

G 研究発表

なし

なし

2 実用新案登録

なし

G 知的財産権の出願・登録状況

1 特許取得

3 その他

なし

人数(人)

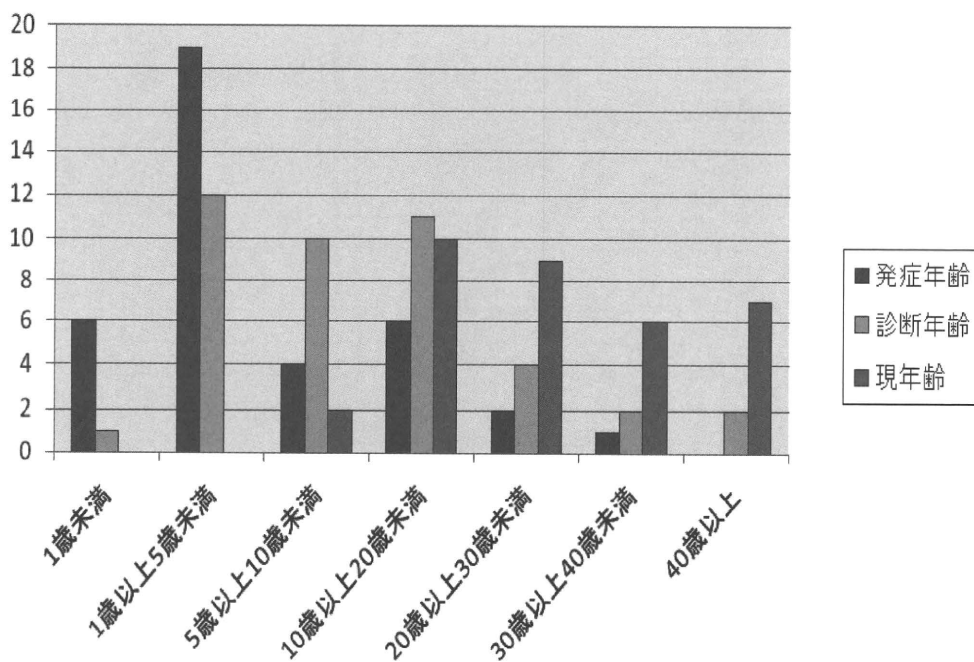


図1: LPI患者の発症・診断・現年齢の分布

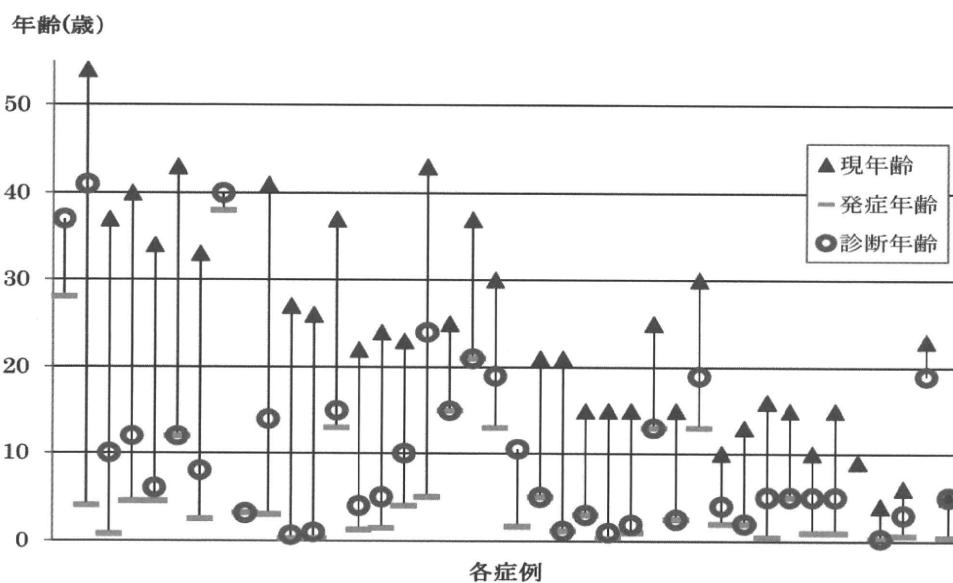


図2: 各LPI患者の発症・診断・現年齢の分布

横軸は右に行くほど最近の症例を示している。

表1:臨床所見の陽性率

		陽性数(A)	回答数(B)	陽性率(A/B*100%)
身体所見	低身長	21	33	63.6
	体重増加不良	18	32	56.3
	薄い毛髪	9	30	30.0
	皮膚の過伸展	1	24	4.2
	関節の過伸展	3	25	12.0
	肝腫大	21	29	72.4
	脾腫大	15	29	51.7
神経所見	高アンモニア血症	29	32	90.6
	意識障害	14	31	45.2
	てんかん	9	32	28.1
	知的障害	15	33	45.5
	脳性麻痺症状	6	32	18.8
	筋緊張低下	3	31	9.7
	筋力低下	4	30	13.3
	骨格筋萎縮	3	30	10.0
消化器所見	蛋白嫌い	26	31	83.9
	嘔気、嘔吐発作	15	31	48.4
	反復する腹痛	5	32	15.6
	難治性の下痢	5	32	15.6
	膵炎	2	32	6.3
	肝機能上昇	7	31	22.6
	肝画像異常	3	29	10.3
血液・免疫機能所見	末梢白血球減少	13	33	39.4
	貧血	7	33	21.2
	血小板減少	13	33	39.4
	出血血栓傾向	5	31	16.1
	骨髄の血球貪食所見	3	21	14.3
	骨髄細胞増多と巨核球の減少	2	9	22.2
	易感染性	2	32	6.3
	ウイルス感染時の重症化	4	32	12.5
	免疫機能検査の異常	6	25	24.0
	自己免疫異常合併	6	29	20.7
	血中LDH上昇	28	33	84.8
血中フェリチン上昇	24	30	80.0	
骨所見	骨成熟の遅延	5	24	20.8
	骨折	5	29	17.2
	骨粗鬆症	11	25	44.0
	骨変形、変形性関節症	3	26	11.5
	同胞の骨折傾向、骨粗鬆症	1	25	4.0
肺・腎・眼所見他	眼症状	3	22	13.6
	KL 6-上昇	4	8	50.0
	肺疾患(間質性肺炎)	4	27	14.8
	尿細管性アシドーシス	5	27	18.5
	糸球体障害	13	27	48.1
	妊娠の既往	5	17	29.4

