

201128053A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

高チロシン血症を示す新生児における最終診断への診断プロトコールと
治療指針の作成に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 中村 公俊

平成 24 (2012) 年 5 月

目 次

I. 総括研究報告		
高チロシン血症を示す新生児における最終診断への診断プロトコールと 治療指針の作成に関する研究	-----	1
II. 分担研究報告		
1. 高チロシン血症の長期フォローアップ体制の確立に関する研究	-----	7
奥山 虎之		
2. 高チロシン血症を示す新生児における最終診断への診断プロトコールと 治療指針の作成に関する研究	-----	9
笠原 群生		
3. 高チロシン血症を示す新生児における最終診断への診断プロトコールと 治療指針の作成に関する研究	-----	11
伊藤 道德		
4. 高チロシン血症を示す新生児における最終診断への診断プロトコールと 治療指針の作成に関する研究	-----	13
但馬 剛		
5. 高チロシン血症 I 型に対する NTBC 投与の効果	-----	16
伊藤 哲哉		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	18
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	19
V. 研究構成員	-----	85
VI. 遺伝性高チロシン血症の診断治療指針	-----	86

I. 総括研究報告

高チロシン血症を示す新生児における最終診断への診断プロトコールと 治療指針の作成に関する研究

研究代表者 中村公俊 熊本大学医学部附属病院 講師

研究要旨

本研究では、わが国における高チロシン血症の発生状況とその後の経過について調査した。われわれが行った全国調査（回答率 71%）では、遺伝性高チロシン血症 I 型 5 例、II 型 2 例、III 型 1 例の回答があった。そのほかに原因不明の高チロシン血症が 10 例回答されていた。高チロシン血症の確定診断は血中チロシン値のみでは困難であり、ろ紙血や尿中有機酸分析を用いたサクシニルアセトンの検出は有用であった。また、高チロシン血症の治療として、食事療法やニチシノン(ORFADIN)による治療が有効であった。ニチシノンによる治療においては、トロンボテストが基準値未満となった場合には NTBC 投与量を 1mg/kg を目標に増量することが必要であることを明らかにした。さらに、肝臓移植は先天代謝異常症の小児期患者に対する治療法として確立し、高チロシン血症 I 型患者の予後を改善していると考えられた。

A. 研究目的

高チロシン血症はタンデムマスを利用した新規新生児スクリーニングの対象疾患に含まれており、新生児期に患者が発見されることもある。しかし新生児期に血中チロシン高値を示す児は多く、その中から希少難病である遺伝性高チロシン血症を発見することは困難なことも少なくない。高チロシン血症は遺伝的にも生化学的にも多様な疾患群であり、患者数はタンデムマススクリーニングの進展とともに増加している。チロシン高値は新生児の 0.85%、欧米でも 0.5-1.8% に認められる頻度の高い異常である。一方で、重度の肝硬変、精神発達遅滞などが生じる遺伝性高チロシン血症は希少難病であり、多くのチロシン高値を示す新生児から、この希少難病を発見するための診断指針は確立していない。その確定診断は血中チロシン値のみでは困難であり、先進医療に基づく複数の検査が必要となってきた。高チロシン血症の最先端の治療は、新規薬物治療や肝臓移植の導入などにより予後の改善が期待できるようになった。しかし、わが国の多くの患者では、先進医療を取り入れた診断治療指針が十分に提供されていない。そこで、わが国における高チロシン血症の患者の診断・治療の状況について調査し、高チロシン血症の診断基準、治療指針を作成することを目的とした。

B. 研究方法

われわれはタンデム質量分析計を用いた新生児ろ紙血中のチロシンを測定し、高チロシン血症を示す新生児数を検討した。測定にはタンデム質量分析計（MICROMASS Quattro micro API）、HPLC（Waters 2795 Alliance）を用いた。試料として新生児スクリーニング用ろ紙血液を重松らの方法に準じて前処理を行ない、血中チロシン値 8mg/dl 以上をチロシン高値とした。次に、全国の 930 施設を対象とした全国調査（回答率 71%）を行った。その調査では、遺伝性高チロシン血症 I 型 5 例、II 型 2 例、III 型 1 例の回答があった。そのほかに原因不明の高チロシン血症が 10 例回答されており、確定診断に至らない症例も少なくないと考えられた。確定診断のための検査法のひとつとして、高チロシン血症 I 型におけるゲノム DNA からのエクソン直接塩基配列解析法による遺伝子診断系を設定した。鑑別疾患となる高チロシン血症 II 型・III 型については、酵素反応産物を HPLC によって分離・定量する酵素診断系を設定した。遺伝性高チロシン血症を含む先天性代謝異常症に対する生体肝移植症例の国内調査においては、1990 年から 2008 年末までに、日本肝移植研究会に登録された小児代謝性肝疾患に対する生体肝移植症例の実態調査を、日本肝移植研究会データベースに基づき実

施した。また、全国調査において報告された症例として、現在ニチシノン(ORFADIN)および低チロシン・低フェニルアラニン食餌療法で治療中の高チロシン血症 I 型の患児の治療経過と今後の問題点について検討した。これらの検討から、診断指針の確立のためには、遺伝性高チロシン血症 I 型においては、尿中有機酸分析におけるサクシニルアセトン増加の検出、遅発型の高チロシン血症 I 型においては尿中チロシン値と尿中サクシニルアセトンの増加の検出、軽微な異常値を示す例では酵素活性測定が必要である。遺伝性高チロシン血症 II 型、III 型においては、チロシン高値が著明であり、サクシニルアセトンの増加を伴わないことを確認し、肝生検による酵素活性の測定を行うことが必要である。このほか、新生児一過性高チロシン血症の鑑別などが重要であることなどを診断の指針とした。

