型までは受け入れられているが、それ以外はやや混乱がある。

現状では、酵素名を用いてその欠損症と記載したほうがよいと思われるが、本稿では、DiMauroに準じた命名法を用いている³⁾。各病

型の詳細は参考文献を参照されたい。

負荷試験

1. 前腕運動負荷試験 (forearm exercise test)

筋型糖原病の診断に用いられる負荷テストである。血流を遮断した嫌気状態では、解糖は乳酸生成の方向へ進行するが好気性の条件では、ピルビン酸を通じてミトコンドリアへと進行する(図1)。この負荷テストでは嫌気状態で運動負荷後の血中乳酸、ピルビン酸、アンモニアを測定し、正常では乳酸、アンモニアの上昇がみられるが、上昇を見ないときは、前者では嫌気性解糖系の異常が、後者ではプリン代謝の異常が示唆される。なお、乳酸デヒドロゲナーゼ欠損症ではピルビン酸の異常な上昇が認められるにもかかわらず、乳酸が上昇しないことで診断ができる。II型はリソゾームの解糖であり、この検査では異常は検出できない。

一般には、垂井の部分的阻血下前腕運動負荷試験 (semiischemic forearm exercise test) (表2) が使われるが、嫌気性解糖系に障害のある糖原病では阻血試験自体が患者にとって筋硬直、筋痛などを誘発し検査としては問題があった。最近では、阻血の条件ではなく非阻血下条件でも嫌気性解糖系の異常をもつ患者では、乳酸の上昇がみられない事が報告され、好気的な前腕運動負荷試験 (non-ischemic forearm exercise test) も提唱されている⁴。われわれは、その報告をもとに外来で可能なように改変して用いている。30秒間の等尺性筋収縮は従来の阻血下運動負荷に比べ、患者に対する負荷は明らかに少ない(図2, 3)。ただし年齢的には十分協力が得られることが必要で、客観的に運動負荷が正しく行

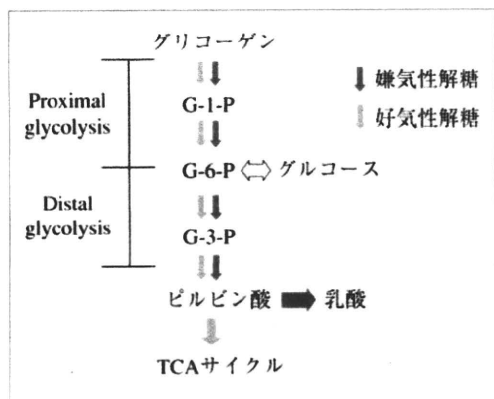


図1 解糖過程

われていることが確認できることが必要である。結果の評価は従来の阻血下の値と同様でよいと考えている(図4)。表3にその評価について述べるが、今後は前腕運動試験も好気条件での運動負荷での乳酸上昇を検討することで、嫌気性解糖障害の診断に取って代る可能性がある⁵。

2. Fernandesの負荷テスト

肝型糖原病⁶の鑑別を行うための負荷テストである。グルコース、ガラクトースおよびグルカゴンを負荷する方法が1969年 Fernandesらに

- 1 握力計で握力を測定する(10分前)
- 2 利き手の正中静脈にカテーテルを留置する
- 3 前値の採血(乳酸、ピルビン酸、アンモニア)
- 4 握力計を使用してあらかじめ測定しておいた握力の70%の力で30秒間等尺性収縮を行う
- 5 等尺性収縮終了後1, 2, 3, 4, 6, (10)分後に採血を行う

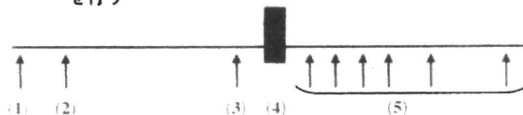


図2 非阻血下前腕運動負荷試験
non-ischemic forearm exercise test (Hogrelらの方法を改変)



図3

表2 部分的阻血下前腕運動試験の手法 (垂井による部分的阻血下前腕運動試験)

30分以上安静臥床させた後に実施する

- (1) 反対側(通常左側)より試験前の採血を行う
- (2) 検査側(通常右側)の手首に細いマンシェットを巻き、圧を200 mmHgに固定する
- (3) 上腕にマンシェットを巻き、圧を中間血圧(最大血圧+最小血圧/2)に固定する
- (4) 握力計(またはゴム球)を握る運動を1秒に1回ずつ120回2分間行わせる
- (5) 10秒ごと位に握力計の目盛を記録、または運動負荷が正確に行われているか確認する
- (6) 運動終了と同時に上腕のマンシェットの圧を200 mmHgにあげてそのまま2分間固定
- (7) 肘静脈から翼状針にて採血し直ちに上腕の圧を0にもどす
- (8) 翼状針を留置したままその後1~2分毎に採血し、通常運動終了後6分まで採血する
- (9) 採血が終了すれば手首の圧を0にもどし針を抜去して検査は終了する
- (10) 乳酸、ピルビン酸、アンモニアを測定する

よって報告され、1974年に改定案が出された(図5)⁷⁾。糖原病I型では空腹時に乳酸が高値を示しグルコース負荷により乳酸が低下するが、他の糖原病(Ⅲ, Ⅳ, Ⅷ型)では乳酸が上昇する。糖原病I型ではそれ以上の負荷試験は行わないほうがよい。I型の患者にガラクトース、グルカゴンを負荷すると、血中乳酸値はさらに上昇しアシドーシスを強める危険があるからである。空腹時の高乳酸血症がない場合は、グルコースまたはガラクトース負荷テストで乳酸の上昇があるかどうかを検討する。グルコース負荷、ガラクトース負荷で乳酸が増加するものは糖原病の疑いがあり、グルカゴン負荷を行う。グルカゴン負荷で血糖が上昇する場合は、糖原病Ⅷ型で、上昇をみない場合は、食後2時間後にグルカゴン負荷を行い、血糖の上昇がある場合は、糖原病Ⅲ型と考えられる。血糖が上昇し