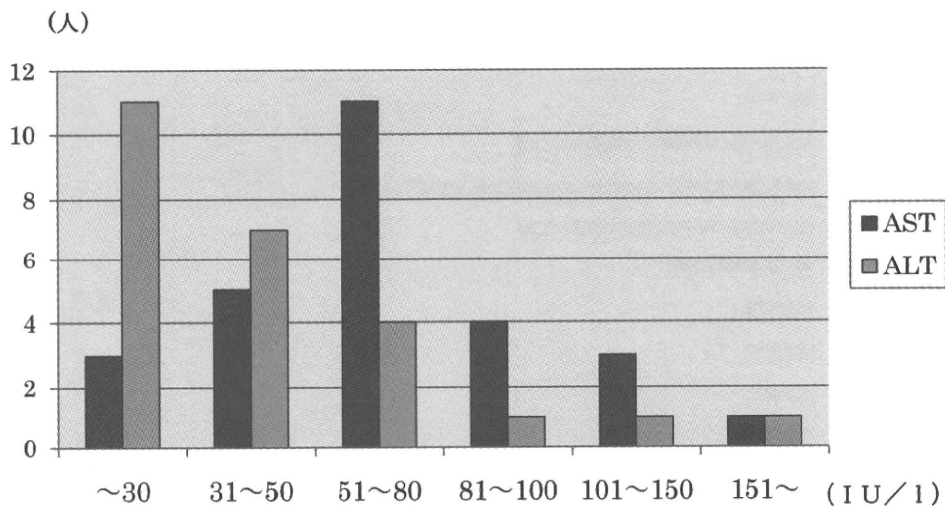


図5: 治療前のAST/ALTの分布

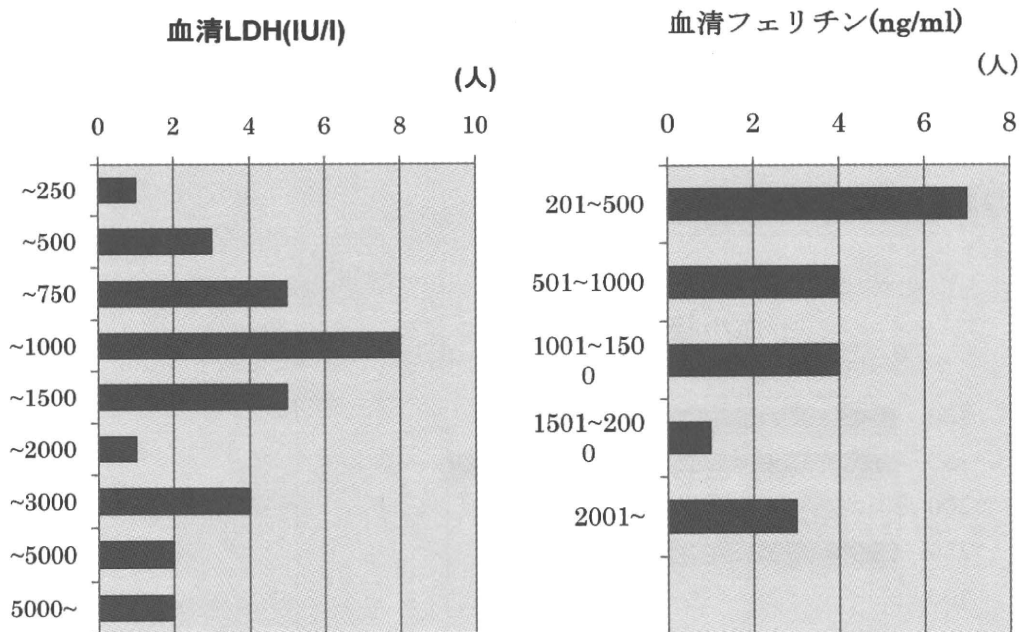


図6: 治療前の血清LDH / フェリチン値

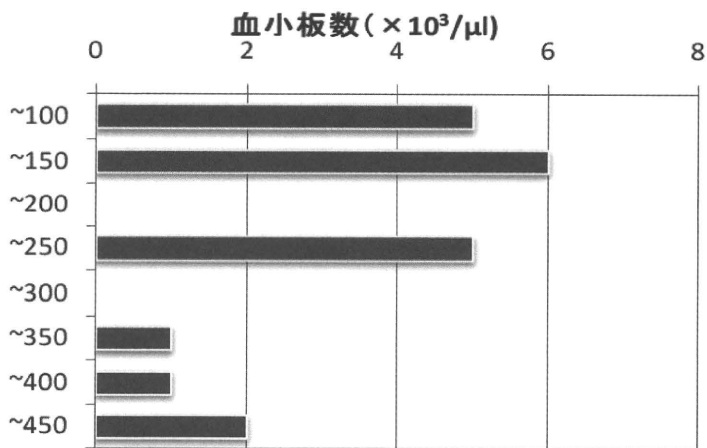
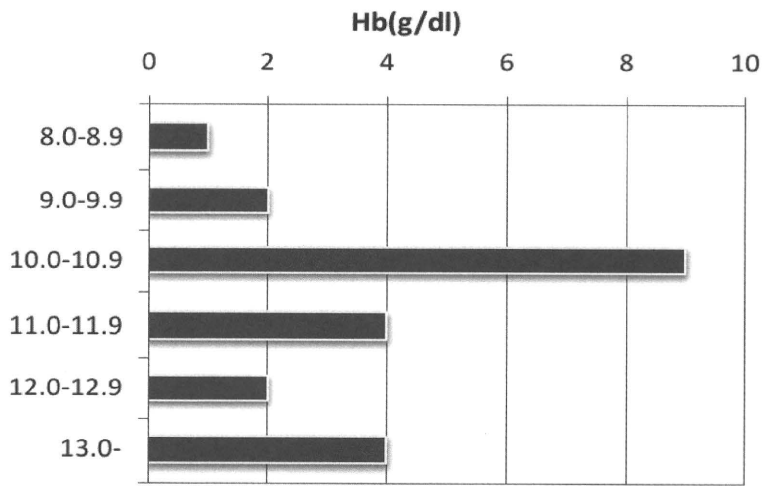
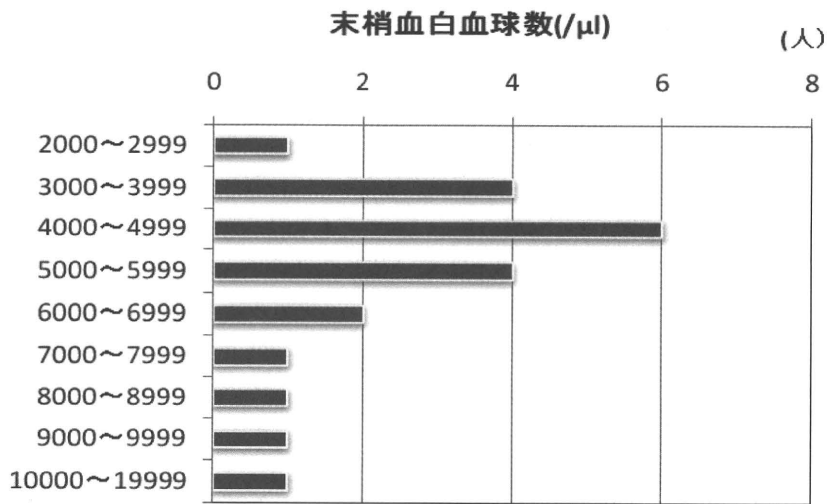