新しい酵素反応測定系の開発においては、HEK293細胞をDMEM培地（10% FCS, ストレプトマイシン, ペニシリンG添加）で 7×10^5 cells/ 5ml / 6cm dish にて 24時間培養をおこなった。ヒトHGDを組み込んだ pcDNA 3.1 発現ベクター5 μ gを、リン酸カルシウム法にてHEK293 細胞へ遺伝子導入した。24時間培養後、

培養液にホモゲンチジン酸Na を最終濃度2mMとなるように添加して、さらに24時間培養した。その後、培養上清と細胞を分離回収し、上清と細胞破砕液をHPLCで分析した。

（倫理面への配慮）

本研究は熊本大学倫理委員会の承認と保護者への説明と同意に基づいて行った。

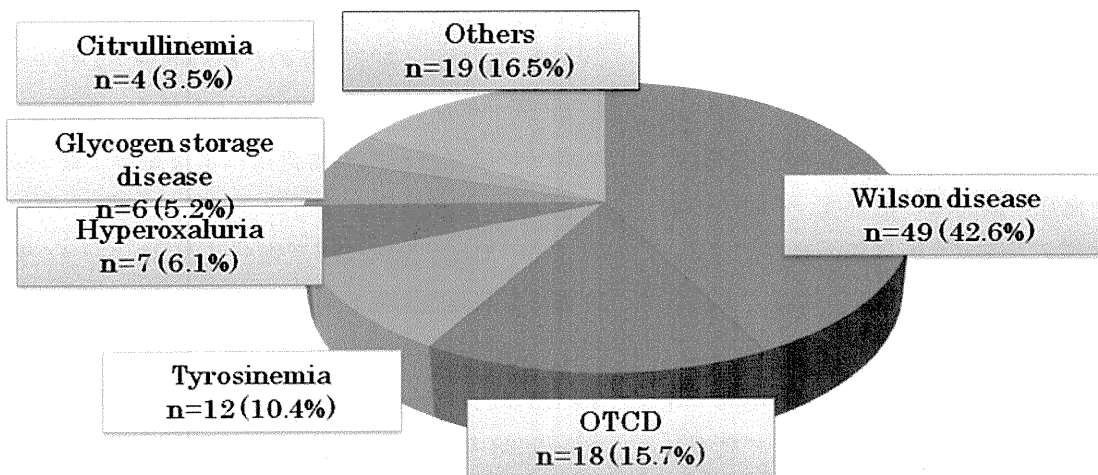
C. 研究結果

タンデムマスを用いた高チロシン血症を示す新生児数を検討したところ、新生児 72,695 人中に 8.0mg/dl 以上のチロシン高値を認めた新生児は 95 人 (0.13%) 存在した。これらの新生児はチロシン値のみでは遺伝性高チロシン血症との区別は困難であった。

次に、全国の 930 施設を対象とした全国調査（回答率 71%）を行った。その調査では、遺伝性高チロシン血症 I 型 5 例、II 型 2 例、III 型 1 例の回答があった。そのほかに原因不明の高チロシン血症が 10 例回答されており、確定診断に至らない症例も少なくないと考えられた。確定診断のための検査法のひとつとして、

小児代謝性肝疾患に対する肝移植 (n=115)

日本肝移植研究会年次報告改編



高チロシン血症 I 型におけるゲノム DNA からのエクソン直接塩基配列解析法による遺伝子診断系を設定した。鑑別疾患となる高チロシン血症 II 型・III 型については、酵素反応産物を HPLC によって分離・定量する酵素診断系を設定した。

遺伝性高チロシン血症を含む先天性代謝異常症に対する生体肝移植症例の国内調査においては、1990 年から 2008 年末までに、日本肝移植研究会に登録された小児代謝性肝疾患に対する生体肝移植症例の実態調査を、日本肝移植研究会データベースに基づき実施した。また、全国調査において報告された症例として、現在ニチシノン (ORFADIN) および低チロシン・低フェニルアラニン食餌療法で治療中の高チロシン血症 I 型の患児の治療経過と今後の問題点について検討した。これらの検討から、診断指針の確立のためには、遺伝性高チロシン血症 I 型においては、尿中有機酸分析におけるサクシニルアセトン増加の検出、遅発型の高チロシン血症 I 型においてはろ紙血チロシン値と尿中サクシニルアセトンの増加の検出、軽微な異常値を示す例では酵素活性測定が必要である。遺伝性高チロシン血症 II 型、III 型においては、チロシン高値が著明であり、サクシニルアセトンの増加を伴わないことを確認し、肝生検による酵素活性の測定を行うことが必要である。このほか、新生児一過性高チロシン血症の鑑別などが重要であることなどを診断の指針とした。

実態調査に登録された症例では、高チロシン血症 I 型の兄妹例であり、アミノ酸分析にてチロシン高値等を認め尿中有機酸分析でサクシニルアセトンを検出し確定診断された。フェニルアラニン・チロシン除去ミルクを開始され生後 2 ヶ月半からニチシノン：1mg/kg/日の投与を開始した。その後の経過も良好であったが、家族が生体部分肝移植を強く希望され、母方叔母からドナーとなる申し出があったため、1歳9ヶ月時に生体部分肝移植を施行した。摘出した肝は軽度の繊維化を認めたのみで悪性所見は見られなかった。その後はほぼ問題なく経過し、蛋白制限、ニチシノン投与もなしで良好な経過を取っている。