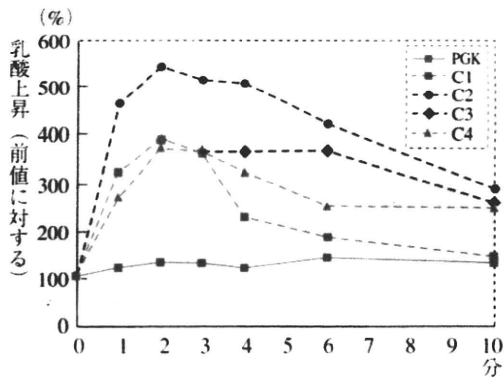


図4 non-ischemic forearm exercise test

ない場合はⅣ型である。

Fernandesの負荷テストは、以上のような解釈がされるが、必ずしもこの結果どおりではない。われわれが酵素学的に診断した症例とFernandesの負荷テストの結果との比較検討を行ったところ、Fernandesの負荷テストで糖原病と診断された48症例では、酵素診断により33例(69%)が糖原病と診断できた。内訳は糖原

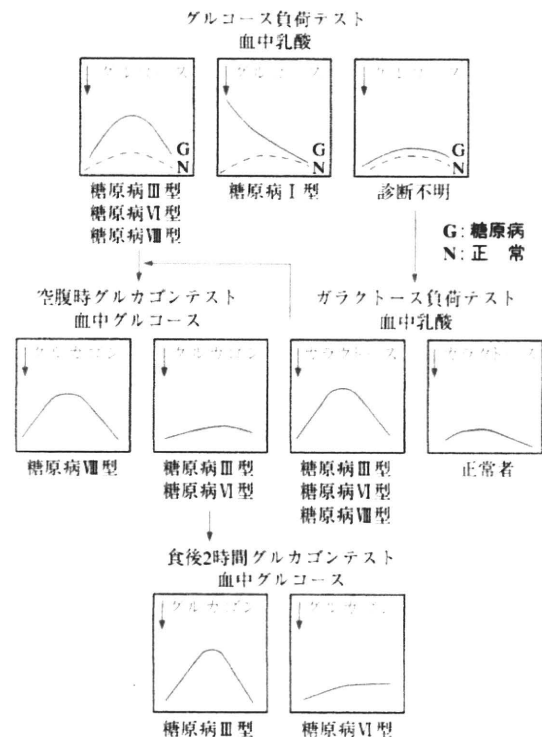


図5 Fernandesの負荷テスト(文献4)より引用、一部改変)

表3 前腕阻血試験による代謝性筋症の鑑別

	乳 酸	ビルビン酸	アンモニア
正常対照	3~4倍	3~4倍	3~5倍
筋型糖原病 (ただし下記を除く)	上昇なしまたは2倍以下	上昇なしまたは2倍以下	正常反応~過剰反応
ホスホリラーゼキナーゼ	正常反応または2~3倍	正常反応または2~3倍	正常反応
酸マルターゼ	正常反応	正常反応	正常反応
乳酸デヒドロゲナーゼ	上昇なし	正常反応または異常な上昇	正常反応
脂肪酸代謝異常症	正常反応	正常反応	正常反応
ミトコンドリア異常症	正常反応	正常反応	正常反応
ミオアデニル酸デアミナーゼ	正常反応	正常反応	上昇なし

病 I 型 4 例, 糖原病 III 型 11 例, 糖原病 VI 型 5 例, 糖原病 VIII 型 13 例であり, 酵素診断で異常を認めなかった症例は 15 例であった. Fernandes の負荷試験で I 型を疑われた 4 例は, すべて glucose-6-phosphatase の欠損が認められ, I 型は負荷試験の結果と酵素測定の結果が一致していた. III 型を疑われた 15 例では III 型が 7 例, VI 型が 3 例, VIII 型が 1 例であった. VI 型を疑った 3 例では 1 例が VIII 型であった. VIII 型を疑った 19 例中 VIII 型は 7 例, III 型 1 例であった. 48 例のうち, Fernandes の結果から疑われた病型と酵素測定

結果が一致したのは, 負荷試験の行われた 48 例中 17 例 35.4% と低い結果であった. とくに, グルカゴンに対する反応性が必ずしも公式的に当てはまらないので注意が必要である. したがって, Fernandes の負荷テストは I 型以外は必ずしも高い信頼性をもつものではないようである.

われわれは, Fernandes の負荷テストを参考に肝型糖原病の酵素診断を併用した診断のフローチャートを考案した. Fernandes の負荷テストは有用ではあるものの, 必ずしも病型まで判別するには限界があるので, 血球による酵素診断, 糖原病 I 型では好発変異の検索を併用しながら診断を進めていくのがよい.