図7: 末梢血白血球・ヘモグロビン・血小板数

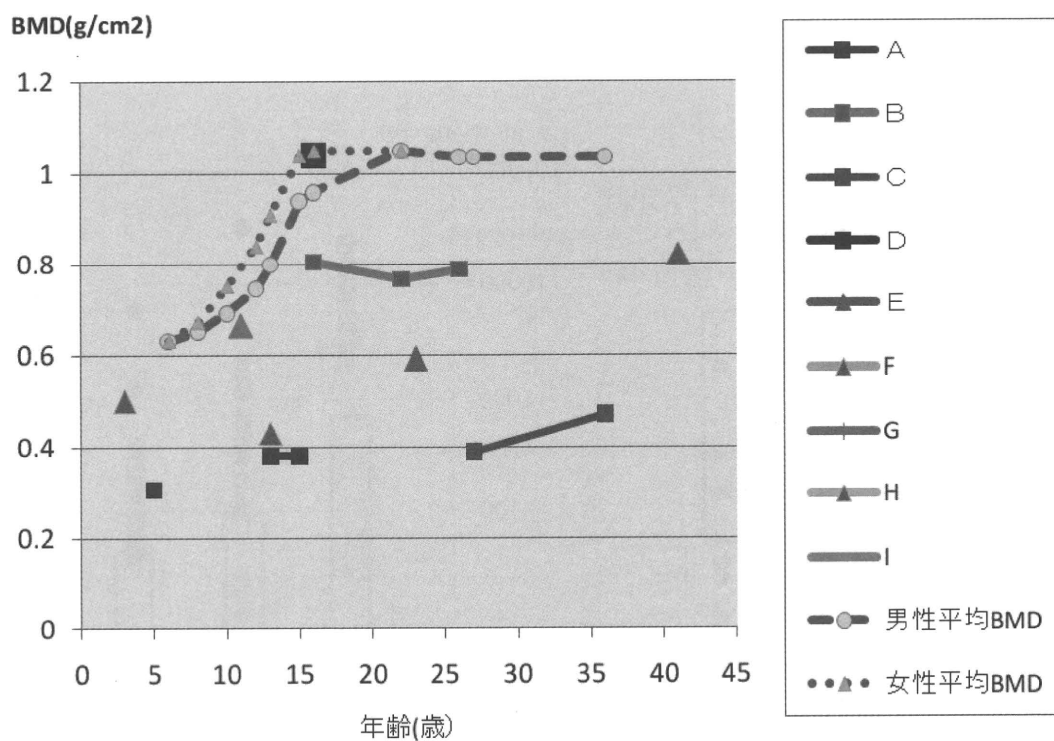


図8: LPI患者の腰椎(L2-4)骨密度(DXA)
(A~Eは男性患者、F~Iは女性患者。)

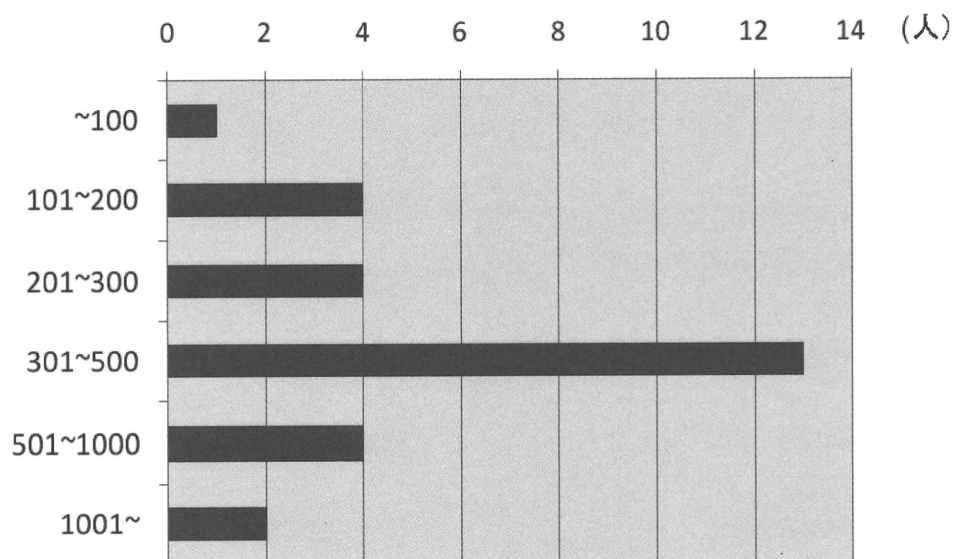
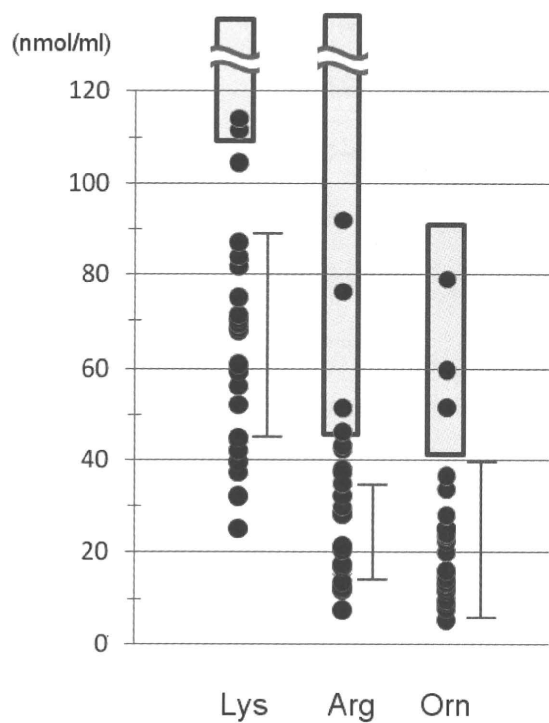


図9: 血中アンモニア最高値 (μg/ml)