高チロシン血症の長期フォローアップ体制においては、いくつかの取り組みが考えられた。小児慢性特

定疾患は、特定疾患の医療費助成を目的とした制度である。全国規模、幅広い疾患での臨床情報の収集が可能であるが、臨床情報の研究利用などについては明確な規定がない。新薬の市販後調査では、高チロシン血症のような先天性希少難病においては、新薬が承認されると、使用全例で最低 10 年の市販後調査が義務づけられる場合が多い。ニチシノンが、国内承認される場合には、同調査が長期追跡に有用なシステムとなると考えられる。製薬企業等の支援による登録事業として、治療薬を製造・販売している製薬企業のサポートで行われる登録追跡事業があり、希少疾患の登録に欠かせない世界規模の対応ができるが、当該企業が推進する治療法以外の治療法に対する調査が実施困難である。公的研究事業による研究・追跡事業として、成育医療研究開発費による研究事業に「先天代謝異常症に対する登録・追跡」事業があるが、対象疾患が限定されている。患者家族会による登録・追跡事業は、わが国ではまれである。特に、先天代謝異常症のように個々の疾患の患者数がきわめて少ない場合、患者家族会の規模が小さく、登録事業を主体的に行うことは、困難である。

小児代謝性肝疾患への肝臓移植について、日本肝移植研究会年次調査を基に検討したところ、ウイルソン病 49 例、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症 (OTCD) 18 例、チロシン血症 12 例、シュウ酸血症 7 例、糖原病 6 例、高シトルリン血症 4 例などであった。また、国立成育医療研究センターの症例を検討したところ、2005 年 11 月から 2011 年 12 月の 6 年で肝移植 180 例が実施されていた。代謝性疾患は 39 例で有機酸代謝異常 15 例 (Methylmalonic academia (MMA) 12 例、Propionic academia (PA) 3 例)、尿素サイクル異常症 12 例 (Ornithin transcarbamylase deficiency (OTCD) 6 例、Carbamyl phosphate synthetase 1 deficiency (CPS1D) 6 例)、糖原病 (GSD) 1b 8 例、Wilson 病 2 例、高シュウ酸尿症 2 例であった。

ニチシノン療法を継続していく場合、小児における成長に伴う投与量の増量の指標としては血液凝固系検査、特にトロンボテストが有用であり、トロンボテストの基準値未満が 3 ヶ月以上続く場合または NTBC 投

与量が 0.85mg/kg 以下でトロンボテストが基準値未満の場合には NTBC 投与量を 1.0mg/kg を目標に増量する必要があることがわかった。

新規の酵素活性測定系において、ホモゲンチジン酸ジオキシゲナーゼ (HGD) を発現させた HEK293 細胞にホモゲンチジン酸を添加して培養した。HGD 粗酵素を用いる反応系では高濃度酸素下での反応が求められ、さらに次のマレイルアセト酢酸イソメラーゼの粗酵素を用意する必要があるなど、煩雑ではあるが、基質の調整が容易であるため、有用な測定系であると考えられた。

D. 考察

タンデムマス検査と全国の実態調査によって、わが国における高チロシン血症の診断治療の実態を把握することができた。特にタンデムマスによる高チロシン血症を示す新生児数、遺伝性高チロシン血症と一過性高チロシン血症とのチロシン値の比較についての検討は高チロシン血症の診断指針を考えるうえで重要であった。また、全国の 930 施設を対象とした全国調査は、わが国では初めて行われた高チロシン血症についての実態調査であった。多くのチロシン高値を示す新生児から、この希少難病を発見するための診断指針として、先進医療に基づく複数の検査を試みた。高チロシン血症の最先端の治療は、新規薬物治療や肝臓移植の導入などにより予後の改善が期待できるようになった。そして今回の調査結果に基づいて、効率的な診断、治療の方法について多施設による前方視的検証モデルを作成することが次の課題の一つと考えられた。高チロシン血症 I 型の治療においては、ニチシノンを用いた治療を行っている症例の実態と治療の問題点を明らかにすることができた。特に、ニチシノンはわが国では未承認薬であるため、個人輸入によって無償で提供されている。もし有償となれば 1 日当たり約 10 万円程度の治療費が必要となり、本治療を中止せざるを得ない。すなわち今後早急にわが国での承認が望まれる治療薬の一つであることが明らかになった。

欧米においては高チロシン血症の治療は食事治療の内容、新規薬物治療の導入などにおいて近年急速に

変化している。そのため、わが国の状況を正確に把握し、必要な診断治療の課題を明らかにした本研究の意義は大きい。高チロシン血症の治療として主に食事療法が行われてきているが、肝臓移植の導入に伴い、重症例の生命予後は改善している。これらの課題を解決することによって、高チロシン血症の診断、治療指針には、先進医療を取り入れた検査、治療薬が不可欠であることが明らかになった。診断においては、普及型 C18 カラムを用いた逆相クロマトグラフィ法という汎用性の高い方法を採用することで、タンデムマス新生児スクリーニング対象である有機酸・脂肪酸代謝異常症の酵素診断に応用している分析システムがそのまま高チロシン血症の診断に有用である。多種類の稀少疾患の酵素診断系を長期間継続して実施するためにはこのような省力化した方法を確立することが大切であると考えられた。

高チロシン血症の長期フォローアップ体制においては、既存のシステムにおいては、それぞれ問題や課題があり、必ずしも適切な登録・追跡事業とはいえない。これは、登録事業に日本先天代謝異常学会のような関連学会が積極的に関与していないことが大きな問題と考えられる。上記を考慮し、①先天代謝異常症の患者家族会をつなぐネットワークを構築する。②上記のネットワークと日本先天代謝異常学会が協力して、登録・追跡事業を行う。③将来的には、患者家族会と日本先天代謝異常学会が連携して、研究者への研究助成などに事業を展開する。などの提案が可能である。