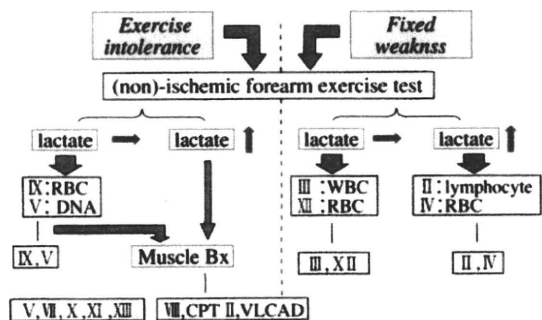


図 6 筋型糖原病の鑑別診断 (臨床症状から見た) ver. 1 精神神経疾患研究委託費 (清水班): 浜松市発達医療総合センター小児神経科, 杉江 RBC: 赤血球, WBC: 白血球, CPT: carnitine palmitoyl transferase, VLCAD: very long chain acyl CoA dehydrogenase

糖原病の診断フローチャート (図 6, 7)

図 6, 7 に筋型および肝型の糖原病診断フローチャートを紹介した. 新たな検査法が登場するにあわせて, 従来の負荷テストとうまく組み合わせることで患者への負担を軽減できると考えられる.

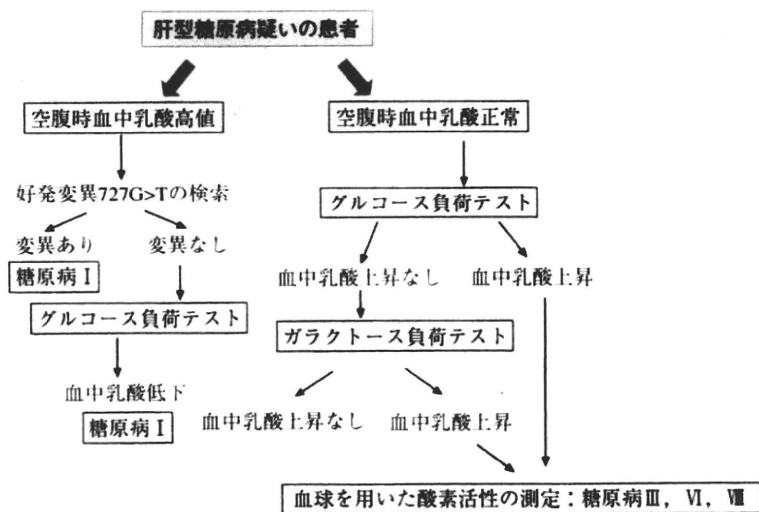


図 7 肝型糖原病の鑑別診断

●文 献

- 1) 杉江秀夫, 杉江陽子: 筋疾患「代謝性筋疾患」, 臨床検査 46:479-486, 2002
- 2) 福田冬季子, 杉江秀夫, 伊藤政孝・他: 筋型糖原病の全国調査および浜松市発達医療総合センターにおける筋型糖原病診断症例の比較検討, 臨床神経 43:243-248, 2003
- 3) DiMauro S, Lamperti C: Muscle glycogenoses, Muscle Nerve 24:984-999, 2001
- 4) Hogrel JY, Laforet P, Ben Yaou R et al.: A non-ischemic forearm exercise test for the screening of patients with exercise intolerance, Neurology 56(12): 1733-1738, 2001
- 5) Kazemi-Esfarjani P, Skomorowska E, Jensen TD et al.: A nonischemic forearm exercise test for McArdle

disease, Ann Neurol 52 (2): 153-159, 2002

- 6) Fernandes J, Smit GPA: The glycogen storage diseases. Inborn metabolic diseases: diagnosis and treatment (ed. Fernandes J, Saudubray JM and Berghe G), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, 85-102, 2000
- 7) Fernandes J, Huijiing F, Van der Kamer JH: A screening method for liver glycogen storage disease, Arch Dis Child 44:311-317, 1969

著者連絡先

〒434-0023 静岡県浜北市高岡 775-1
浜松市発達医療総合センター小児神経科
杉江秀夫

第13回 日本消化器関連学会週間
Digestive Disease Week-Japan 2005 (DDW-Japan 2005)

会 期 2005年10月5日(水)～8日(土)

場 所 ポートピアホテル, 神戸国際展示場, 神戸国際会議場

プログラム DDW-Japan 2005 ホームページ (<http://www.ddw.jp/ddw2005/>) をご参照下さい。
DDW-Japan 2005 においては、学会開催前よりホームページを通じて DDW-Japan 2005 参加全学会のプログラムならびに全抄録、最新の学会情報、神戸地区及び近郊ガイドなどの情報を公開します。

学会参加登録 参加登録費: 20,000円

※研修医(卒後2年): 10,000円, 学生(大学院生除く)・留学生: 参加登録費免除
登録するとすべての学会に参加できます。

宿泊及び交通機関 申込方法・申込期日に関しては各学会誌(7月頃)に掲載しますので
ご覧下さい。

問い合わせ先 DDW-Japan 事務局までお願い致します。

〒104-0061 / 東京都中央区銀座8丁目9番13号 銀座オリエントビル9階
DDW-Japan 事務局 TEL:03-3573-1254 FAX:03-3573-2198

Ⅱ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
杉江秀夫	糖代謝異常：Meet the expert、症例から学ぶ先天代謝異常症	遠藤文夫ら	症例から学ぶ先天代謝異常症	診断と治療社	東京	2010	pp2-4
西野一三	各種疾患 筋肉疾患 縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーの治療法開発	柳沢信夫ら	Annual Review 神経	中外医学社	東京	2010	pp243-250

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
福田冬季子、杉江秀夫	ギラン・バレー症候群	小児内科	42巻増刊	551-553	2010
福田冬季子、杉江秀夫	診断へのアプローチ 臨床症状 筋力低下、運動不耐	小児内科	42(7)	1115-1117	2010.
福田冬季子	代謝性ミオパチー	小児科臨床	63(9)	1907-1912	2010
福田冬季子	Pompe病の酵素補充療法	小児科	51(6)	811-815	2010
福田冬季子	Pompe病(糖原病II型)における酵素補充療法とその効果に関する病態研究の進歩：Pompe病骨格筋におけるautophagy	脳と発達	42 (2)	114-116	2010
西野一三	自己食空胞性ミオパチーの病態解明と治療法開発	臨床神経学	50 (1)	1-6	2010
Fukuda T, Sugie H, Sugie Y	Quantitative metabolome profiling of biopsied muscle in the patients with glycogen storage diseases using capillary electrophoresis mass spectroscopy	Acta Myol,	XII ICNMD Proceeding	183	2010

