

総合研究報告書

する。飢餓時の低血糖が主な症状で、上述したアイソザイムの関係で心臓や筋肉の症状は伴わない。

【病因】

染色体 11q13.3 に局在する *CPT1* 遺伝子の劣性遺伝性の変異のホモ接合あるいは複合ヘテロ接合によって発症する。遺伝子変異検索はいまだ十分なデータが出ていないので、日本人に多い遺伝子変異があるかなどについては確定的なことは言えない。

わが国での頻度はタンデムマスによる新生児パイロットスクリーニングの結果<sup>3)4)</sup>から見るとおよそ 32 万人に 1 人と推定される。アンケートの結果からは 5 例が確認されており、ライ様症候群での急性発症が 3 例、マススクリーニング発見例が 2 例であった。

【臨床像】

新生児期から乳幼児期にかけて、空腹時、あるいは感染症罹患時などに低ケトン性低血糖症や高アンモニア血症により嘔吐、意識障害や痙攣などを繰り返し、脳障害や突然死を来すことがある。発作時に CK が増加することはあるが、心筋障害や筋力低下など骨格筋障害による症状は認めない。

【診断】

新生児濾紙血マススクリーニングでは C0/(C16+C18)比が 100 以上の場合に精査に回し、酵素活性で診断する。血清を用いたタンデムマス分析は診断の役に立たない。

【治療】

飢餓に伴う低血糖の防止が治療の原則である。低血糖の防止は、頻回哺乳、MCT（中鎖トリグリセリド）の使用、飢餓時のブドウ糖を含む補液、脂質摂取制限などにより行う。脂質摂取制限時には、必須脂肪酸が不足しないように注意する。血中にも細胞内にも遊離カルニチンは増加しているので、L-カルニチンの補充は行わない。これらの早期治療により脳障害や突然死を防ぐことが出来る。具体的治療法は *CPT2* 欠損症の①～③と⑤がそのまま当てはまるので参照されたい。

（大竹 明）

3. カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-2 欠損症 (*Carnitine palmitoyltransferase 2 (CPT2) deficiency*; MIM#255110; late onset, #608836; lethal neonatal, #600649; infantile)

### 【概念】

脂肪酸をミトコンドリア内に輸送する仕組みの中で、ミトコンドリア内に取り込まれたアシルカルニチンからカルニチンを切り離す酵素カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-2 (CPT2) の異常が原因である。長鎖脂肪酸は代謝されないが、中鎖脂肪酸は代謝される。常染色体劣性遺伝をする。飢餓時の低血糖と筋力低下が主な症状で、軽症型では筋症状が主である。

脂肪酸酸化は心筋、骨格筋においてのエネルギー産生に重要であり、また飢餓に対する血中グルコース維持のための肝臓でのケトン体産生にとって重要である。従って CPT2 欠損症ではこの心筋、骨格筋、肝臓に障害が出ることになる。本症では、残存活性と臨床像に相関がみられる。残存活性がほとんどないと出生前発症型、少しあると乳児発症型、ある程度あると骨格筋型として発症すると考えられる。

### 【病因】

染色体 1p32.3 に局在する *CPT2* 遺伝子の劣性遺伝性の変異のホモ接合あるいは複合ヘテロ接合によって発症する。遺伝子変異検索はいまだ十分なデータが出ていないので、日本人に多い遺伝子変異があるかなどについては確定的なことは言えない。安野らは日本人 CPT2 欠損症症例では欧米とは異なり F383Y 変異が多いと報告している。木戸らは CPT2 欠損症の遺伝子解析から熱感受性多型の疾患概念を提唱している。本疾患とインフルエンザ脳症などとの関連を解明する有力な手がかりと思われる。

わが国での頻度はタンデムマスによる新生児パイロットスクリーニングの結果<sup>34)</sup>から見るとおよそ 32 万人に 1 人と推定されるが、発症して診断される患者の頻度から判断するとわが国で最も頻度が高い脂肪酸酸化異常症の 1 つと考えられる。アンケートの結果からは 7 例が確認されておりいずれも急性発症例で、ライ様症候群が 6 例、横紋筋融解症が 1 例であった。

### 【臨床像】

重症例では、新生児期から乳幼児期にかけて、空腹時、あるいは感染症罹患時などに低ケトン性低血糖症や高アンモニア血症により嘔吐、意識障害や痙攣などを繰り返し、脳障害や突然死を来すことがある。心筋や骨格筋の障害も見られる。心筋障害が急速に進行する最重症型では、治療効果が充分でない場合がある。筋症状が主体の軽症型では、幼児期から思春期にかけて、筋力低下や筋痛といった筋症状が見られるようになり、発作的に筋組織が崩壊する横紋筋融解症を反復する。横紋筋融解により腎障害を来す場合がある。一般検査では筋由来 CK の上昇が見られ、飢餓や運動負荷により増悪する。

急激な横紋筋融解症では、ミオグロブリンによる尿細管の閉塞により急性腎不全をきたすことがある。長期管理例において一番重要な合併症は心筋症である。これを防止するた

めに奇数鎖脂肪酸の投与が試みられている。妊娠時の急激なエネルギー必要性の増大や出産時のストレスやカロリー摂取不足による、急性発作の出現を防止することは重要である。

### 【診断】

新生児濾紙血マススクリーニングでは C16 が 3nmol/ml 以上で、かつ (C16+C18:1)/C2 比が 0.62 以上の時に精査に回す。血清タンデムマスで C16 が 0.3nmol/ml 以上の時に酵素アッセイや遺伝子解析で確定診断する。鑑別で最も重要なのはカルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ欠損症であり、タンデムマスでは鑑別はできず酵素アッセイに待つ必要がある。

### 【治療】

最重症型を除き、飢餓に伴う低血糖の防止と運動負荷による筋障害進行の防止が治療の原則である。低血糖の防止は、頻回哺乳、MCT（中鎖トリグリセリド）の使用、飢餓時のブドウ糖を含む補液、脂質摂取制限などにより行う。筋症状については、MCT の使用、脂質摂取制限、運動制限などで対応する。脂質摂取制限時には、必須脂肪酸が不足しないように注意する。これらの早期治療により脳障害や突然死を防ぐことが出来る。早期治療を受けた患児での骨格筋障害は重篤ではないようであるが、長期予後についての知見は未だ少ない。