先天代謝異常症の生体肝移植における生存率は 89.7% で良好な肝移植成績であった。今後、代謝性肝疾患に対する脳死肝移植適応についても検討が必要である。

E. 結論

遺伝性高チロシン血症と鑑別が困難である新生児一過性高チロシン血症はチロシン分解系の成熟に関連して、新生児期に一過性に高チロシン血症を示すと考えられている。チロシン濃度が極端に高い場合は精神発達に影響を与えることが懸念されている。また、重篤な進行性肝障害が合併した場合には、遺伝性高チ

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

ロシン血症との鑑別は臨床的には困難である。遺伝性高チロシン血症では先進医療に基づく治療を必要とするため、確定診断が重要であり、包括的な診断指針の確立が急務である。また、LC/MS（液体クロマトグラフィー・マススペクトロメトリー）法を用いて高チロシン血症を呈する疾患の病態解明が必要である。極少量の血液検体を利用したチロシンの測定方法を用いてベッドサイド、外来診療あるいは自宅、外出先などで簡単にチロシンを測定する持ち運び可能な簡易測定装置を用いた食事療法のコントロールを試みることにより、患者のQOLが間然する可能性がある。さらに上記の高チロシン血症の患者の臨床状況の収集と解析によって構築した前方視的研究モデルにおいて、高チロシン血症の病態を明らかにしたい。

また、欧米においては高チロシン血症の診断、治療が近年急速に変化しており、食事治療の内容、新規薬物治療の導入などわが国で取り入れるべき課題は多い。そのため、高チロシン血症の治療として主に行われる食事療法の標準化や、肝臓移植の適応基準の確立によって、重症例の生命予後がどの程度改善するのかを検証する必要がある。これらの課題を解決することによって、高チロシン血症の診断、治療指針として、先進医療を取り入れた検査、治療薬を利用することができる。さらに、新規のアミノ酸測定法や、酵素活性の測定法を臨床応用することによって、新規測定技術の基礎を確立できる。多種類の稀少疾患の診断技術を応用した高チロシン血症の診断法を確立することで、高チロシン血症のみならず他の先天代謝異常症の診断も継続して進む可能性があると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

Nakamura K, Sekijima Y, Nakamura K, Hattori K, Nagamatsu K, Shimizu Y, Yasude T, Ushiyama M, Endo F, Fukushima Y, Ikeda S. Cerebral hemorrhage in Fabry's disease. *J Hum Genet.* 55, 259-261. (2010)

Nakamura K, Hattori K, Endo F. Newborn Screening for lysosomal disorders. *Am J Med Genet* (2011)

中村公俊 Fabry 病の疫学と診断 *神経内科* 73, 168 - 172 (2010)

中村公俊 アミノ酸代謝異常症、尿素サイクル異常症、糖原病の新しい治療法 *小児内科* 42, 1191-1194 (2010)

中村公俊 代謝プロファイリング 「見逃せない先天代謝異常」（高柳正樹 編集）*小児科臨床ピクシス* 第23巻(2010)

2. 学会発表

Screening for Fabry Disease in Japan K.Nakamura, K.Hattori, S.Matsumoto, H.Mitsubuchi, F.Endo
12th ICHG Montreal2011, October11-15th, 2011, Montreal Canada

尿素サイクル異常症（OTC欠損症、CPS1欠損症）とリジン尿性蛋白不耐症におけるシトルリン治療 城戸淳、中村公俊、三淵浩、大浦敏博、高柳正樹、松尾雅文、芳野信、堀川玲子、遠藤文夫 第53回日本先天代謝異常学会 2011年11月24-26日 千葉市

尿素サイクル異常症（UCD）の治療法 - 風はどっちにふいている？ - 中村公俊 第53回日本先天代謝異常学会 2011年11月24-26日 千葉市

ろ紙血を用いたファブリー病のスクリーニング 中村公俊、服部希世子、松本志郎、田崎隆二、三淵浩、遠藤文夫 第53回日本先天代謝異常学会 2011年11月24-26日 千葉市

ろ紙血を用いたファブリー病のスクリーニングとαガラクトシダーゼ遺伝子のE66Q変異 中村公俊、服部希世子、松本志郎、三淵浩、遠藤文夫第56回人類遺伝学会 2011年11月9日-12日 千葉市

ろ紙血を用いたファブリー病のスクリーニング 中村公俊、服部希世子、田崎隆二、松本志郎、三淵浩、遠藤文夫 第38回日本マス・スクリーニング学会 2011年10月-29日 福井市

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

II. 分担研究報告

高チロシン血症の長期フォローアップ体制の確立に関する研究

研究分担者 奥山虎之 国立成育医療研究センター 臨床検査部長

研究要旨

高チロシン血症のような先天性希少難病の長期追跡調査を可能にする体制を検討した。小児慢性特定疾患、新薬の市販後調査、製薬企業の支援による登録事業、公的研究事業による研究・追跡事業など既存の体制について検討したが、適切な登録・追跡事業としては、いずれも多くの問題や課題が指摘された。患者家族会と先天代謝異常学会のような関連学会が協力して、あらたな体制の確立が必要であると考えられた。

A. 研究目的

高チロシン血症のような先天性希少難病においては、わが国における患者数、個々の患者の治療や管理の実態を把握することは容易ではない。本研究では、高チロシン血症の患者の実態把握に関する研究も行われているが、研究終了後の長期フォローアップによる継続的な患者実態調査も考慮しなければならない重要な課題である。本分担研究では、希少難病の長期追跡調査を可能にする既存のシステムについて、それらの利点や問題点を把握し、それをもとに、高チロシン血症のような先天性希少難病の適切な患者実態調査のあり方を検討する。

B. 研究方法

先天性小児希少難病の長期追跡調査を可能とする既存のシステムについて、それらの利点や問題点を抽出する。それをもとに、高チロシン血症のような先天性希少難病の適切な患者実態調査のあり方を検討する。