Mizuochi T, Kimura A, Nishiura H, Inomata Y, Okajima H, Sugie H, Mitsubuchi H, Yagi M, Kage M	Liver biopsy is an important procedure in the diagnosis of glycogen storage disease type I	Pediatr Int	53(1)	129-130	2011
Ogawa A, Ogawa E, Yamamoto S, Fukuda T, Sugie H, Kohno Y.	Case of glycogen storage disease type VI (phosphorylase deficiency) complicated by focal n	Pediatr Int	52(3)	150-3	2010
Sugie Y, Sugie H, Fukuda T, Osawa J.	Study of HOXD genes in autism particularly regarding the ratio of second to fourth digit length	Brain Dev	32(5)	356-61	2010
Malicdan MC, Noguchi S, Nishino I	A preclinical trial of sialic acid metabolites on distal myopathy with rimmed vacuoles/hereditary inclusion body myopathy, a sugar-deficient myopathy: a review	Ther Adv Neurol Disord	3(2)	127-35	2010
Tominaga K, Hayashi YK, Goto K, Minami N, Noguchi S, Nonaka I, Miki T, Nishino I	Congenital myotonic dystrophy can show congenital fiber type disproportion pathology	Acta Neuropathol	119(4)	481-6	2010
Liang WC, Nishino I	Lipid storage myopathy	Curr Neurol Neurosci Rep	11(1)	97-103	2011

Ⅲ. 研究成果の刊行物・別刷

A

糖代謝異常症 1 (肝型糖原病)

Meet the Expert

1 病態と概念(図1)

糖原病はグリコーゲンの分解、合成にかかわる酵素群の遺伝的異常により起こる疾患である。グリコーゲン代謝はグリコーゲンから glucose-1-phosphate に至るステップを glycogenolysis (proximal glycogen degradation), glucose-6-phosphate (G-6-P) 以降を glycolysis (distal glycogen degradation) と分けている。一般に前者における酵素欠損ではグリコーゲンの蓄積が著明であり、後者ではグリコーゲンの蓄積が軽微である。

糖原病 0 型はグリコーゲン合成の障害であ

り、肝臓にはグリコーゲンの蓄積はなく、本章で報告されている他の 3 例とは病態が異なっている。肝型糖原病における問題は解糖過程の障害に直接起因する低血糖、グリコーゲンの臓器蓄積のみではなく、二次的に引き起こされる代謝の変化によっても症状の多様性がもたらされる。低血糖の程度にもよるが、低血糖による insulin/glucagon の低下により遊離脂肪酸が増加する。また、I 型では産生された G-6-P がグルコースへ変換されないため蓄積し、解糖が進むため、乳酸が増加する。同時に、マロニル CoA も増加することで β 酸化が障害され、ケ

トン体の産生は低下する。高乳酸が持続する場合は腎からの尿酸排泄障害が起こり、高尿酸血症も呈する。I 型と III 型では絶食で前者は高乳酸血症であるのに反し、後者ではケトーシスを起こすのが異なる点である。

糖原病は肝型を中心としておおむね発見された順にギリシャ数字が病型に割り当てられ、VII 型までは問題なく使用されている。しかし、phosphorylase b kinase 欠損症は酵素学的、分子遺伝学的に細分化が進み、従来 VIa 型、VIII 型あるいは IX 型と命名され混乱しているが、臓器発現と遺伝形式によって分類することが主流となってきている。本章では一応 VIII 型としておく。