具体的治療法<sup>2)</sup>は以下の通りである。

- ① MCT ミルク：「必須脂肪酸強化 MCT フォーマーミュラ」（明治 721）の使用：マススクリーニングで発見された患児は、母乳（調製粉乳）と MCT ミルクを 1：1 に混合して哺乳する。血糖測定（特に哺乳間隔が延びる夜間に）を行い、低血糖が見られる場合には MCT ミルクのみにする。生後 5 ヶ月以降は MCT ミルクの割合を 20%程度にするが、症状にあわせて加減する（1 歳未満では MCT ミルクの割合を 3/4 にするという治療指針もある）。食事間隔は飢餓時間（表 2 参照）を目安にする。
- ② 夜間の低血糖への対応：糖原病での治療に準じて生コーンスターチの使用も考慮する。
- ③ 長鎖脂肪酸制限：離乳食開始時以降は、長鎖脂肪酸摂取量が総カロリーの 5・10%以下になるように食品を選択する。定期的に「血中脂肪酸 4 分画」を測定し、必須脂肪酸欠乏でないか確認する。
- ④ L-カルニチン補充：血中遊離カルニチン濃度が 15nmol/ml 以下にならないようにする。
- ⑤ 飢餓時の対応：発熱を伴う感染症や消化器症状（嘔吐・口内炎など）などにより、飢餓時間の目安を超えて経口摂取が出来ない時には、医療機関での救急対応で、血糖をモニターしながらブドウ糖を含む補液を行う。
- ⑥ 運動制限：血清 CK 値をモニターし、運動量との相関を評価し、過度な運動負荷を避けることで横紋筋融解を予防し、腎機能の悪化を防ぐ。一方で、肥満や過保護にならないような生活指導を行う。

高柳らの日本人における 17 家系の CPT2 欠損症の報告によると、死亡症例を有する家系が 4 家系も確認できた。診断のついた症例の予後は良好であるとのことである。このことから CPT2 欠損症を新生児マススクリーニングにて発見することは有意義であると思われる。

（高柳正樹）

#### 4. カルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ欠損症（Carnitine-acylcarnitine translocase (CACT) deficiency; MIM#212138）

##### 【概念】

細胞内に取り込まれた脂肪酸はカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 1 (CPT1) によりカルニチンとエステル結合してアシルカルニチンとなる。このアシルカルニチンはミトコンドリア内膜に局在しているカルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ (CACT) によりミトコンドリアのマトリックス内に運び込まれる。ここでカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 2 (CPT2) によりアシルカルニチンは再び脂肪酸とカルニチンとに分離される。遊離されたカルニチンは再び CACT によりミトコンドリアの外に搬送される。これがカルニチンサイクルである。この CACT の欠損によりアシルカルニチンは分離されず、そこに結合していた脂肪酸は脂肪酸酸化の材料として利用できない。この病態は CPT2 欠損症とほぼ同じである。この酵素の欠損症では長鎖脂肪酸は代謝されないが、中鎖脂肪酸は代謝される。常染色体劣性遺伝をする。飢餓時の低血糖と障害が主な症状で、わが国では非常に希と考えられている。最近の脂肪酸酸化異常症の診断技術の進歩により診断される患者の数が増多している。

##### 【病因】

CACT は *SLC25A20* 遺伝子 (3p21.31 に局在) にコードされている。この遺伝子の変異により CACT 活性が低下すると、脂肪酸酸化によるエネルギー産生が低下し、症状発現にいたる。タンデムマスによる新生児パイロットスクリーニング<sup>3)4)</sup>では今のところ 1 人も見つかっていない。アンケートの結果からも 1 例が確認されているのみであり、ライ様症候群での急性発症例であった。

##### 【臨床像】

新生児期から乳幼児期にかけて、空腹時、あるいは感染症罹患時などに低ケトン性低血糖症や高アンモニア血症により嘔吐、意識障害や痙攣などを繰り返し、脳障害や突然死を来すことがある。心筋や骨格筋の障害も見られる。肝腫大が認められることもある。筋や肝臓には脂肪滴が蓄積し、長時間の運動ができなくなり、筋力低下、筋痛などが起きる。

総合研究報告書

また数時間以上の空腹に耐えられなくなることもある。心筋障害が急速に進行する最重症型では、治療効果が充分でない場合がある。発作的に筋組織が崩壊する横紋筋融解症を反復する場合には、腎障害を来す場合がある。一般検査では筋由来 CK の上昇が見られ、飢餓や運動負荷により増悪する。全く症状のないときでも CK の強い上昇を認めることも多い。CPT2 欠損症に比し臨床症状は重症であると考えられる。

急激な横紋筋融解症では、ミオグロブリンによる尿細管の閉塞により、急性腎不全をきたすことがある。長期管理例において一番重要な合併症は心筋症である。これを防止するために奇数鎖の脂肪酸の投与が試みられている。妊娠時の急激なエネルギー必要性の増大や出産時のストレスやカロリー摂取不足による、急性発作の出現を防止することは重要である。

【診断】

新生児濾紙血マススクリーニングでは C16 が 3nmol/ml 以上で、かつ (C16+C18:1)/C2 比が 0.62 以上の時に精査に回す。血清タンデムマスで C16 が 0.3nmol/ml 以上の時に酵素アッセイや遺伝子解析で確定診断する。鑑別で最も重要なのは CPT2 欠損症であり、タンデムマスでは鑑別はできず酵素アッセイに待つ必要がある。

【治療】

治療法は CPT2 欠損症と同じであるのでその章を参照されたい。

(高柳正樹)

5. 極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症 (Very long-chain acyl-CoA dehydrogenase (VLCAD) deficiency; MIM#201475)

【概念】

極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase; VLCAD) は脂肪酸β酸化系酵素のひとつで、ミトコンドリア内膜に局在し、ミトコンドリア内に運び込まれた飽和長鎖 n-アシル CoA を 2-エノイル CoA へと変換する反応を触媒する。炭素鎖数 (C)12-24 のアシル CoA に代謝活性を示し、至適基質は C16 である。本酵素の欠損症では、糖質からのエネルギー供給が不足する状況において、肝での糖新生障害による低血糖症や、筋力低下・筋痛から横紋筋融解症に及ぶ骨格筋症状を発作性に反復するのが典型的な病像である。