血中二塩基性アミノ酸濃度



尿中二塩基性アミノ酸濃度

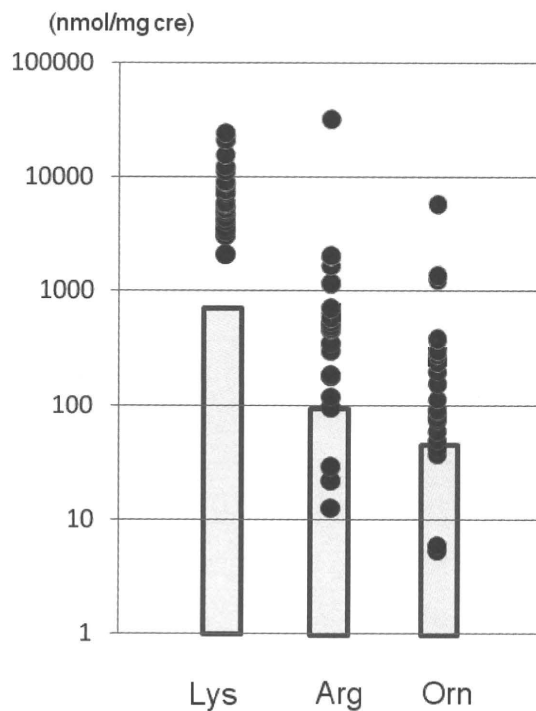


図10: LPI患者における二塩基性アミノ酸濃度

各グラフ中の bar□ は正常域を示す。
 I は患者平均±SDの血中濃度域を示している。
 右グラフの縦軸は対数表示。

表2: 本邦患者におけるSLC7A7変異の種類と割合

アレル	アレル数	割合(%)
R410X	36	42.9
S238F	14	16.7
911+G>A	7	8.3
1284+ 1 G>T	4	4.8
IVS3-IVS5del9.7kb	4	4.8
S489P	2	2.4
1291delCTTT	1	1.2
1630delC	1	1.2
1673delG	1	1.2
施行済(データ不明)	4	4.8
未施行	10	11.9
計	84	100.0

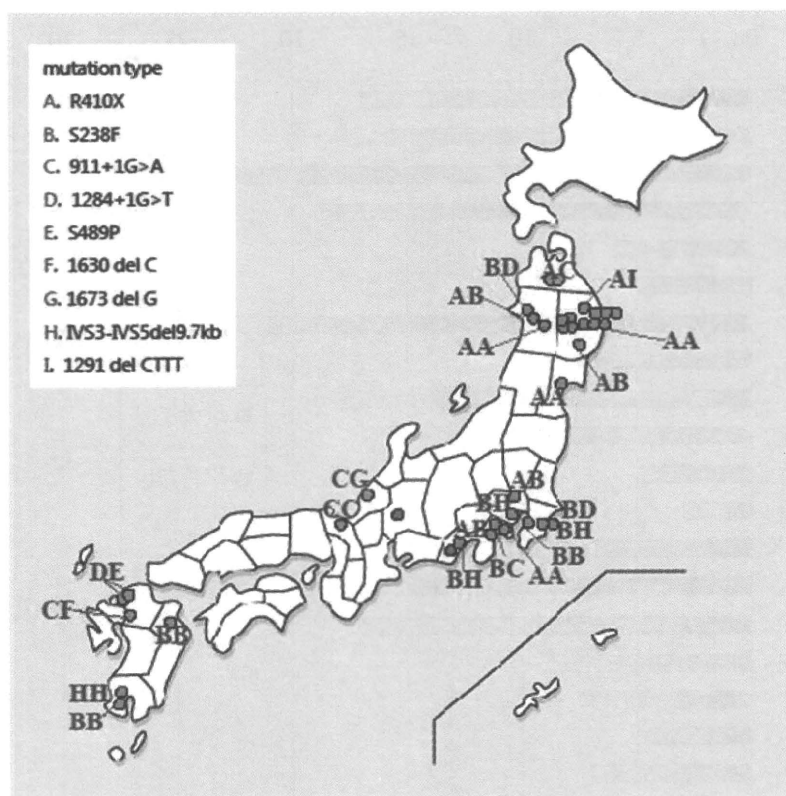


図11: 本邦におけるSLC7A7変異の分布

(解析済みのもののみを図示し未解析や解析中のものは含まない)

アルギニン投与量(mg/kg/day)

シトルリン投与量(mg/kg/day)