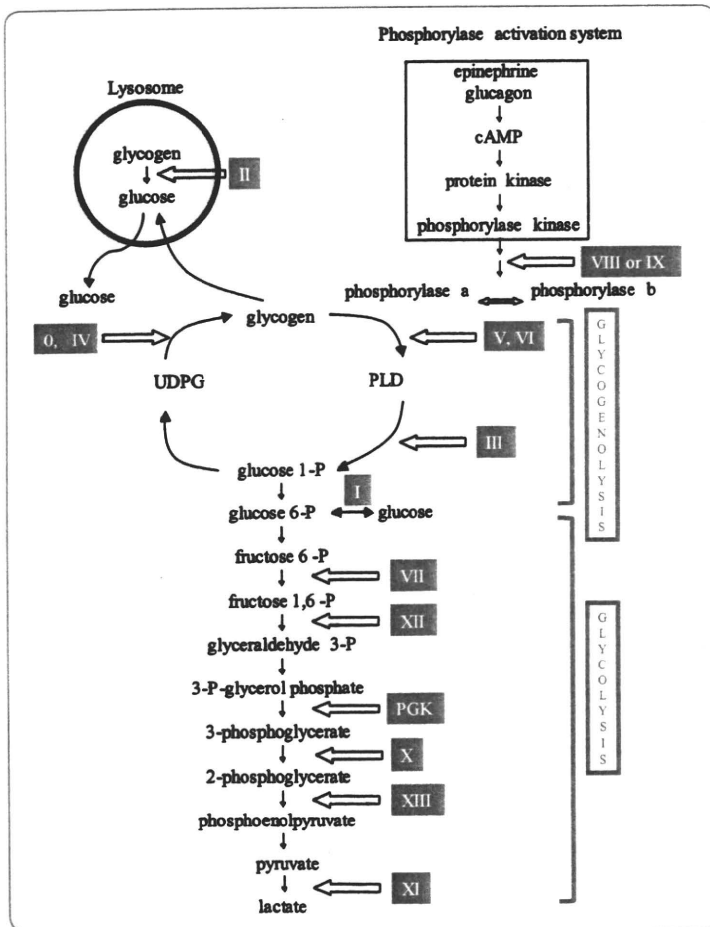


図1 グリコーゲン代謝
文献1より改変。

2 糖原病の臨床

肝型糖原病は表1のように現在7種類が報告されているが、糖原病は臨床病型として hepatic (肝型), muscular (筋型), generalized

(全身型)に分類できる。肝型で多くを占める病型はI型, III型, VIII型であり, この3型で約90%を占めている。本章の3症例(I型, III型, VIII型)に比較的共通してみられる症状は肝腫大(主訴としては腹部膨満: protruded abdomen), 低血糖に起因する症状(空腹時の irritability, inactivity など), 低身長(short stature), 特有な顔貌(rounded doll face)などである。

このなかでI型は最も症状が重い。それは解糖と糖新生の両者から生じたG-6-Pをグルコー

スに変換できないからである。つまり, 解糖, 糖新生の両経路からのグルコース産生に障害があるため, 低血糖症状が比較的重度であると考えられる。理論的にはdebranching enzyme, リソソームの α -glucosidaseにより若干のグルコースが供給されるが不十分である。III型, VIII型では前者はphosphorylaseでグリコーゲンが分解できること, また両者とも糖新生系は正常であるので, 低血糖は比較的軽微である。年齢が進めば肝腫大も軽快してくる。

表1 肝型糖原病

病型	欠損酵素	Gene symbol	遺伝子部位	酵素診断可能組織
0型	Glycogen syntase			
肝型		<i>GYS2</i>	12p12.2	肝臓
筋型		<i>GYS1</i>	19q13.3	筋肉 肝臓
I型 (von Gierke)				
Ia	Glucose-6-phosphatase	<i>G6PC</i>	17q21	
Ib	G6P translocase (T1)	<i>SLC37A4</i>	11q23.3	
Ic	Phosphotranslocase (T2)	<i>NPT4 (?)</i>	NPT4 (?)	
Id	Glucose translocas (T3)		?	
III型 (Cori)			1p21	筋, 肝臓, 白血球, 赤血球 線維芽細胞
IIIa	Amylo-1,6-glucosidase			
IIIb				
IIIc				
IIId	α -1,4-glucantransferase			
IV型 (Andersen)	Branching enzyme	<i>GBE1</i>	3p12.3	赤血球, 肝臓
乳児肝型				
乳児神経筋型				
成人型				
APBD				
VI型 (Hers)	Liver phosphorylase	<i>PYGL</i>	14q21-q22	肝臓, 白血球?
Phosphorylase activation system	Phosphorylase kinase			
VIII (IXA):XLG type I/II*	α -subunit of PBK	<i>PHKA2</i>	Xp22.2-p22.1	赤血球, 白血球, 線維芽細胞
autosomal recessive	β -subunit of PBK	<i>PHKB</i>	16q12-q13	肝臓
IXB	γ or δ subunit of PBK	<i>PHKG2</i>	16p12.1-p11.2	肝臓
IXC	cardiac muscle PBK	?	?	?
IXD (adult form)	muslce PBK	<i>PHKA1</i>	Xq12-q13	筋
X (multisystem)	protron kinase?	?	?	?
Fanconi-Bickel 症候群	Glucose transporter 2	<i>GLUT2 (SLC2A2)</i>	3q26.2-q27	-

* typell は血球での酵素診断はできない。

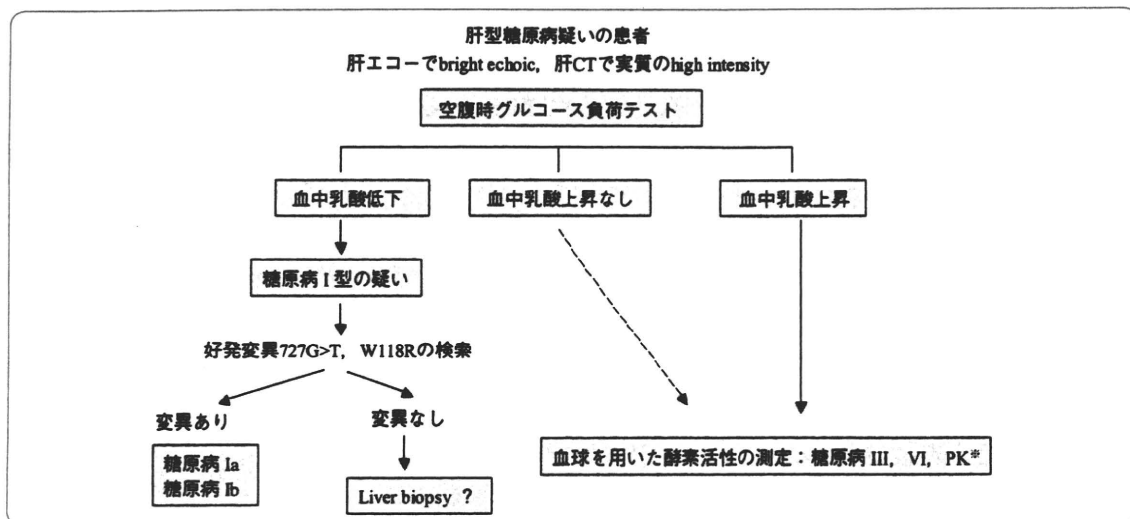


図2 肝型糖原病の鑑別診断

※ phosphorylase b kinase

糖原病0型は稀な糖原病であり肝腫大はなく、肝にはグリコーゲンの貯蔵が不十分であるため乳児幼児期に絶食で容易に低血糖が生じ、ケトーシスを伴う。血中の乳酸やアラニン値は低く、またグルコース負荷後インスリン値が正常でありながら高血糖や高乳酸の状態が続く場合は0型を疑うことができる。ケトン性低血糖症のなかにはおそらく本症が存在していると思われる。