【病因】

VLCAD 欠損症は常染色体劣性遺伝性を示し、責任遺伝子は 17p13.1 に局在する *ACADVL* である。わが国での頻度はタンデムマスによる新生児パイロトスクリーニングの結果<sup>3)4)</sup> から見るとおよそ 13 万人に 1 人と推定され、最も多い脂肪酸代謝異常症である。アンケートの結果からも 17 例が確認されており、ライ様症候群での急性発症が 5 例、筋肉症状を中心とする慢性発症が 4 例、マススクリーニング発見例が 8 例であった。

### 【臨床像】

本疾患では比較的明瞭な遺伝子型・表現型相関が報告されており、変異酵素の残存活性に応じて、新生児期に発症し心筋症を伴う重症型、乳幼児期に低血糖症で発症する中間型、幼児期以降に骨格筋症状を繰り返す遅発型に大別される。

#### (1)新生児型／重症型

典型的には出生後間もなく、心筋症・肝腫大・筋緊張低下・低ケトン性低血糖症などで発症する。同様の発症が乳児期を通じて起こりうる。この病型は高度の心筋障害のため救命困難なことが多い。

#### (2)中間型

乳幼児期に低ケトン性低血糖症で発症する（心筋症を伴わない）病型である。高アンモニア血症を伴う Reye 症候群様の急性脳症を呈する場合や、急激に心停止に至る場合などがあり、乳幼児突然死の一因となる。中鎖アシル-CoA 脱水素酵素（MCAD）欠損症の急性発症に類似するが、本疾患では骨格筋障害による血清 CK の高度な上昇を伴う。

#### (3)遅発型／骨格筋型

幼児期以降に筋力低下・筋痛などの症状が間欠的に現れる病型で、心筋症や低血糖症は見られない。典型的には発作的な横紋筋融解を反復し、運動負荷が誘因となることが多い。症状間欠期には血清 CK など筋逸脱酵素は正常化し、慢性進行性に経過する筋疾患との鑑別点となる。

各病型の頻度に関して、2002-2011 年に広島大学小児科で診断された 11 例の内訳は、新生児型 1 例／中間型 2 例／遅発型 8 例 となっており、日本国内では骨格筋症状主体の遅発型症例が多いと考えられる。

本疾患の自然経過としては、慢性進行性の臓器病変は少ない。

慢性心不全：心筋症を伴う重症型症例が救命された場合に問題となる。

中枢神経系障害：低血糖症や急性脳症での急性発症の後遺症として生じる。

腎障害：横紋筋融解症に合併しうる。

新生児スクリーニングで未発症例の診断が増加し、予後改善に関する報告も増えているが、まだ明確な評価には至っていない。中間型の急性発症による重度後遺障害や突然死の予防には有効と考えられている。心筋症を伴う重症型は予後不良例が多いが、早期治療によって良好な経過が得られているケースも出てきている。骨格筋型症例の 10-20% は、診断・治療導入後も横紋筋融解を繰り返すことが示唆されている。

## 総合研究報告書

## 【診断】

本疾患の診断にはまず、タンデムマス法にて濾紙血または血清中の長鎖アシルカルニチン増加をスクリーニングする必要がある。主な指標として炭素鎖数 14 の一価不飽和アシルカルニチン (C14:1) が用いられる。新生児スクリーニングの場合、国内では日齢 5 での採血を前提として「C14:1>0.4nmol/ml かつ C14:1/C2>0.013」という基準値が提示されている。原則的には再検濾紙血で陽性となった例が精検対象となるが、C14:1>1.0nmol/ml は即精検とすることが推奨されている。欧米の経験では C14:1<1.0nmol/ml ではヘテロ保因者や正常者が混在することが示されており、C14:1/C2 ほか各種の比を用いても罹患者との完全な分離は困難とされている。また、偽陰性による見逃しの防止には生後 48-72 時間で濾紙血を採取することが重要とされ、哺乳の確立が進む再検時濾紙血や精査時血清では、異常値が不明瞭化していく傾向が認められている。症候例の場合、急性期血清では異化亢進に伴う非特異的な C14:1 軽度上昇が起りやすく、ケトン性低血糖症例を中心に偽陽性が少なからず生じる。また、安定状態の検体ではやはり異常値が不明瞭となりやすい。従って、タンデムマス陽性所見の確定診断には、酵素活性測定や遺伝子解析が必要となる。特に偽陽性例の除外には酵素診断が必須である。

## 【治療】

本疾患の治療については、国内では(A)「特殊ミルク改良開発部会」からの指針<sup>2)</sup>が出ている。その後、(B)ヨーロッパ先天代謝異常学会 (SSIEM) から「長鎖脂肪酸代謝異常の推奨治療に関するコンセンサス」<sup>3)</sup>が示された。VLCAD 欠損症については 32 例の診療経験に基づく専門家の見解がまとめられているが、今後の再検討を前提とした暫定的な内容が主体となっている。ここでは(A)(B)の記載を中心に、関連する最近の文献的知見を交えて現状を呈示する。

## (1)長時間の空腹状態の回避

本疾患を含む脂肪酸代謝異常症全般について、治療方針の基本となるものである。国内指針および欧州コンセンサスの基準値を表にまとめたが、これらは症状のない安定状態のものであり、体調不良時など異化亢進ストレスの負荷が存在する状況では、より短時間とする必要がある。

<安定状態にある場合の空腹時間に関する推奨基準>

	空腹時間上限 (hr)		
	国内指針	欧州コンセンサス	
新生児期	3	3 (昼夜とも)	
～6 か月	4	4 (昼夜とも)	3 か月以降、栄養状態良好なら夜間は 6 時間まで延長しうる。

総合研究報告書

～12か月	6	4（昼） 6(-8)（夜）	6か月以降、栄養状態良好なら夜間は8時間まで延長しうる。
～3歳	8	4（昼） 10(-12)（夜）	
4歳～	10	4（昼） 10(-12)（夜）	※7歳まで