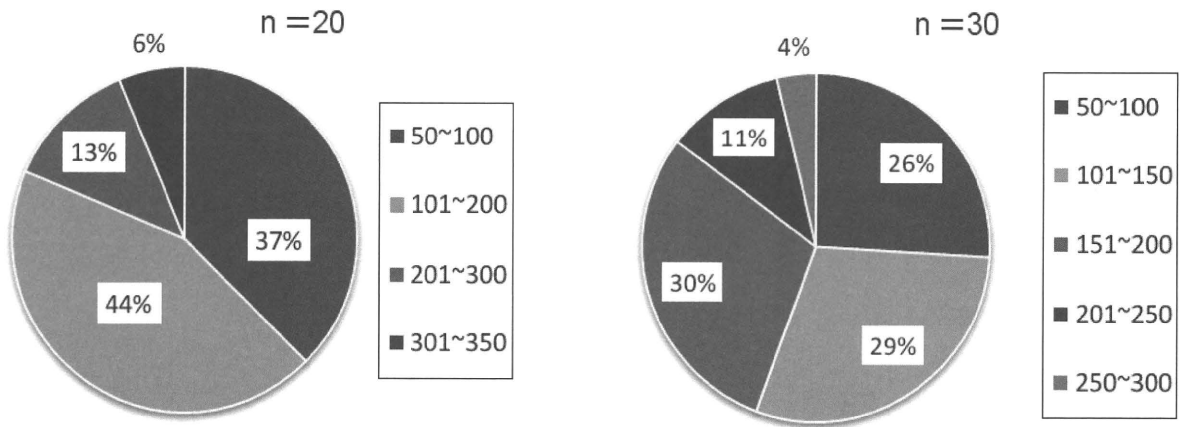


図12: アミノ酸製剤の投与量の分布

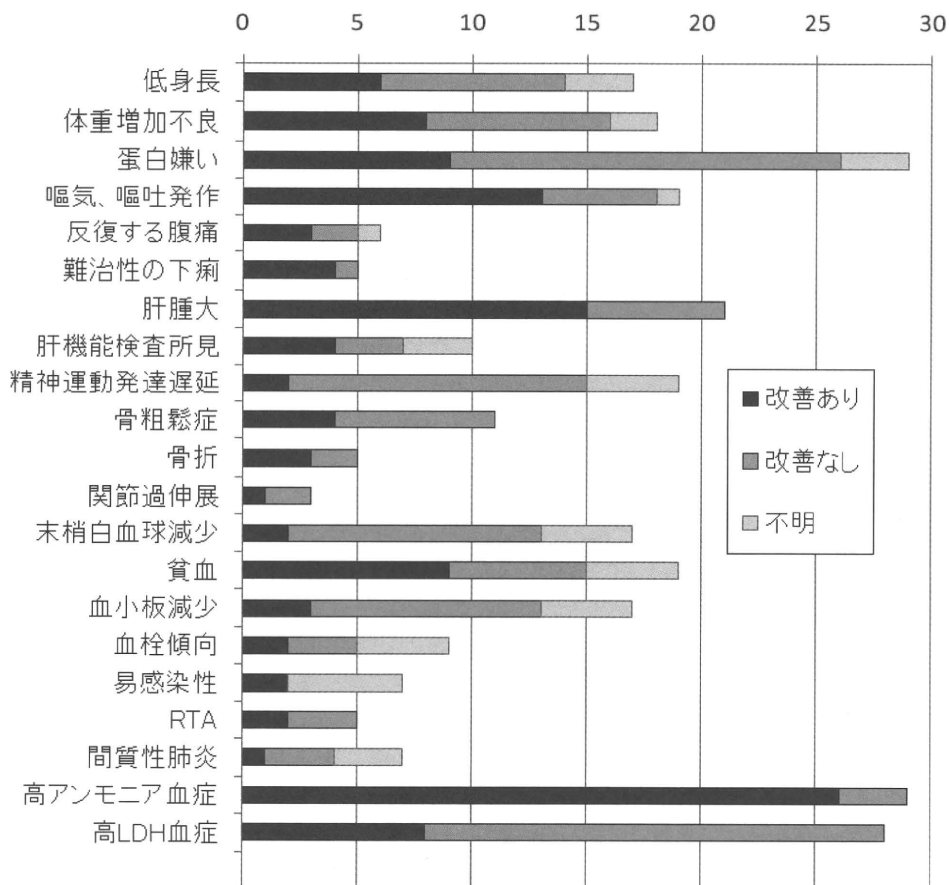


図13: シトルリン投与後の臨床症状の改善率

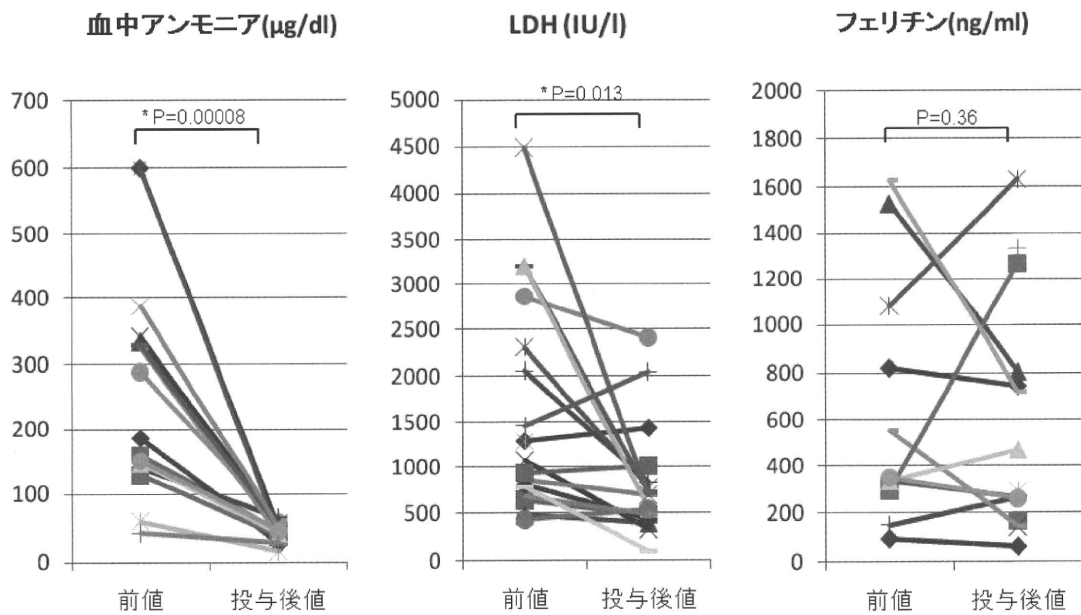


図14: シトルリン投与後の血中生化学データの変化

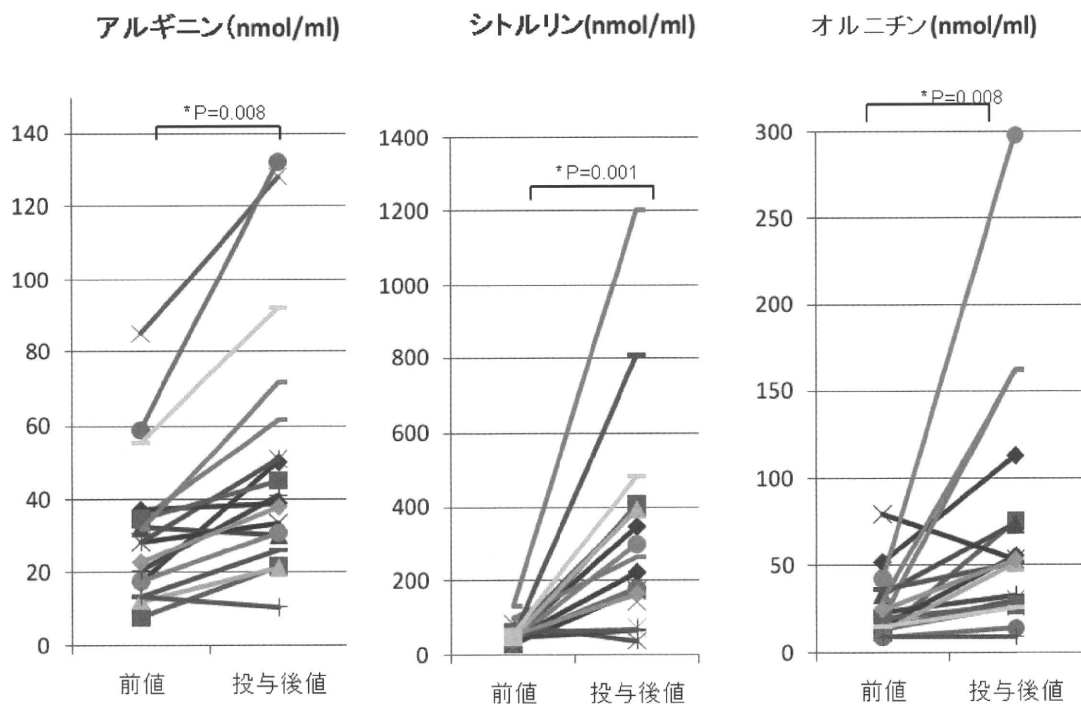


図15: シトルリン投与後の血中アミノ酸データの変化

II. 分担研究報告書

リジン尿性蛋白不耐症の全国患者数一次調査

分担研究者 野口 篤子

秋田大学大学院医学系研究科医学専攻小児科学分野助教

研究要旨

我が国におけるリジン尿性蛋白不耐症の診断治療を確立するため、本研究を遂行した。本年度の研究では、リジン尿性蛋白不耐症に関する初めての全国患者数把握調査を展開した。その結果、小児科領域から 35 例の返答を得た。これに当研究班が過去 10 年間に解析済みの症例も併せると、成人患者数の増加していることが推測された。しかしその後の内科領域を対象に行った患者数把握調査において、本疾患患者ありと回答した施設は認めなかった。近年、診断と薬物療法の発達により長期生存例も増加しつつあり、今後の成人領域のフォローアップと追跡が期待される。