3 診断と検査、どのように進めていくか

肝型糖原病の主要症状は本章で記載された4例のうち0型を除いて肝腫大、低血糖、ビリルビン上昇を伴わない肝機能障害、高乳酸血症(I型)、高脂血症、肝臓エコーでbright echo、肝臓CTではhigh intensity(ただし高脂血症の程度で肝臓にも脂肪の沈着が強い場合もある)が典型である。診断のアルゴリズムを図2に示すが、以前と比較すると肝生検の頻度は減少している。多くの肝型糖原病はI型、III型、VIII型であり血球を用いた酵素測定、遺伝子好発変異の検索でほとんど診断が可能であるからである。フェルナンデスの負荷試験は有用であるも

の、乳幼児にはやや侵襲もあり、筆者らは図2のような手順で検査を進めている。

4 治療と予後のうえでの注意点

コーンスターチによる血糖の維持が基本的な治療になる。軽症肝型であるIII型、VIII型、VI型の予後は良好で、年齢が長じるに従って肝腫大は軽快し肝機能も改善してくる。しかし、III型でCK高値を合併している場合はIIIa型の可能性があり、将来的に筋力低下あるいは心筋症を起こしてくるので注意が必要である。I型は肝臓に線腫が発生し、肝硬変、癌化することがあること、また腎不全への移行についても注意が必要である。

参考文献

- 1) Smit G, et al.: The glycogen storage diseases and related disorders. In: Fernandes J, et al. (eds), *Inborn metabolic diseases*. 4th ed, Springer, Heidelberg, 2006, 101-157
- 2) Shin YS: Glycogen storage diseases: clinical, biochemical, and molecular heterogeneity. *Semin Pediatr Neurol* 2006; 13: 115-120
- 3) Van Adel B, et al.: Metabolic myopathies: update 2009. *J Clin Neuromusc Dis* 2009; 10: 97-121

自治医科大学小児科学教室 杉江秀夫

2) 縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーの治療法開発

国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第一部部長 西野一三

同 疾病研究第一部室長 野口 悟

key words DMRV/HIBM, rimmed vacuole, GNE, sialic acid, ManNAc

要 旨

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー(DMRV)/遺伝性封入体ミオパチー(HIBM)は、シアル酸生合成経路律速酵素(GNE/MNK)をコードするGNE遺伝子のミスセンス変異により発症する常染色体劣性遺伝病である。10代後半から30代後半にかけて、前脛骨筋の筋力低下と筋萎縮で発症し、およそ10年程度で歩行不能となる。病理学的には筋線維内の β -アミロイド沈着と縁取り空胞形成を特徴とする。これまで治療法が全くなかったが、我々は、DMRV/HIBMを良好に再現するモデルマウスの作製に成功するとともに、このマウスに対して、GNEの代謝産物であるManNAcまたは最終産物であるシアル酸を投与することで、筋萎縮・筋力低下・病理学的変化をほぼ完全に抑制することに成功した。このことは、シアル酸の低下がDMRV/HIBMの原因であることを示すとともに、これらのGNE/MNK代謝産物によりDMRV/HIBMが治療可能となり得る可能性を示している。

動 向

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー distal myopathy with rimmed vacuoles (DMRV)は、1981年に埜中らにより、国際的に初めて報告さ

れた疾患であり、諸外国では、しばしば、埜中ミオパチー Nonaka myopathy,あるいは、埜中型遠位型ミオパチーとよばれている¹⁻³⁾。また、この疾患は、1984年にイスラエルのArgovらにより、rimmed vacuole myopathy sparing the quadricepsあるいはquadriceps sparing myopathy (QSM)として報告され⁴⁾、その後、主に欧米で遺伝性封入体ミオパチー hereditary inclusion body myopathy(HIBM)とよばれている疾患⁵⁾と同一疾患である⁶⁾。第9染色体上のGNE遺伝子の変異により発症する常染色体劣性遺伝病であり、みいだされている変異のほとんどはミスセンス変異である⁶⁻⁹⁾。

GNEはシアル酸生合成経路の律速酵素をコードしている。患者では、ミスセンス変異の結果、酵素活性が低下し、シアル酸合成が低下し、その結果としてシアリル化が低下している。我々は、患者細胞に対して、GNE代謝産物であるManNAcや最終産物であるシアル酸そのものを培養液に添加することにより、低シアリル化を回復できることを示した¹⁰⁾。このことは、もしシアリル化の低下が筋障害の原因であるならば、*in vitro*で治療を行えることを示したことになる。当然、次のステップは、*in vivo*でこの治療効果を試すことである。その結果、我々の論文発表直