(2)食餌療法：新生児期～離乳食開始まで

国内指針	欧州コンセンサス
母乳（または一般的な調整粉乳）と「必須脂肪酸強化 MCT フォーミュラ」を 1:1 の割合で与える。	未発症例：母乳（または一般的な調整粉乳）と MCT 添加低脂肪フォーミュラを 1:1 の割合で与える。
低血糖が認められる場合は「必須脂肪酸強化 MCT フォーミュラ」のみとする。	既発症例（CK,AST,ALT の異常を含む）：MCT 添加低脂肪フォーミュラのみとして、必須脂肪酸を追加補充する。

※日欧の中鎖脂肪（medium-chain triglyceride; MCT）ミルクの比較

	明治必須脂肪酸強化 MCT フォーミュラ	Monogen, SHS	Basic-f, Milupa +MCT oil 2.0g/100ml
長鎖脂肪 (LCT)	0.28g/100ml	0.21g/100ml	0.06g/100ml
MCT	2.87g/100ml	1.89g/100ml	2.00g/100ml
リノール酸	0.28g/100ml	未発症で CK, AST, ALT 正常の場合は不添加。既発症例にはクルミ油・大豆油・小麦胚芽油として 3.5g/日を与える。	
α-リノレン酸	0.07g/100ml		

(3)食餌療法：離乳期以降

国内指針	欧州コンセンサス
MCT ミルクの割合を 20%程度にするが、症状に合わせて加減する。 ※「1歳未満では MCT ミルクの割合を 3/4 にするという治療指針もある」と併記されている。 LCT エネルギー比率が 5-10%	未発症例：脂肪エネルギー比率を 30-40%に低減する*1。 脂肪由来エネルギーの 10-15%を MCT に割り当てる。  既発症例（CK,AST,ALT 異常を含む）：脂肪エネルギー比率*1を 25-30(-40)%に低減する。 脂肪由来エネルギーの 20%を MCT に*2、3-4%を



<p>以下になるように食品を選択する。定期的に血中脂肪酸4分画を測定し、必須脂肪酸欠乏でないかを確認する。</p>	<p>必須脂肪酸に割り当てる*3。</p>
---	-----------------------

\*1 欧州での脂肪(LCT)エネルギー比率の推奨値：健常乳児 40-45%，学童期 30-35%。\*2 実際には利用可能な食品に限られるため、MCT エネルギー比率は通常 15%程度に留まる。\*3 健常児の推奨摂取量（クルミ油・大豆油・小麦胚芽油として）：4-12 か月 5g/日，1歳～4歳未満 6g/日，4歳以上 10g/日。

#### (4)食餌療法に関する議論（欧州コンセンサス）

従来の標準的な治療法と言える LCT 制限+MCT 補充療法について、臨床例での観察と、特に VLCAD ノックアウトマウスでの実験的データから、再検討の必要性が提起。通常量の LCT 摂取による臨床所見への悪影響は明らかではなく、LCT 制限の必要性は疑問。継続的な MCT 補充は運動耐容能の増大につながらず、脂肪肝を惹起する。血糖維持を目的とする低脂質/高糖質食は、肝・筋でのグリコゲン増加につながらず、脂肪肝を惹起する。

このような知見も踏まえ、新生児スクリーニングなどで発見される未発症例（CK, AST, ALT, 血糖の異常も認めないもの）については、LCT 制限を行わず MCT 補充だけで十分であるか、長期的な追跡が必要と述べられている。

#### (5)コーンスターチ療法

国内指針では、夜間低血糖への対応として「糖原病での治療に準じて生コーンスターチの使用も考慮する」と記載されている。量は1回 2g/kg とする。

#### (6)骨格筋症状（特に横紋筋融解症）の予防

国内指針では「血清 CK 値をモニターし、運動量との相関を評価し、過度な運動を避けることで横紋筋融解を予防し、腎機能の悪化を防ぐ。一方で、肥満や過保護にならないような生活指導を行う」と記載されている。間欠的な骨格筋症状に対しては、運動負荷直前の MCT 単回摂取（0.25-0.5g/kg）が予防に有効とする最近の報告があり、欧州コンセンサスでも言及されている。

#### (7)カルニチン補充

国内指針では「血中遊離カルニチン濃度が 15nmol/ml 以下にならないようにエルカルチン®を投与する」と記載されている。明らかな低カルニチン血症の状態は避けるべきと考えるが、欧州コンセンサスでは、カルニチン補充には「異論が多く」「慎重な考慮が必要」と述べられており、国内症例についても今後留意が必要と思われる。

長期的な補充の有用性に関する文献的エビデンスが存在しない。

少なくとも急性代謝不全の際には投与を避けるべきである。

特に経静脈投与は、アシルカルニチンの急激な増加から突然死を来した事例があり、急性期には使用しないことがコンセンサスとなっている。

総合研究報告書

ノックアウトマウスによる実験データは、カルニチン補充が不要ないし有害であると示唆する内容となっている。

カルニチン補充は、運動負荷後の血中および骨格筋内の遊離カルニチン減少を防止できず、骨格筋内アシルカルニチンを著しく増加させた。

肝内の遊離カルニチンは運動負荷後に増加し、血中から肝への取り込みと肝での生合成が需要増大のカバーに寄与していると考えられた。

(8) 飢餓時の対応

国内指針：発熱をともなう感染症や消化管症状（嘔吐・口内炎など）により、飢餓時間の目安を超えて経口摂取ができない時には、医療機関での救急対応で、血糖値をモニターしながらブドウ糖を含む輸液を行う。

(9) 急性発症時の治療

国内指針は、脂肪酸代謝異常症全般の急性期治療として簡潔に記載している。具体的な指針の補完として、ここでは「チョッケ&ホフマン：小児代謝疾患マニュアル（診断と治療社，2006）」の記載を併記する。

国内指針	小児代謝疾患マニュアル
十分量のブドウ糖輸液	ブドウ糖静注：7-10mg/kg/分
高血糖の時にインスリンを併用	必要に応じてインスリンを加え、血糖を 100mg/dl に保つ。 ブドウ糖過剰は乳酸アシドーシスを悪化させる可能性あり
アシドーシス補正	血液透析
救急蘇生	
心筋障害の強い時は 3-ヒドロキシ酪酸の投与も考える。	
	カルニチン投与は避ける。 静注の脂肪製剤は投与しない。