C. 研究結果

先天性希少難病の既存の登録・フォローアップシステムとしては、おもに以下の5つのシステムが考えられる。

1. 小児慢性特定疾患
2. 新薬の市販後調査
3. 製薬企業の支援による登録事業

4. 公的研究事業による研究・追跡事業

5. 患者家族会による登録・追跡事業

1. 小児慢性特定疾患

特定疾患の医療費助成を目的とした制度である。全国規模、幅広い疾患での臨床情報の収集が可能であるが、臨床情報の研究利用などについては明確な規定がない。

2. 新薬の市販後調査

高チロシン血症のような先天性希少難病においては、新薬が承認されると、使用全例で最低10年の市販後調査が義務づけられる場合が多い。これは、患者数が少ないため、承認前に十分な安全性に関する情報が得られないためである。NTBCが、国内承認される場合には、同調査が長期追跡に有用なシステムとなると考えられる。

3. 製薬企業等の支援による登録事業

治療薬を製造・販売している製薬企業のサポートで行われる登録追跡事業がある。ムコ多糖I型の酵素療法製剤を販売しているジェンザイム社がサポートしている登録事業MPSI Registryなどがある。希少疾患の登録に欠かせない世界規模の対応我々だけの十分な資金力が与えられるという利点があるが、当該企業が推進する治療法以外の治療法に対する調査が実施困難となる可能性は否定できない。

4. 公的研究事業による研究・追跡事業

成育医療研究開発費による研究事業に「先天代謝異常症に対する登録・追跡」事業があるが、規模は小さく、対象疾患も限定されている。

5. 患者家族会による登録・追跡事業

患者家族会が独自に行う登録事業はわが国ではまれである。特に、先天代謝異常症のように個々の疾患の患者数がきわめて少ない場合、患者家族会の規模が小さく、登録事業を主体的に行うことは、かなり困難な状況である。しかし、国外においては、患者家族会が独自の登録・追跡事業を行い、臨床情報を収集している場合もある。

D. 考察

上記のように、既存のシステムにおいては、それぞれ問題や課題があり、必ずしも適切な登録・追跡事業とはいえない。これは、登録事業に日本先天代謝異常学会のような関連学会が積極的に関与していないことが大きな問題と考えられる。上記を考慮し、以下の提案をする。

1. 先天代謝異常症の患者家族会をつなぐネットワークを構築する。
2. 上記のネットワークと日本先天代謝異常学会が協力して、登録・追跡事業を行う。
3. 将来的には、患者家族会と日本先天代謝異常学会が連携して、研究者への研究助成などに事業を展開する。

E. 結論

患者家族会と関連学会の協力が、登録・フォローアップ事業に不可欠である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

高チロシン血症を示す新生児における最終診断への診断プロトコールと 治療指針の作成に関する研究

分担研究者 笠原 群生（独）国立成育医療研究センター

研究要旨

代謝性肝疾患に対する肝臓移植について

共同研究者

阪本 靖介（独）国立成育医療センター）

福田 晃也（独）国立成育医療センター）

金澤 寛之（独）国立成育医療センター）

A. 研究目的

代謝性疾患に対する肝移植は、その症例数の少なから、移植適応・周術期管理において未だ基準を作成するに至っていない。当院で実施した代謝性肝疾患症例を考察し、移植適応・管理方法を明らかにする。

B. 研究方法

2005年11月から2011年12月の6年で肝移植180例を実施した。代謝性疾患は39例で有機酸代謝異常15例（Methylmalonic academia(MMA)12例、Propionic academia(PA)3例）、尿素サイクル異常症12例（Ornithin transcarbamylase deficiency(OTCD)6例、Carbamyl phosphate synthetase 1 deficiency(CPS1D)6例）、糖原病(GSD)1b8例、Wilson病2例、高シュウ酸尿症2例に肝移植を適応した。移植適応・周術期管理を検討した。

（倫理面への配慮）

今回申請した研究においては、ヘルシンキ宣言を尊重し計画するとともに、対象患者個人のプライバシーをはじめとする人権擁護を最優先とし、説明と理解（インフォームドコンセント）を徹底した。国立成育医療研究センターに設置された生体・脳死肝移植適応評価委員会の承認を得て、すべての生体・脳死肝移植を実施した。

C. 研究結果

頻回のMetabolic decompensation、著しいQOLの低下、易感染性、および非代償性肝硬変を肝移植適応とした。移植時年齢は3か月から18歳であった。

D. 考察

1. 尿素サイクル異常症：不安定な代謝コントロールにより移植時期を延ばすことが、発作に伴う患者の発達遅延につながる可能性があるため、内科的治療で高アンモニア血症の発作がコントロールできない症例に対して、早期に移植を考慮すべきであった。比較的早期の肝移植適応にも関わらず、当院での尿素サイクル異常症は、頻回の高アンモニア血症発作によると思われる発達遅延を認めた。肝移植後は食事制限なく、健常児と同様の食生活を送りながら通学可能であることは、患者・家族のQOLを著しく向上し、移植後の精神発達は比較的良好であった。

2. 糖原病1b 6例に肝移植を適応した。肝移植適応は、血糖コントロール不良、成長・発達遅延、肝腫瘍と報告されている。自験例ではこの他に、好中球減少に伴う易感染性を認め、Granulocyte stimulating factor(G-CSF)使用にも関わらず、頻回の上気道感染等を認め長期入院管理を要した。6例では肝移植後に血糖値ばかりでなく、好中球数も改善を認め易感染性も改善した。

3. 有機酸代謝異常：自然予後の悪さから、有症状の場合、積極的に肝移植の適応としている。移植後も原疾患に対する内科治療を継続する必要がある、短期予後は満足すべきものだが、長期予後に関しては未だ結論を得ていない。PAでは肝移植後に重篤な心機能障