後から、DMRV/HIBMのモデルマウス作製の国際競争が始まった。

本稿では、DMRV/HIBMの原因遺伝子と生化学的異常について記載し、そこから予想される分子病態と治療法開発を目指した研究の結果について述べたい。

A. DMRVの臨床病理所見

DMRVは、臨床的には遠位型ミオパチーの一型として、病理学的には自己貪食空胞性ミオパチーの一型として分類される。常染色体劣性遺伝形式を取る筋疾患であるが、本邦の患者の大部分は孤発例である。15歳から40歳にかけて発症し、特に性差なく男女とも同様に侵される¹⁻³⁾。前脛骨筋が好んで侵されるため、スリッパが脱げやすいとか段差でつまずきやすいなどの垂れ足の症状を初発症状とすることが多い。他に、頸部屈筋群、傍脊柱筋、大腿後面の膝屈筋群が侵されやすい。進行すれば、下腿後面の筋群や上肢筋も侵されるが、比較的後期まで大腿四頭筋が保たれる。Argovらが最初に報告した際の病名QSMは、その特徴に注目して付けられたものである。筋力低下と筋萎縮は進行性で、発症から平均12年で歩行不能となり車椅子生活となる。ただし、比較的急速に進行する例や、20年を超えて歩行可能な例も存在し、臨床的重症度のばらつきはかなり大きいことが明らかとなってきた。正確な患者数を知ることは困難であるが、我々が行っている筋病理診断サービスでの検体数をみると、本邦におけるDMRV/HIBMの患者数は、Duchenne型筋ジストロフィー (DMD) のおよそ1/10程度と予想される。DMD患者数は、1,500~4,000人程度と考えられている。この数字をもとに考えると、本邦におけるDMRV/HIBM患者数は、150~400人程度ということになる。すでにこれまでに我々の施設だけでも、100名以上の患者が遺伝

子診断で確認されていることから、おそらく150名を超える患者が同定されているものと予想される(未発表データ)。

骨格筋病理では、縁取り空胞 rimmed vacuole の出現が特徴である¹⁻³⁾。ただし、縁取り空胞自体には疾患特異性がなく、さまざまな筋疾患で認められる。縁取り空胞は、光学顕微鏡レベルでは、ヘマトキシリン・エオジン染色で濃青色に、ゴモリ・トリクローム変法で赤色に染色される顆粒状の構造物で空胞が縁取られているようにみえる所見である。電子顕微鏡レベルでは、顆粒状の構造物は、自己貪食空胞あるいはその類縁構造物であるミエリン様小体 myeloid body などの集まりである¹⁻³⁾。加えて、筋線維の大小不同が認められ、特に初期には、多数の小角化した萎縮線維が認められる。いわゆる筋ジストロフィーと異なり、壊死・再生線維がみられることはまれである。

核内および細胞質の一部には、直径15~20 nmの管状線維性封入体 tubulofilamentous inclusion がしばしば認められる¹⁻³⁾。この所見に注目して、欧米では、一般にHIBMとよばれる。しかし、この管状線維性封入体自体にも疾患特性はなく、縁取り空胞が出現する疾患ではほぼ例外なく管状線維性封入体が認められる。

しばしば、筋線維内にβ-アミロイドの沈着やリン酸化タウ蛋白質を認め、Alzheimer病類似の変性過程が存在すると考えられている^{1-3,5)}。また、ユビキチン・プロテアソーム系の活性化やアポトーシスの関与を示唆するデータもあり、さまざまな変性のプロセスが認められることが1つの特徴である。しかし、これら一連の現象が、縁取り空胞性ミオパチーの病態の中で、どのような関係にあるのかは全く不明であった。

B. 原因遺伝子と遺伝子変異

DMRV/HIBMの原因遺伝子は第9染色体上の

*GNE*である。この*GNE*はシアル酸生合成経路の律速段階を触媒する酵素UDP-*N*-acetylglucosamine 2-epimerase (UDP-GlcNAc 2-epimerase; *GNE*) と、その次の反応を触媒する酵素*N*-acetylmannosamine kinase (ManNAc kinase; *MNK*) の2つの酵素活性をもつ1つの蛋白質をコードしている。患者でみいだされるほぼすべての変異がミスセンス変異であり、両アレルにnull変異を有する例は1例も報告されていない。また、変異は、オープンリーディングフレームのほぼ全長にわたって幅広く分布しており、*GNE*ドメインあるいは*MNK*ドメイン単独の障害であっても、両者の組み合わせの複合ヘテロ接合体の場合であってもDMRVを発症し得る。

日本人では、p.V572L変異が一番多く、我々のグループの調査では、日本人患者アレルの半数以上を占めている。次に多いのが、p.D176V変異で、20%程度のアレル頻度である⁶⁾。ユダヤ人患者では、p.M712Tを高頻度に認める^{8,9)}。これ以外にも世界各地から、多くの共通変異がみいだされてきている。したがって、DMRV/HIBMは日本人とユダヤ人にのみ認められる疾患ではなく、世界各地に分布する疾患である。先に、本邦での患者数を議論したが、この数字をもとに考えると、本邦での保因者頻度は、1/283~1/462となる。

さらに我々は、*GNE*遺伝子にホモ接合型の変異を有していながら、60歳をすぎても無症状の健常者を偶然みだしている⁶⁾。同様の例はイスラエルのグループによってもみいだされており⁹⁾、*GNE*変異の存在のみがDMRV/HIBM発症の決定的な因子ではないことを強く示唆するとともに、保因者頻度も実際にはもっと高い可能性があることを示唆している。無症候性ホモ接合体存在の事実、本疾患の病態を詳細に突き止めることで、発症や進行を制御できる可能性を示しており、将来的な治療法開発に希望を抱かせるもので