(10) 新しい治療法：ケトン体療法

国内指針でも「重症のグルタル酸尿症 2 型症例に 3-ヒドロキシ酪酸を服用させ、心筋や骨格筋症状の改善が見られたという報告がある」として言及されているもので、次のように指示されている。

D,L-3-Hydroxybutyrate（ナトリウム塩；試薬）を経口投与する。

2 週間から 1 か月以上かけて 80mg/kg/日から 400-900mg/kg/日まで増量。

血中ケトン体濃度をモニター：

投与後 30 分～1 時間            0.19-0.30mmol/l を保つ。

その後 4 時間                    0.02mmol/l 以上となるようにする。

(11) 新しい治療法：ベザフィブラート

フィブラート系高脂血症治療薬ベザフィブラートには、核内ホルモン受容体の一種である peroxisomal proliferator-activated receptor (PPAR)  $\alpha$  への作用を介して、脂肪酸  $\beta$  酸化系酵素の発現を増大させる効果があり、VLCAD 欠損症の治療薬としての応用が試みられている。変異酵素にある程度の残存活性がないと発現増大の効果が現れないため、患者由来線維芽細胞を用いた検討では、新生児型・中間型の症例では効果が乏しく、臨床的な有用性は骨格筋型に限られると考えられる。

(但馬 剛)

## 6. ミトコンドリア三頭酵素欠損症 (mitochondrial trifunctional protein (TFP) deficiency; MIM#609015)

### 【概念】

ミトコンドリア三頭酵素 (mitochondria trifunctional protein; TFP) は脂肪酸  $\beta$  酸化系酵素のひとつで、 $\alpha$  サブユニットと  $\beta$  サブユニットがそれぞれ 4 つずつからなるヘテロ 8 量体を形成し、ミトコンドリア内膜に局在する。炭素鎖数(C)10-16 の長鎖脂肪酸に基質特異性を示し、長鎖型のエノイル CoA ヒドラターゼ (LCEH)、3-ヒドロキシアシル-CoA 脱水素酵素 (LCHAD)、3-ケトアシル CoA チオラーゼ (LCKAT) の 3 種類の酵素活性を有する。本酵素の欠損症として 3 つの酵素活性のいずれも欠損している TFP 欠損症と単独酵素欠損である LCHAD 欠損症があるが、本質的には同一疾患単位と考えられている。

他の長鎖脂肪酸欠損症と同様に、糖質からのエネルギー供給不足にともなって組織のエネルギー枯渇による様々な症状（肝での糖新生障害およびケトン体産生障害による、重度の低血糖症や、筋力低下・筋痛から横紋筋融解症に及ぶ骨格筋症状）を発作性に反復する。また本疾患に特異的なものとして末梢神経炎や網膜炎が知られている。

### 【病因】

TFP 欠損症は常染色体劣性遺伝性を示し、責任遺伝子は 2p23.3 に局在する *HADHA* と *HADHB* である。タンデムマス新生児スクリーニングの対象疾患ではあるが、我が国ではまだスクリーニングでは発見されていない<sup>3)4)</sup>。既発症例の頻度も不明で、我が国での診断症例はおよそ 10 例と非常に稀な疾患である。アンケートの結果からは 3 例が確認されており、ライ様症候群での急性発症例が 2 例、筋肉症状を中心とする慢性発症例が 1 例であった。

### 【臨床像】

ケトン産生障害により重篤な低ケトン性低血糖を生じたり、ケトン体をエネルギー源として使用する骨格筋や心筋、中枢神経の障害が主に認められる。本疾患では遺伝型・表現型の相関は完全には明らかでないが、**null mutation** の場合は一般的に重症な表現型を示すとされる。臨床的には残存酵素活性によって、（1）新生児発症型：心筋症や不整脈、肝腫大などで出生後早期に発症するもの、（2）中間型：乳幼児期に低ケトン性低血糖症を主症状として発症するもの、（3）骨格筋型：学童期から青少年期にかけて激しい運動などに伴い強い筋痛や反復性の横紋筋融解症をきたすもの、の3タイプが知られている。その他、本疾患に罹患した胎児とマターナル HELLP 症候群との関連が指摘されている。また他の長鎖脂肪酸代謝異常症では報告のない、本疾患に特異的な症状として末梢神経炎や網膜炎も知られている。

#### （1）新生児型／重症型

本疾患では、この型はしばしば出生日当日から生後早期に発症し、心筋障害が致命的とされる。胎児期から心筋障害を認めたとの報告もある。その他、肝腫大・筋緊張低下・低ケトン性低血糖症などで発症する。

#### （2）中間型

乳幼児期に低ケトン性低血糖症として発症することが多い。他の長鎖脂肪酸代謝異常症と同様に、高アンモニア血症を伴う Reye 症候群様の急性脳症を呈する場合もあり、乳幼児突然死の一因ともされる。

#### （3）遅発型／骨格筋型

しばしば運動時や感染時の筋力低下・筋痛などの症状を呈する病型で、安静時には症状が消失し、発症も一般的には幼児期・学童以降と遅い。通常、心筋症や低血糖症は見られない。筋痛だけでなく発作的に重症な横紋筋融解を反復することが多く、血清 CK は 20 万 IU/L まで上昇することもある。症状間欠期には血清 CK など筋逸脱酵素は正常化するが、中には 500～5,000 程度の上昇を慢性的に認める症例もある。

新生児発症型の予後は非常に不良で、その致命率は報告によって 40-80%とされている。心筋障害に伴う心不全や、重篤な低血糖による意識障害や急性脳症の後遺症として精神運動発達遅滞、横紋筋融解症による腎障害、筋力低下などが合併症としてあげられる。繰り返す横紋筋融解症発作を呈する症例では、副甲状腺機能低下による低カルシウム血症を来すこともある。心筋障害以外の症状は一般的に reversible とされるが、末梢神経炎や網膜炎は irreversible とされている。