害を認めておらず、良好な QOL で経過観察している今後、成長発達・腎障害・神経障害の長期経過報告をすべきである。

4. Wilson 病：自己肝臓に肝硬変を有する代謝性疾患では、肝予備能を考慮し移植時期を決定した。

5. 高シュウ酸尿症：シュウ酸沈着に伴い、腎不全合併することが多く、診断ができ次第早期に肝移植を実施すべきである。肝腎同時移植のよい適応であるため、脳死移植を推進すべきである。

E. 結論

39 例中、メチルマロン酸血症 2 例を術後拒絶反応その後の発作および移植後感染症で、高シュウ酸尿症を感染症で、CPS1 欠損症 1 例を感染症で失った。生存率は 89.7% で良好な肝移植成績であった。今後、代謝性肝疾患に対する脳死肝移植適応についても検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

1. K. Kamei, S. Ito, T. Shigeta, S. Sakamoto, A. Fukuda, R. Horikawa, O. Saito, T. Muguruma, S. Nakagawa, K. Iijima, M. Kasahara: Preoperative Dialysis for Liver Transplantation of Methylmalonic Acidemia, Therapeutic Apheresis and Dialysis. 2011; Ther Apher Dial. Oct;15(5):488-92.
2. Mizuochi T, Kimura A, Suzuki M, Ueki I, Takei H, Nittono H, Kakiuchi T, Shigeta T, Sakamoto S, Fukuda A, Nakazawa A, Shimizu T, Kurosawa T, Kasahara M: Successful heterozygous living donor liver transplantation for an oxysterol 7 α -hydroxylase deficiency in a Japanese patient. Liver Transpl. 2011 17(9):1059-65.

2. 学会発表

1. Fukuda A: Evaluation of Living Donor Liver Transplantation for Patients with

Methylmalonic Acidemia, The European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Sorrent, Italy, 2011/5/28

2. 福田晃也, 重田隆信, 阪本靖介, 笠原群生, 堀川玲子, 重松陽介, 伊藤玲子, 野田雅裕, 西垣五月, 垣内俊彦, 伊藤秀一, 亀井宏一, 中澤温子, 中川聡, 松井陽: メチルマロン酸血症とプロピオン酸血症に対する生体肝移植療法の位置づけ. 第 28 回 日本小児肝臓研究会, 筑波, 2011/7/16
3. 大平智子, 岡田純一郎, 大矢崇志, 渡邊順子, 田代恭子, 猪口隆洋, 松石豊次郎, 堀川玲子, 笠原群生, 重松陽介, 芳野信: 肝移植後に自然蛋白摂取量を緩和し神経症状悪化が認められたメチルマロン酸血症の 2 例. 第 28 回 日本小児肝臓研究会, 筑波, 2011/7/16
4. 福田晃也, 唐木千晶, 垣内俊彦, 重田孝信, 金澤寛之, 阪本靖介, 笠原群生, 堀川玲子, 野田雅裕, 西垣五月, 水野裕介, 宮下健悟, 中澤温子, 中川聡, 重松陽介: 有機酸代謝異常に対する肝移植. 第 3 回小児肝臓・肝移植セミナー, 東京, 2011/9/10
5. 重田孝信, 阪本靖介, 福田晃也, 金澤寛之, 垣内俊彦, 唐木千晶, 田中秀明, 笠原群生, 内木康博, 堀川玲子: 当院における尿素サイクル異常症・NICCD に対する肝移植の経験. 第 3 回小児肝臓・肝移植セミナー, 東京, 2011/9/10

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

「高チロシン血症を示す新生児における最終診断への診断プロトコールと
治療指針の作成に関する研究」

分担研究者 伊藤 道德 独立行政法人国立病院機構香川小児病院副院長

研究要旨

昨年度、2-(2-ニトロ-4-トリフルオロメチル-ベンゾイル)-1,3-シクロヘキサネジオン (NTBC, ORFADIN) および低チロシン・低フェニルアラニン食餌療法で治療中のチロシン血症I型の患児の治療経過を検討し、NTBCの投与量の増量の指標として血液凝固系検査、特にトロンボテストが有用であることを明らかとしたが、本年度はさらに詳細な検討し、トロンボテストが3ヵ月以上基準値未満となった場合あるいはNTBC投与量が0.85mg/kg以下の場合にはトロンボテストが1回でも基準値未満となった場合にはNTBC投与量を1mg/kgを目標に増量することが必要であることを明らかにした。また、本症例は現在15歳であるが、今後NTBC療法を継続していくためには、20歳以降における併用療法である低チロシン・低フェニルアラニン食餌療法のために必要な特殊ミルクの入手システムを確立しなければならぬ。

A. 研究目的

チロジン血症 I 型は、北川らによって初めて報告された常染色体劣性の遺伝形式をとるファミリアセト酢酸ヒドロラーゼ (FAH) の欠損による疾患で、重篤な肝障害、腎尿細管障害を主要症状とし、多くの症例では乳児期早期に肝不全や出血などにより死亡することが多い。また、緩やかに進行する慢性型でも肝硬変から肝癌を高率に発症し死亡することが多い。本症においては肝臓移植が唯一の治療とされてきたが、1992年に Lindstedt らが 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸酸化酵素の阻害剤である 2-(2-ニトロ-4-トリフルオロメチル-ベンゾイル)-1,3-シクロヘキサネジオン (NTBC, ORFADIN) による治療の有効性を報告して以来、200 例以上の症例で治療経過が検討され、その有効性が報告されている。チロジン血症 I 型患児の薬物療法の治療プロトコールを確立するために、昨年度の本研究で、現在わが国において NTBC 療法を受けている患児の臨床経過を検討して、NTBC の投与量の指標として血液凝固系検査、特にトロンボテストが有用であることを明らかにした。そこで本年度は、増量の時期の指標の検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