A 研究目的

1) 本邦におけるリジン尿性蛋白不耐症患者の疾患頻度、および地理的分布について調査する。

2) 本疾患の臨床病態の多様性について、現状を把握する。

わが国におけるリジン尿性蛋白不耐症の患者の現況、および最先端の治療の普及状況について調査する。この調査結果に基づき、効率的な診断、治療法について多施設による前方視的検証モデルの構成を行う。

リジン尿性蛋白不耐症は、二塩基性アミノ酸（リジン、アルギニン、オルニチン）の輸送蛋白の一つである y^+LAT-1 (y^+L アミノ酸トランスポーター 1) の欠損によって発症する

常染色体劣性遺伝性疾患である。二塩基性アミノ酸の腸管からの吸収障害、腎での再吸収障害を来す結果、アミノ酸バランスの破綻、蛋白合成の低下を招き、嘔吐、下痢、体重増加不良、筋緊張低下から、高アンモニア血症による意識障害、低身長、骨折や骨粗鬆症などの多彩な諸症状を来す。臨床的にも生化学的にも多様性を有する疾患群であること、かつ疾患の認知度が低いことから、未診断かつ未治療の患者が潜在することが予想されている。本疾患は 1970 年代に疾患概念が確立され、1999 年には責任遺伝子が明らかになった。しかし本邦における患者の最新の診断基準と治療の導入状況は欧米諸国と比較すると進んでいない。

秋田大学小児科研究室では 1999 年から本疾

患患者の遺伝子解析を開始した。以前に個別に行った先行研究（2001年）では、本邦で31例の診断症例（亡くなられた例も含む）が判明した。これらの症例に加えて従来から報告がある先天性リジン尿症、高二塩基性アミノ酸尿症Ⅰ型、リジン吸収不全症候群など本症類縁疾患と判断されている症例や、遺伝学的に確定診断が困難である症例も存在すること、発症前に診断された軽症例から、寝たきりで生活の全面的介助が必要な重症型までが存在し、治療方法のコンセンサスも得られていない事実が判明した。本疾患の確定診断には血中リジン、オルニチンをはじめとする血中および尿中アミノ酸分析、そして遺伝子解析などが用いられるが、これらの所見ですら多様性に富み、その解釈に難渋する例も少なくない。

また、本疾患の主要な治療薬である「L-シトルリン」は欧米で使用が広まりつつある薬剤であるが、わが国ではこの薬剤は認可されておらず、本邦患者での治療成績も不明であった。多くの患者が恩恵を十分に受けておらず、そのことが患者の予後にも影響している。そこで、わが国においても食事療法のみならず、「L-シトルリン」を用いた治療と栄養治療のデータを集積し予後の改善をめざすため、本研究を立案した。

本年度は全国の小児科、内科を対象に一次調査を実施し、症例分布の把握に努めた。

B 研究方法

a) 本邦小児科領域におけるリジン尿性蛋白不耐症患者分布の実態調査

対象：全国の大学病院、ナショナルセンター、総合病院の小児科 計 3037 か所。

方法：各施設科長宛に、本研究の主旨、一次調査への協力依頼、本疾患の臨床的特徴を記

載した文書を郵送。患者の有無を尋ねた。回答は同封のハガキに 確定患者、疑い患者、診断のつかない高アンモニア血症患者について、診療経験数（過去も含めて）を記入し、11月中旬をめぐりに秋田大学小児科医局へ返送していただいた。

b) 本邦内科領域におけるリジン尿性蛋白不耐症患者分布の実態調査

対象：全国の大学病院、ナショナルセンター、総合病院の神経内科、腎臓内科、内分泌内科 計 1637 か所。

方法：各施設科長宛に、本研究の主旨、一次調査への協力依頼、本疾患の臨床的特徴を記載した文書を郵送。患者の有無を尋ねた。回答は同封のハガキに 確定患者、疑い患者、診断のつかない高アンモニア血症患者について、診療経験数（過去も含めて）を記入し、2011年3月中旬をめぐりに秋田大学小児科医局へ返送していただいた。

（倫理面への配慮）

疾患患者調査などの疫学調査においては文部科学省、厚生労働省による「疫学研究に関する倫理指針（平成19年11月1日施行改正）」にしたがって倫理委員会の承諾を得た上で実施した。患者様ご本人が理解が困難な場合（幼少である、重度の精神発達遅延を有するなど）には、その保護者に同意を得た。

C 研究結果

a) 本邦におけるリジン尿性蛋白不耐症患者分布の実態調査

全国の病院小児科、計3037病院にはがきを郵送し、患者の有無についての回答を得た。閉院や移転先不明、小児科閉鎖のため回答不能であった145病院を除き、回収率は

45.6%(1319施設/2892施設；2010/12/19現在)である。このうち患者ありと回答したのは21施設で患者数は35となっている。全回答施設中、確定患者ありの施設の割合は1.6%(21施設/1319施設)であった。

引き続き施行した、全国の病院内科、計1637病院を対象とした1次調査では、閉院や移転先不明で回答不能であった145病院を除き、回収率は37.0%(620施設/2892施設；2011/5/1現在)であった。しかしこのうち患者ありと回答したのは0施設であった。

患者の地理的分布結果は図1に示す。従来、岩手県には患者の集積があるとされていたが、これらの患者居住地は、岩手のなかでも北部に限局した5市町村に由来するものであった。この地区での高頻度変異を用いたスクリーニングでは、保因者頻度は0.86%となり、すなわち患者頻度は54513人に一人と推測された。また周辺の青森、秋田にも患者が認められた。関東圏、九州地方にも患者数が比較的多い結果であった。これに対し、現時点では四国、中部地方からの患者の報告はなく、患者分布には地域差がみられている。

D 考察

a) 本邦小児科領域におけるリジン尿性蛋白不耐症患者分布の実態調査

我が国で初めてのリジン尿性蛋白不耐症に関する全国調査を開始し、現時点では35例の報告が集積された。このなかで、以前に秋田大学へコンサルトされ遺伝子解析を施行済みの症例(図2青丸)のほか、新規で判明したものが十数例(図2赤丸)あった。これらの症例については臨床像や遺伝子型についての詳細なデータの蓄積が必要と考える。今後全ての患者を対象に、詳細な臨床像を把握するた

めの2次調査を行う予定である。しかし、一方で予想外に高頻度に患者の存在する地域などは存在せず、今までの予備データを覆すような結果は見られなかった。

また、本研究班班会議での討議からは、少なくとも我々が知る患者群の年齢層は着実に上昇していること、そして今回の一次調査の返信から、成人患者の一部は内科の医師が担当している可能性が高いことも明らかになった。本疾患の自然歴、長期予後を経験するには内科領域での実態を引き続き調査する必要があると推論されたことから、内科診療機関にも1次調査を依頼したが、本調査において、内科で本疾患を診療しているとの回答は得られなかった。