#### 【診断】

本疾患の診断には、タンデムマスによるアシルカルニチン分析で濾紙血もしくは血清中の長鎖ヒドロキシアシルカルニチン増加が重要で、C18:1-OH や C16-OH、C18:1, C16:0 などが指標として用いられる。タンデムマス新生児スクリーニングでは現在、「C16-OH

>0.2 nmol/ml」という基準値が提示されている。確定診断には酵素活性測定や遺伝子解析、タンパクの immunoblotting が必要である。

### 【治療】

最重症型を除き、飢餓に伴う低血糖予防と運動負荷等による骨格筋障害進行の防止が治療の原則とされる。以下は、「タンデムマス導入にともなう新しいスクリーニング対象疾患の治療指針」<sup>2)</sup>の内容を簡単に紹介した。詳細な内容は治療指針を参考にいただきたい。

#### ①長時間の空腹状態の回避

脂肪酸代謝異常症全般についての治療の基本である。年齢によって食事間隔の目安が変わることに注意する。また発熱をともなう感染症や胃腸炎などにより飢餓時間の目安を越えて経口摂取ができない時には、医療機関で早期にグルコース補充などの対応を行うことが望ましい。

#### ②食餌療法

中鎖脂肪酸（MCT）ミルクの摂取や、長鎖脂肪酸（LCT）を制限した低脂肪高炭水化物を基本とした食事がこれまで推奨されている。定期的に血糖値や血中脂肪酸 4 分画を測定しながら、必須脂肪酸欠乏でないかを確認する。ただし、近年この標準的治療法と言える MCT 補充+LCT 制限療法について、再検討が必要とされる報告が増加しており、今後新たな指針が作られる可能性もある。

#### ③コーンスターチ療法

糖原病での治療に準じて生コーンスターチの使用も検討する。

#### ④運動制限

血清 CK 値をモニターし、運動量との相関を評価し、過度な運動を避けることで横紋筋融解などの骨格筋症状を予防し、腎機能の悪化を防ぐ。

#### ⑤カルニチン補充

指針では「血中遊離カルニチン濃度が 15nmol/ml 以下にならないようにエルカルチン®を投与する」と記載されている。ただし、欧州からの報告によるとカルニチン補充には異論が多く、今後の検討課題である。

#### ⑥新しい治療法

##### ア) ケトン体療法

重症のグルタル酸尿症 2 型症例に 3-ヒドロキシ酪酸を服用させ、心筋や骨格筋症状の改善が見られたという報告があり、試みるべき治療かもしれない。

##### イ) ベザフィブラート

フィブラート系の高脂血症治療薬であるベザフィブラートは、核内ホルモン受容体の一種である peroxisomal proliferator-activated receptor (PPAR)  $\alpha$  への作用を介し、脂肪酸  $\beta$  酸化系酵素の発現を増加させる作用を持つことが明らかとなり、VLCAD 欠損症の治療薬とし

での応用が報告された。現在、他の長鎖脂肪酸代謝異常患者の細胞を用いた *in vitro* probe assay で、有効性について検討されつつある。

（長谷川有紀）

### 参考文献

- 1) 先天代謝異常症診断の指針その1 <http://square.umin.ac.jp/JSIMD/ShishinIMD.pdf>  
日本先天代謝異常学会
- 2) タンデムマス導入にともなう新しいスクリーニング対象疾患の治療指針. 特殊ミルク共同安全開発委員会編 母子愛育会総合母子保健センター特殊ミルク事務局発行 大新社印刷 東京 2007年4月
- 3) 新しい新生児マススクリーニング タンデムマス Q&A 2009. 編集責任：山口清次 厚生労働科学研究（子ども家庭総合研究）研究班発行 ナガサコ印刷 出雲 2009年12月
- 4) 重松陽介：タンデムマス診断精度向上・維持、対象疾患設定に関する研究（分担研究報告書）. 厚生労働科学研究費補助金・成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業「タンデムマス導入による新生児マススクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究」／平成22年度総括・分担研究報告書. 49-57, 2011年3月
- 5) Spiekerkoetter et al: Treatment recommendations in long-chain fatty acid oxidation defects: consensus from a workshop. *J Inherit Metab Dis* 32: 498-505, 2009.

## 〔II〕 研究成果の刊行に関する一覧表

## 研究成果一覧表

書籍

なし

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
Kaji S, Murayama K, Nagata I, Nagasaka H, Takayanagi M, Ohtake A, Iwasa H, Nishiyama M, Okazaki Y, Harashima H, Eitoku T, Yamamoto M, Matsushita H, Kitamoto K, Sakata S, Katayama A, Sugimoto S, Fujimoto Y, Murakami J, Kanzaki S,	Fluctuating liver functions in siblings with MPV17 mutations and possible improvement associated with dietary and pharmaceutical treatments targeting respiratory chain complex II.	Eur J Pediatr	168(3)	297-302	2009
Yamamoto A, Nakamura K, Mitsubuchi H, Matsumoto S, Iwai M, Shigematsu Y, Tajima G, Tsumura M, Okada S, Endo F	VLCAD deficiency in a patient who recovered from VF, but died suddenly of an RSV infection.	Pediatr Int	In press		2012
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(3)	191-5	2010



## 総合研究報告書

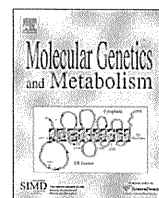
Tsuburaya R, Sakamoto O, Arai N, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Shigematsu Y, Takayanagi M, Ohura T, Tsuchiya S	Molecular analysis of a presymptomatic case of carnitine palmitoyl transferase capital I, (CPT I) deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening in Japan.	Brain Dev	32(5)	409-11	2010
Yagi M, Lee T, Awano H, Tsuji M, Tajima G, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Takeshima Y, Matsuo M.	A patient with mitochondrial trifunctional protein deficiency due to the mutations in the HADHB gene showed recurrent myalgia since early childhood and was diagnosed in adolescence.	Mol Genet Metab	104	556-9	2011
久保田一生, 深尾敏幸, 堀友博, 小林弘典, 船戸道徳, 長谷川有紀, 山口清次, 近藤直実	カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 2 欠損症のろ紙血血清のアシルカルニチンプロファイルの経時的変化	日本小児科学会雑誌	115	956-60	2011
但馬剛, 佐倉伸夫	タンデムマス・スクリーニングに向けた簡易な酵素活性測定法の開発	日本先天代謝異常学会雑誌	26 (1)	43-49	2010