現在、わが国において NTBC 療法および低チロシン・低フェニルアラニン食事療法による治療を受けているチロジ

ン血症 I 型患児の治療経過および検査結果から、NTBC の投与量と検査結果を比較し、投与量増量の時期について検討した。

C. 研究結果

患児は、NTBC 療法開始 1 年にはすべての検査項目が基準値内となり、その後 1 ヵ月に 1 回の定期検査でも基準値を維持していた。8 歳 7 ヵ月からは、血液凝固系検査にそれまでの PT, APTT, ヘパプラスチンテスト (HPT) に加えてトロンボテストを追加した。この時点での NTBC 投与量は 0.85mg/kg であり、血液凝固系検査はすべて基準内であった。8 歳 9 ヵ月以降 NTBC 投与量は 0.85mg/kg 未満となり、9 歳の時点では 0.80mg/kg に低下していた。9 歳 3 ヵ月の時点ではトロンボテストが 69.0% と基準値 (70% 以上) 未満となり、その後、他の血液凝固系検査は基準内ではあったが、トロンボテストが 55.4%, 60.4%, 56.3% であったため、9 歳 6 ヵ月の時点で NTBC 投与量を 1.01mg/kg に増量した。増量後、トロンボテストは 60.9%, 69.8% と改善し、9 歳 9 ヵ月には 81.8% (NTBC 投与量 0.99mg/kg) と基準値内となった。その後、トロンボテストは 10 歳 1 ヵ月で 59.5% (NTBC 投与量 0.94mg/kg), 10 歳 5 ヵ月で 64.7% (NTBC 投与量 0.92mg/kg), 10 歳 6 ヵ月で 61.8% (NTBC 投与量 0.92mg/kg), 10 歳 8 ヵ月で 68.6% (NTBC 投与量 0.94mg/kg), 10 歳 9 ヵ月で 57.8% (NTBC 投与量 0.94mg/kg), 11 歳で 57.4% (NTBC 投与

量 0.95mg/kg), 11 歳 4 ヶ月で 68% (NTBC 投与量 0.94mg/kg), 11 歳 6 ヶ月で 62.2% (NTBC 投与量 0.95mg/kg), 11 歳 7 ヶ月で 60.7% (NTBC 投与量 0.95mg/kg), 11 歳 10 ヶ月で 64.3% (NTBC 投与量 0.93mg/kg), 12 歳 1 ヶ月で 68.8% (NTBC 投与量 0.88mg/kg), 12 歳 2 ヶ月で 62.7% (NTBC 投与量 0.81mg/kg), 12 歳 8 ヶ月では 67.4% (NTBC 投与量 0.81mg/kg) と基準値未満となっていたが, 3 ヶ月以上続くことはなく, 他の検査は異常なかった。しかしながら, 12 歳 10 ヶ月に 67.4% (NTBC 投与量 0.80mg/kg) となつてからは, 13 歳 3 ヶ月と 4 ヶ月に 108.0% と 82.7% (NTBC 投与量はともに 0.77mg/kg) となつた以外は基準値未満であった。さらに, 13 歳 7 ヶ月では PT が 14.5 秒と基準値 (11~14 秒) 以上に, 13 歳 8 ヶ月では HPT も 68.9% と基準値 (70% 以上) 未満となり, その後もトロンボテストおよび HPT は基準値未満であったため, 13 歳 11 ヶ月に NTBC 投与量を 0.95mg/kg に増量した。しかしながら, 14 歳 3 ヶ月に HPT は 70.8% と基準値内となり, PT は 14 歳 4 ヶ月に 13.3 秒と基準内となつたが, トロンボテストは基準値未満であったため, 14 歳 6 ヶ月で NTBC 投与量を 1.02mg/kg へ増量した。その後, 2 ヶ月後の 14 歳 8 ヶ月には HPT が 67.1% と再び基準値未満となつたが, 14 歳 10 ヶ月で HPT は 77.5% と基準値内に, 14 歳 11 ヶ月ではトロンボテストが 78.2% と基準内になつた。しかしながら, NTBC 投与量が 0.83mg/kg となつた 15 歳 1 ヶ月の時点でトロンボテストは, 再び 61.6% に, また, 1 ヶ月後の 15 歳 2 ヶ月ではトロンボテストは 55.1% に低下し HPT も 69.3% の基準値未満となっている。また, この時点での NTBC 投与量は 0.82mg/kg であつた。今後は NTBC 投与量を 1.0mg/kg を目標に増量して経過を見ていく予定である。

D. 考察

チロシン血症 I 型に対する治療法としては, 肝臓移植が唯一の治療法とされてきたが, 薬物療法としての NTBC 療法が提唱されてから, その有効性が報告されている。わが国においても NTBC による治療を受けてきた患児において, これまでの検討で短期間のみならず長期間での有効性を確認することができた。チロシン血症 I 型の治療プロトコールにおいて NTBC 療法は取り入れられるべき治療法であり, 肝臓移植となる症例においても, 移植が実施できるまでの治療として有効な治療法と考えられている。NTBC の投与量は 1mg/kg/日が基準として推奨されているが, 小児においては体重増加により, 体重あたり

の投与量が減少していくが, どの時点で増量するか の指標は示されていない。昨年度の検討で, 血液凝固系検査のうちトロンボテストが NTNBC 投与量増量の指標となることを明らかにしたが, 本年度はどの時点で増量すべきかの検討を行った。今回の検討で, トロンボテストが 3 ヶ月以上基準値未満で続いた場合, 他の凝固系検査も異常となり, NTBC を増量したとしても凝固系検査が基準値内に改善するには, その期間に応じて長期化する可能性が示された。また, NTBC 投与量が 0.85mg/kg 以下では, トロンボテストが 1 回でも基準値未満となつた場合には, NTBC を 1mg/kg を目標に増量する必要があると考えられる。