E 結論

本年度の研究にて、リジン尿性蛋白不耐症に関する初めての全国患者数把握調査を展開し、小児科領域から35例の返答を得た。当研究班が今までに解析済みの症例も考慮すると、成人の患者数の増加していることが推測されたが、内科領域での調査では患者数は0であり、成人期以降も小児科医がキャリーオーバーして診療にあたっていることが判明した。

F 健康危険情報

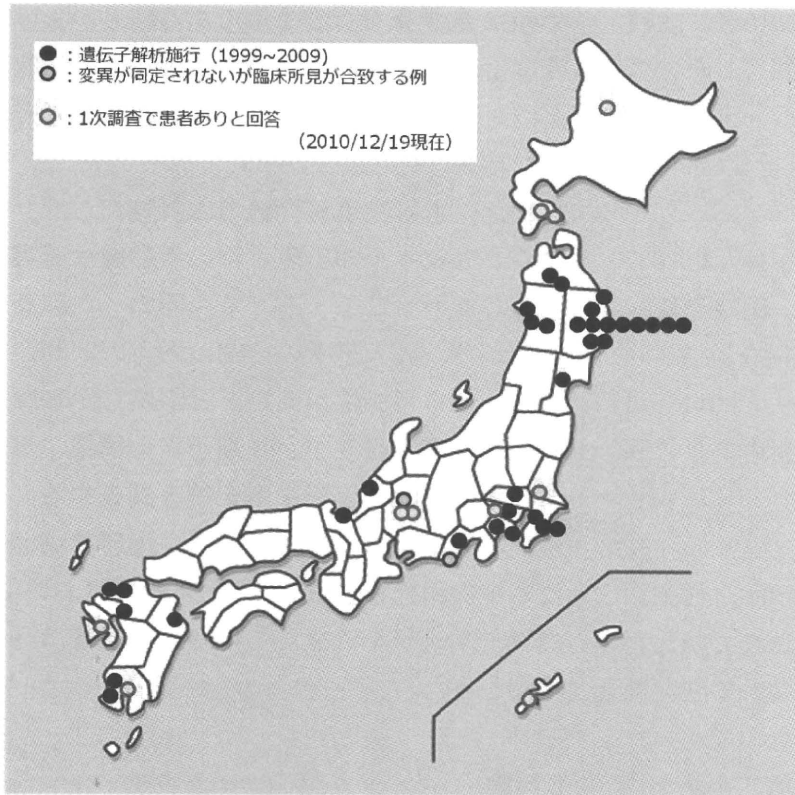
なし

G 研究発表

学会発表 なし

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



図：本邦におけるLPI患者の分布

北東北地域におけるリジン尿性蛋白不耐症の遺伝学的検討

分担研究者 野口 篤子

秋田大学大学院医学系研究科医学専攻小児科学分野助教

研究要旨

本邦のリジン尿性蛋白不耐症患者は北東北地域とくに岩手県北部に多く存在し、その遺伝子型は大多数がナンセンス変異 R410X に集約されている。この地域における患者集積の実態を把握し、遺伝学的検討を行った。本地域において高頻度変異が存在する事実からは、マススクリーニングへの応用も含め本地域での疾患の啓蒙が重要であり、早期診断のシステムの確立に寄与することが望まれる。

加えて本研究では、リジン尿性蛋白不耐症で報告の稀な、年長症例の詳細な病歴についても報告する。L-シトルリン治療の開始時期が中年期以降となった年長症例においても、蛋白摂取量や全身状態、理学所見に関して改善が得られた。リジン尿性蛋白不耐症患者の成人例は今後増加することが予想され、晩期合併症の認識と対策、QOLの向上が今後の課題である。

研究協力者氏名

高砂子祐平 もりおかこども病院 名誉院長
小松 博史 舞鶴医療センター 小児科部長

A 研究目的

1) 北東北地域における患者集積の実態を把握し、遺伝学的検討を行う。

2) 本邦におけるリジン尿性蛋白不耐症患者の長期経過例について詳細な検討を行う。

リジン尿性蛋白不耐症は、二塩基性アミノ酸（リジン、アルギニン、オルニチン）の輸

送蛋白の一つである γ^L LAT-1 (γ^L アミノ酸トランスポーター1)の欠損によって発症する常染色体劣性遺伝性疾患である。二塩基性アミノ酸の腸管からの吸収障害、腎での再吸収障害が疾患の主な病因であり、そのために種々の症状を惹起する。典型的な経過として、乳幼児期からの嘔吐、下痢、蛋白嫌い、蛋白摂取後高アンモニア血症による意識障

害がおこる。高アンモニア血症にいたる機序は、二塩基アミノ酸の腎尿細管、小腸の転送障害による尿素サイクルの機能的障害と推論されている。

さらに、本疾患では低身長、骨折や骨粗鬆症、などの多彩な諸症状を来す。本疾患は 1970 年代に疾患概念が確立され、およそ 40 年弱が経過しようとしている現在、ようやく長期経過観察による情報の集積がなされつつある。

秋田大学では 1998 年に責任遺伝子 SLC7A7 のゲノム DNA 構造を明らかにし、1999 年からは本疾患患者の遺伝子解析を開始した。その際、秋田県の症例のみならず多くの岩手県の症例、青森県の症例のデータを礎に解析を進めるに至っている。特に岩手県北部におけるナンセンス変異 R410X の地域集積は創始者効果に基づくと考えられ、本邦患者の実に 4 割を占めていることから、その遺伝学的意義は重要と思われる。

B 研究方法

研究協力施設における患者の臨床経過について報告があり、研究班班会議においても討議がなされた。

(倫理面への配慮)

疾患患者調査などの疫学調査においては文部科学省、厚生労働省による「疫学研究に関する倫理指針(平成 19 年 11 月 1 日施行改正)」にしたがって倫理委員会の承諾を得た上で実施した。患者様ご本人の理解が困難な場合(幼少である、重度の精神発達遅延を有するなど)には、その保護者に同意を得た。また患者の遺伝子解析に係る研究においては「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従って遂行した。

C 研究結果

「岩手におけるリジン尿性蛋白不耐症の臨床的検討」

もりおかこども病院(研究協力者:高砂子祐平先生)より、2 家系、12 症例のリジン尿性蛋白不耐症(以下 L P I と略)の報告があった。

症例の治療要約は以下の通りである。

(1) シトルリンの投与:全症例に 100~150 mg / k g / 日 を維持投与。

(2) アルギニンの投与 :アルギUとして 100mg / k g / 日 を 6 症例に投与した。

(3) 安息香酸ナトリウムの投与:2 症例に投与した。

(4) ビタミン D の投与

1. 遺伝子型

R 4 1 0 X のホモ接合体で 11 例、残り 1 例は R 4 1 0 X と S 2 3 8 F のヘテロ接合体であった。

2. 症状

下痢、嘔吐、蛋白嫌いが 100%、低身長が 83%、腎尿細管障害が 81%、肝障害 75%、肝脾腫 58%、意識障害 50%、知能障害 33%骨折は 2 症例、自己免疫性疾患は 3 名であった。1 例では脳症後脳性麻痺を生じた。5 才の時、突然ふらつき、転倒、脱力発作より前屈発作、ミオクロヌス性発作、バリスマスを起こし、脳症 9 ヶ月後の MRI で脳萎縮を認めている。