### 〔III〕 研究成果の刊行物・別刷



Contents lists available at ScienceDirect

## Molecular Genetics and Metabolism

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ymgme](http://www.elsevier.com/locate/ymgme)

## Fluctuating liver functions in siblings with MPV17 mutations and possible improvement associated with dietary and pharmaceutical treatments targeting respiratory chain complex II

Shunsaku Kaji<sup>a,\*</sup>, Kei Murayama<sup>b,1</sup>, Ikuo Nagata<sup>c</sup>, Hironori Nagasaka<sup>b</sup>, Masaki Takayanagi<sup>b</sup>, Akira Ohtake<sup>d</sup>, Hiroyasu Iwasa<sup>e,f</sup>, Masahiko Nishiyama<sup>e</sup>, Yasushi Okazaki<sup>f</sup>, Hiroko Harashima<sup>d</sup>, Takahiro Eitoku<sup>a</sup>, Michiko Yamamoto<sup>a</sup>, Hiroaki Matsushita<sup>a</sup>, Koichi Kitamoto<sup>a</sup>, Shinji Sakata<sup>a</sup>, Takeshi Katayama<sup>a</sup>, Shuji Sugimoto<sup>a</sup>, Yoshio Fujimoto<sup>a</sup>, Jun Murakami<sup>c</sup>, Susumu Kanzaki<sup>c</sup>, Kazuo Shiraki<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Department of Pediatrics, Tsuyama Central Hospital, Japan

<sup>b</sup> Department of Metabolism, Chiba Children's Hospital, Japan

<sup>c</sup> Division of Pediatrics & Perinatology, Faculty of Medicine, Tottori University, Japan

<sup>d</sup> Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Saitama Medical University, Japan

<sup>e</sup> Translational Research Center, International Medical Center, Saitama Medical University, Japan

<sup>f</sup> Division of Translational Research, Research Center for Genomic Medicine, Saitama Medical University, Japan

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 10 March 2009

Received in revised form 27 April 2009

Accepted 27 April 2009

Available online 12 May 2009

## Keywords:

MPV17 mutations

Mitochondrial DNA depletion syndrome

Liver dysfunction

Viral infection

Mitochondrial respiratory chain complex

Succinate

Ubiquinone

Ketone milk

Lipid-rich diet

Treatment

## ABSTRACT

**Background/aims:** To describe the clinical and biological findings of two Japanese siblings with novel MPV17 gene mutations (c.451insC/c.509C > T) manifesting hepatic mitochondrial DNA depletion syndrome.

**Methods:** We observed these brothers and sought to determine the efficacy of treatment targeting respiratory chain complex II for the younger brother.

**Results:** A 3-month-old boy had presented with profound liver dysfunction, failure to thrive, and watery diarrhea. Although he was then placed on a carbohydrate-rich diet, his liver function thereafter fluctuated greatly in association with viral infections, and rapidly deteriorated to liver failure. He underwent liver transplantation at 17 months of age but died at 22 months of age. The younger brother, aged 47 months at the time of this writing, presented with liver dysfunction from 8 months of age. His transaminase levels also fluctuated considerably in association with viral infections. At 31 months of age, treatment with succinate and ubiquinone was initiated together with a lipid-rich diet using ketone milk. Thereafter, his transaminase levels normalized and never fluctuated, and the liver histology improved.

**Conclusions:** These cases suggested that the clinical courses of patients with MPV17 mutations are greatly influenced by viral infections and that dietary and pharmaceutical treatments targeting the mitochondrial respiratory chain complex II may be beneficial in the clinical management of MPV17 mutant patients.

© 2009 Elsevier Inc. All rights reserved.

## Introduction

MPV17 is a mitochondrial gene encoded by a nuclear gene [1]. Its mutations cause mitochondrial DNA depletion syndrome (MDS)<sup>2</sup>, presenting multiple mitochondrial respiratory chain deple-

tions in the manner of autosomal recessive inheritance [1–5]. Recently, the occurrence of patients with MPV mutations has been increasing; the majority of patients have developed liver disease within a few months after birth, with rapid deterioration to liver failure, while the remaining patients have shown relatively slow progression of liver disease or neurological regression [1–5].

However, the number of patients with MPV17 mutations is still small, and the clinical courses according to the mutations or the genotype–phenotype correlation remain unclear. Further, the appropriate internal therapy has yet to be established, although Parini and colleagues recently reported that glucose administration to avoid hypoglycemia is efficient in slowing the progression of liver disease [5].

\* Corresponding author. Department of Pediatrics, Tsuyama Central Hospital, Kawasaki 1756, Tsuyama-shi, Okayama 708-0841, Japan. Fax: +81 868 21 8205.

E-mail address: [skaji@tvvt.ne.jp](mailto:skaji@tvvt.ne.jp) (S. Kaji).

<sup>1</sup> These two authors equally contributed to this work.

<sup>2</sup> Abbreviations used: MDS, mitochondrial DNA depletion syndrome; RC, respiratory chain; Co I, complex I; Co II, complex II; Co III, complex III; Co IV, complex IV; CS, citrate synthase.

In this report, we present the clinical courses of two siblings with novel mutations, c.451insC and c.509C > T, whose liver functions greatly fluctuated according to their respective viral infections. The beneficial effect of treatment targeting mitochondrial respiratory chain (RC) complex (Co) II, including succinate and coenzyme Q, is also described.