ある。

C. 生化学的異常と分子病態

我々のグループは*GNE*遺伝子産物機能を評価し、実際にその機能が障害されているかどうかを検討すべく、まず、最初に患者白血球における*GNE*酵素活性測定を行った。その結果、患者では*GNE*酵素活性が著減していることが明らかとなり、DMRV患者における*GNE*遺伝子変異は、機能喪失型変異であることが初めて示された⁶⁾。*GNE*/*MNK*がシアル酸生合成経路の重要な酵素であるならば、DMRV/HIBM患者においては、当然、シアリル化異常があることが予想される。我々は、患者細胞では確かにシアリル化が減少していることを明らかにした¹⁰⁾。さらに、*GNE*代謝産物である*N*-acetylmannosamine (ManNAc) や最終産物 (シアル酸) である*N*-acetylneuraminic acid (NeuAc) の投与により、線維芽細胞、骨格筋細胞の両方で、正常レベルまで細胞内シアル酸量を回復させた¹¹⁾。このことは、このような代謝産物投与により治療ができる可能性を示唆している。ちなみに、最近の研究では、ManNAcとNeuAcの細胞内への取り込み経路が異なることが示されている。ManNAcは、拡散により細胞膜を透過し取り込まれると考えられており、NeuAcはマクロピノサイトーシスにより、エンドソーム・リソソーム系を介して取り込まれることが報告されている¹²⁾。

シアル酸は細胞表面の糖脂質および糖蛋白質上のオリゴ糖の末端に広範に存在しており、細胞表面の保護や細胞の相互認識など多彩かつ重要な役割を担っていると考えられている。実際、*Gne*ノックアウトマウス (*Gne*^{-/-}) はシアル酸が合成できず、胎生致死であることが報告されており、器官形成の過程でシアル酸が必須であることがわかる¹³⁾。

D. モデル動物の作製

我々のグループが*in vitro*の実験でGNE/MNK代謝産物の投与によりDMRV/HIBMが治療できる可能性を示してから¹⁰⁾、国際的に競ってミスセンス変異を有するモデルマウスの作製が行われた。さらには、DMRV/HIBMがGNE遺伝子変異によることは明らかにされたものの、どのようにして緑取り空胞をはじめとする病理学的変化をきたすのかは、依然として不明であった。モデルマウスの作製は、依然として不明な病態の解明にもきわめて有用なはずである。

ドイツのSchwarzkopfらは*Gne*^{-/-}を作製したが胎生致死であった¹²⁾。我々も、同様に*Gne*^{-/-}の作製を行い、やはり胎生致死であることを確認していた。このことは、シアル酸生合成が哺乳類の発生にとって必須であることを示している。実際、DMRV/HIBM患者でみいだされる変異はほぼすべてミスセンス変異であり、null変異のホモ接合体はみいだされないことから、null変異はヒトでも同様に胎生致死であると考えられる。

米国立衛生学研究所 (NIH) のグループは、ユダヤ人に高頻度に認められるp.M712T変異を有するノックインマウスの作製を行ったが、ホモ接合型のマウスは、重篤な腎障害により1匹を除いてすべてが生後72時間以内に死亡した¹³⁾。生存した1匹について8.5カ月で解剖がなされたが、筋障害は認めなかった。さらに、妊娠母胎にGNE代謝産物であるManNAcを1g/kg/dayを投与したところ、12匹が誕生したが、9匹が12日までに死亡した。残りの3匹のうち、2匹は、19日と3.5カ月に解剖を行ったが、いずれも筋障害を認めなかった。1匹は6カ月現在生存しているものの、筋症状はない。NIHグループは、これらの結果に基づき、*Gne*遺伝子に変異のあるDMRV/HIBMに対しても、ManNAcによる治療が有効である可能性がある」と指摘しているが、彼

らのマウスでは筋症状が出現しておらず、DMRV/HIBMで認められる筋症状に対してManNAcが本当に有効であると結論づけることはできない。

一方、前述のように、我々は、*Gne*^{-/-}を作製したが、胎生致死であった。このマウスに変異をもつGNEを高発現させることで、胎生致死を免れ、発生後はシアル酸の低下したマウスが作れないか考えた。まず、日本人患者で2番目に多いp.D176V変異を有するヒトGNEを高発現するGNEトランスジェニックマウス (hGNED176V-Tg) を作製した¹⁴⁾。このマウス自体は特に異常を示さなかった。我々は、このhGNED176V-Tgと*Gne*^{-/-}のヘテロ接合体 (*Gne*^{-/+}) をかけ合わせることで、最終的に、内在性のマウス*Gne*を欠きp. D176V変異を有するヒトGNEのみを発現するDMRVマウス (*Gne*^{-/-}hGNED176V-Tg) を得た¹⁴⁾。このDMRVマウスは、ほぼメンデル則に従って産出された。生下時には特に異常を認めなかった。死亡原因は不明であるが、週齢を経るごとに対照群に比べて生存率が低下した。20週齢以降より筋力低下と筋萎縮を、さらにその結果として、運動能力の低下を示した¹⁵⁾。また、CK値も軽度上昇していた。30週齢からは、骨格筋内β-アミロイド沈着、40週齢以降より緑取り空胞、リン酸化タウを認めるとともに、筋萎縮と筋力低下はさらに加速した。シアル酸は血中ならびに脳を除くすべての組織で著しく低下していた。つまり、このマウスは臨床的・病理学的・生化学的にヒトDMRV/HIBMを良好に再現していた¹⁴⁻¹⁶⁾ (図1)。ここで興味深いのは、β-アミロイド沈着が緑取り空胞形成に先行することを初めて明らかにしたことである。これまで、β-アミロイド沈着と緑取り空胞については、病態における重要性について不毛の議論がなされてきたが、おそらくβ-アミロイド沈着が病態カスケードの上流に位置することが明らかとなったのであ