3. 臨床検査所見

高アンモニア血症は全例にあり、フェリチン、LDH も全例高値、かつ尿中オロト酸も全例高値であった。白血球血小板減少は 8

3%、尿中 β 2MGの増加は 66% 血清AST・ALTの高値は 75%、アシドーシスは 41%に認めた。

4. アミノ酸検査所見

尿アミノ酸はリジン・アルギニンの排泄増加が 100%、血中アルギニンの低値が 100%に、リジンの低値は 91%に認めた。

5. アミノ酸吸収負荷試験

リジン、アルギニン、シトルリンの吸収テストではシトルリンの吸収は良好でアルギニンの吸収は 4~1.4 倍の吸収であった。

6. 治療

治療開始前には血中アンモニアレベルは 200~1000 μ g/dl 超まで変動し、異常行動も垣間見られていた。その後、L-シトルリンの内服投与 (200~300mg/kg/day) を開始したところ、血中アンモニアは速やかにほぼ正常域に低下し、かつ安定して推移した。シトルリン投与により、高アンモニア血症を防止出来た。

7. 当地方における新生児マススクリーニングの試み

R410Xを用いたLPIの新生児マススクリーニングを施行した。調査において、県北部の一部の地域住民の協力を得て行った 6,304 人のスクリーニングにおいて、R410Xのホモ接合体のLPIは発見されなかった。ヘテロ接合体は 54 人(0.86%)に発見された (図 1)。

「長期間経過観察し得ているリジン尿性蛋白不耐症の一例」

現在 54 歳であり、長期にわたり観察をなしえているリジン尿性蛋白不耐症症例の臨床像について、研究協力者である小松博史先生

より報告があった。

症例：54 歳女性。

家族歴：両親は血族結婚。

満期産、体重 3,000g で出生し、3 歳までは正常発育・発達をとげた。4 歳時、腹痛、意識混濁、徘徊、痙攣が出現し、てんかんとして抗てんかん薬の投与を受けたがコントロールは不良であった。

小学校では普通学級に進学したが、小学校 4 年生で麻疹罹患時に、意識障害・肝機能障害・高アンモニア血症を認め、その後徐々に退行していった。

16 歳で高アンモニア血症を指摘される。身長-3.3SD, IQ 34 (田中ビネー式)と低身長および知的障害を認めた。尿素サイクル異常を疑われ肝生検組織にて酵素活性の測定を行ったが異常を認めなかった。以後、原因不明の高アンモニア血症として抗痙攣剤の投与を継続されていた。

41 歳(1997)、高アンモニア血症にて入院。身長 141.4cm, 体重 40kg で肝臓を 2 横指触知した。神経学的には田中ビネー式で IQ 34 と重度精神遅滞を認めるが、四肢の運動には問題なく深部腱反射も正常であった。頭部CTでは著明な大脳皮質の萎縮を呈していた。EEG 上は slow wave dysrhythmia がみられたが明らかな spike は認めなかった。腰椎X線では骨密度の低下が確認された。血中リジン(55nmol/ml)、アルギニン(15.9nmol/ml)、オルニチン 87.7nmol/ml)の低下、尿中排泄の増多(リジン 8100nmol/mgCre、アルギニン 470nmol/mgCre オルニチン 90nmol/mgCre)が判明しLPIと診断された(今村俊彦他 日本先天代謝異常学会 1999)。

のちに遺伝子解析でもスプライス異常がホ

モ接合で確認されている。

40～42 歳頃に閉経、その後 45 歳と 47 歳時に右大腿骨頸部骨折および L1 腰椎圧迫骨折を生じている。

2008/11 月 (52 歳) より L-シトルリンの内服治療を開始した。血中シトルリン値は 1000nmol/ml 前後の高値を維持し、血中アルギニン、オルニチン値も前値に比べ上昇を示しているがリジンの変化はない。以後、シトルリンの内服継続により、全身状態は良好に保たれている。

成人期以降は、早老の傾向が目立つようになったものの、小児期にスイカを食べると体調が良いということから自然に学習し、その後スイカを摂取させる努力を惜しまなかったことが、本症例の長期にわたる良好な経過をもたらした可能性が高い。母の弁では夏期にスイカを食べている間は発作の頻度が少ないとの事であった。

D. 考察

1. 岩手県北部を中心にした 1 遺伝子変異の地域集積性について

我々は、日本で頻度が高かったこの R410 変異が、日本人 LPI において founder effect であるのかどうかを評価するためのハプロタイプ検索を施行した。当研究グループでは、以前に SLC7A7 ゲノム構造の解析において、本遺伝子の翻訳領域内に、4 つの SNPs と 1 つのタンデム (GT) リピートが存在することを見出している。この 5 種を用いてのハプロタイプ解析を、岩手、青森、秋田地域で R410X 変異および S238F 変異を有する患者を対象に行った。

解析できた患者アレルにおいて、4 種の SNPs は各々 2 タイプ、GT リピートは 4 タイプ、さらに本遺伝子から 240kb 離れた場所にあるマイクロサテライトマーカー TCRA、および 490kb 離れた場所にある D14S283 は 6 タイプのパターンを有していた。

この SNPs の各タイプを番号で識別し、翻訳領域内のマーカーを C 末端側から並べた。

(図 2)

S238F 変異をもつアレルでは、責任遺伝子内に限った場合は、6 アレル中 5 アレルでハプロタイプ 1 1 1 1 2 との共分離、co-segregation を認めた。

また R410X 変異では、責任遺伝子内に限った場合は、ハプロタイプ 0 0 0 0 1 と co-segregation しているのがほとんど (91%) であった。

一方正常日本人 33 人におけるハプロタイプ解析では、S238F 変異で見られたハプロタイプ 1 1 1 1 2 の頻度は推定で多く見積もっても 6%、R410X 変異で見られたハプロタイプ 0 0 0 0 1 は 9% と双方共に低い頻度であった。

以上から、この二つの遺伝子変異には、日本人 LPI 症例における founder effect の存在が推定された。日本人 LPI の発症起源を考える上で、興味深い情報となると考えられる。さらに、この R410X が founder mutation であり地域集積性があることをもとに、岩手県北部におけるマススクリーニングを試みた (Koizumi A, Takasago Y, et al. Human Mutation 2000, Gene test 2003)。その後も調査症例を蓄積した結果、前述のように 6304 人の新生児の検索で、54 人のヘテロ接合体が見つかった。すなわち、保因者頻度は 116.7 人に 1 人、発症頻度は 54513 人に 1 人