## Patients and methods

### Cases

**Case 1:** A Japanese boy born as the second child to unrelated healthy parents. Their first son is healthy. The second son, on the other hand, was born without any complications at 37 weeks of gestation age, and weighed 3060 g. At 3 months of age, he was referred to our hospital to receive precise examinations for failure to thrive, hypotonia, mild jaundice, and creamy stools. He had moderate head lag and incomplete head control. He maintained good eye contact and had a sociable smile; he had no seizures or clinical signs of peripheral neuropathy except for moderate hypotonia. Findings of brain computed tomography were normal. The liver was soft and palpated at 4.5 cm below the costal margin with no splenomegaly. Laboratory tests then showed elevated levels of serum bilirubin, total bile acid (TBA), transaminases, and gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) as well as prolonged coagulation time (total bilirubin 4.2 mg/dl; direct bilirubin 2.7 mg/dl; TBA 362  $\mu$ mol/L; GGT 178 IU/L; AST 173 IU/L; ALT 58 IU/L; hepaplastin time 38%). He had no episode of hypoglycemia (his blood glucose level was 65 mg/dl). Simultaneously, low body weight and height were prominent (body weight 4610 g,  $-2.7$  SD; height, 59 cm,  $-1.8$  SD). His plasma amino acid profile and urinary organic acid profile did not suggest any etiology for liver disease, but viral examinations detected an IgM cytomegalovirus (CMV)-specific antibody in the plasma. His liver functions thereafter are shown in Fig. 1 (upper panel).

A liver biopsy specimen obtained at 4 months of age showed moderate inflammatory cell infiltration with destroyed limiting plates and fibrosis in the portal tracts (Fig. S1A1). Two different types of degenerated hepatocytes were found: swollen hepatocytes containing lipid droplets of various sizes with occasional formation of multinuclear giant cells, and small, concentrated acidophilic hepatocytes. Bile plugs were noticed in the cytoplasm of hepatocytes and dilated canaliculi, consistent with the findings of cholestasis (Fig. S1A2).

Immediately during his first visit to our hospital, he was fed with medium-chain triglyceride (MCT) milk (100–105 kcal/kg/day; lipid 25%, carbohydrate 56.6%, protein 13.2%, eight times per day) and received fat-soluble vitamins. His liver dysfunction improved at 7 months of age when the cytomegalovirus-IgM antibody became undetectable. However, 1 month later, he began to frequently vomit, and tube feeding was initiated. Thereafter, he developed recurrent bouts of jaundice and elevations of transaminases accompanied by flu-like signs such as nasal discharge and cough, and his liver dysfunction deteriorated to liver failure with cirrhosis (Fig. S1B shows his liver histology at 15 months of age). He underwent a liver transplantation at 17 months of age but died of recurrent peritonitis and the resultant sepsis at 22 months of age. Afterward, the liver specimens obtained through the explantation, which histologically showed cirrhosis, were subjected to mitochondrial RC examinations when his younger brother received RC examinations.

**Case 2:** The younger brother of case 1 was born, 15 months after his elder brother died, without any complications at 40 weeks of gestation, with a weight of 3260 g. At the age of 8 months he was referred to our hospital with failure to thrive (height, 62 cm,

$-3.5$  SD; weight 5.5 kg,  $-3.1$  SD) and mild cholestasis. He could sit up alone, but could not crawl yet. He had no seizure and no clinical sign of peripheral neuropathy except for mild hypotonia. He could appropriately respond to changes in emotional content of social interaction. His liver and spleen were not palpated below the costal margin. Liver function tests then showed mild or moderate elevations of serum AST, ALT, GGT, and TBA levels (AST, 150 IU/L; ALT 40 IU/L; GGT, 82 IU/L; TBA 40  $\mu$ mol/L). The coagulation tests had normal results. He had no episode of hypoglycemia (his blood glucose level was 64 mg/dl). His plasma lactate and pyruvate levels were slightly elevated (lactate, 2.2–3.3 mmol/L; pyruvate 0.1–0.2 mmol/L), but his cerebrospinal fluid lactate and pyruvate levels were entirely normal. His amino acid profile in blood and organic acid profile in urine showed no finding suggesting an etiology, and serological viral tests were all negative. Brain magnetic resonance imaging (MRI) was normal at 9 months of age. His liver functions thereafter are shown in Fig. 1 (lower panel).

Liver histology at 8 months of age displayed mild infiltration of inflammatory cells, fibrosis in the portal tracts, and various-sized lipid droplets in hepatocytes, comparable to the histological findings of his elder brother. He was placed on a carbohydrate-rich, lipid-poor diet using MCT milk (100 kcal/kg/day; lipid 25%, carbohydrate 56.6%, protein 13.2%, eight times per day by nasogastric tube) as his elder brother had been, and was treated with fat-soluble vitamins and ursodeoxycholic acid.

His liver dysfunction thereafter fluctuated as a result of upper respiratory infections, probably due to some viruses, and diarrhea due to rotavirus infection (Fig. 1, lower panel).

Liver histology at 30 months of age showed a rather progressive fibrosis with bridging formation and inflammatory cell infiltration compared with that of the previous biopsy (Fig. S1C). The activity levels of mitochondrial RC Co I and III were decreased in this liver sample, whereas Co II activity remained normal (Table 1). Quantitative PCR revealed a decrease in the amount of mitochondrial DNA, and the boy was diagnosed with MDS. Gene analysis revealed that he is a compound heterozygote for mutations in the MPV17 gene responsible for MDS.

At 31 months of age, he began medication with carnitine (300 mg/day), succinate (2 g/day), and ubiquinone (coenzyme Q10: 30 mg/day). Simultaneously, the carbohydrate-rich, lipid-poor diet using MCT milk was changed to a lipid-rich, carbohydrate-poor diet using ketone milk (lipid 71.8%, carbohydrate 8.8%, protein 15%) and MCT milk (total: 90–100 kcal/kg/day; lipid 56.3–60.1%, carbohydrate 20.8–24.6%, protein 14.4–14.6%, eight times per day by nasogastric tube). After the initiation of these dietary and pharmaceutical treatments, his transaminases decreased to normal (Fig. 1, lower panel).

At the age of 37 months, a liver needle biopsy was again performed; infiltration by inflammatory cells decreased and fibrosis was suppressed, but fatty degeneration remained unchanged (Fig. S1D).

Recently, his body weight and height have increased gradually but are still low (body weight 10.3 kg,  $-2.6$  SD; height 81.5 cm,  $-4.5$  SD). Brain MRI was normal at 42 months of age. At the time of this writing, he is 47 months old, and shows normal psychomotor development.

## Materials and methods

### Samples for the examination of respiratory chains

The liver sample from the elder brother was the excised part of the liver transplantation at 17 months of age. Liver samples from the younger brother were obtained by liver biopsies at 30 and 37 months of age.