また, NTBC 療法においては血中チロシン値の増加を抑制するために, 低チロシン・低フェニルアラニン食事療法の併用が必要であり, 本症例においても低フェニルアラニン・低チロシン特殊ミルクを用いた食餌療法を併用している。しかしながら, 本症例は現在 15 歳であり, 食餌療法に必要な特殊ミルクの提供は 20 歳までしか受けることができない。NTBC 療法を継続していくためには, 20 歳以降も特殊ミルクが必要であり, 患児が 20 歳になるまでにその入手方法も検討していく必要がある。もし, 特殊ミルクの入手が困難な場合には, 肝臓移植も今後の治療法として検討しなければならない。

E. 結論

チロシン血症 I 型の薬物療法として, NTBC 療法は非常に有用であるが, NTBC 療法を継続していく場合, 小児における成長に伴う投与量の増量の指標としては血液凝固系検査, 特にトロンボテストが有用であり, トロンボテストの基準値未満が 3 ヶ月以上続く場合または NTBC 投与量が 0.85mg/kg 以下でトロンボテストが基準値未満の場合には NTBC 投与量を 1.0mg/kg を目標に増量する必要がある。また, NTBC 療法を継続していくためには低チロシン・低フェニルアラニン特殊ミルクが必要であり, 20 歳以降の特殊ミルクが入手できるシステムが必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

「高チロシン血症を示す新生児における最終診断への診断プロトコールと 治療指針の作成に関する研究」

分担研究者 但馬 剛 広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学・助教

研究要旨

遺伝性高チロシン血症1型の酵素活性測定を実用化するには、酵素反応基質であるフマリルアセト酢酸を自作する必要がある。上流の酵素ホモゲンチジン酸ジオキシゲナーゼの過剰発現系を作成し、培養細胞に高濃度のホモゲンチジン酸を代謝させ、フマリルアセト酢酸の蓄積が得られるか検討したが、培養上清・細胞破碎液いずれにも検出されなかった。今後、簡便性は低下するが、ホモゲンチジン酸ジオキシゲナーゼおよびマレイルアセト酢酸イソメラーゼ両者の発現系から粗酵素を調製してホモゲンチジン酸を代謝させる必要があると考えられた。

研究協力者

津村 弥来

（広島大学大学院小児科学大学院生）

原 圭一

（広島大学大学院小児科学大学院生）

岡田 賢 (Postdoctoral associate,

St. Giles Laboratory of Human Genetics of Infectious Diseases, Rockefeller Branch, The Rockefeller University)

A. 研究目的

タンデムマス法による新生児スクリーニング施行地域の拡大に伴い、対象疾患となっている遺伝性高チロシン血症1型の確定診断体制が求められている。遺伝子解析は手技的に対象疾患を問わない汎用性の点で優れており、本疾患の診断にも有用な方法であるが、除外診断には適していない。診断確定・除外いずれにおいても酵素活性測定は優れた検査法であるが、本疾患の酵素反応基質であるフマリルアセト酢酸 (FAA) は市場供給されていないため、前年度に引き続いて自作法を検討した。

チロシン代謝経路において、遺伝性高チロシン血症1型の責任酵素フマリルアセトアセターゼ (FAH) の上流で入手可能な基質はホモゲンチジン酸である。この物質を代謝するホモゲンチジン酸ジオキシゲナーゼ (homogentisate 1,2-dioxygenase; HGD) は肝・腎でしか発現していないが、続くマレイルアセト酢酸イソメラーゼ (MAAI) と FAH は普遍的に発現していることが知られている。そこで、培養細胞系に HGD の発現ベクターを導入して過剰発現させ、高濃度のホモゲンチジン酸存在下

に培養することで、培養液中の FAA 蓄積を検討することとした。

B. 研究方法

HEK293細胞をDMEM培地 (10% FCS, スレプトマイシン, ペニシリンG添加) で 7×10^5 cells / 5ml / 6cm dish にて24時間培養後、ヒトHGDを組み込んだ pcDNA 3.1 発現ベクター5 μ gを、リン酸カルシウム法にてHEK293細胞へ遺伝子導入した。24時間培養後、培養液にホモゲンチジン酸Na を最終濃度2mMとなるように添加して、さらに24時間培養した。その後、培養上清と細胞を分離回収し、上清と細胞破碎液をHPLCで分析した。

分析条件: C18カラム, 移動相 5mM $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (pH 2.4) + アセトニトリル0%→10% linear gradient (流量 1ml/min)。検出には紫外吸光度計を使用した。

(倫理面への配慮)

今年度は患者検体への応用は行っていない。

C. 研究結果

上記の条件でフマル酸とホモゲンチジン酸の標品を分析したところ、260nm 紫外吸光にて保持時間各 9.4 分, 21.3 分で検出された (図1)。同じ標品を FAA に特異性の高い330nm 吸光で測定すると、フマル酸では260nm 吸光度の0.7%, ホモゲンチジン酸では2.4%へと低下した。

HGD 過剰発現系にホモゲンチジン酸 2mM を添加した培養上清を分析したところ、260nm にてフマル酸ピークはなく、330nm で有意のピーク出現も見られなかった。培養

細胞の破碎液の分析ではホモゲンチジン酸・フマル酸い
ずれのピークも見られなかった。

D. 考察

遺伝性高チロシン血症1型の診断は、異常代謝産物の
分析＋遺伝子解析で行うのが、方法論としては容易であ
る。また、明らかな罹患者の診断については、これらの方
法で確定的な所見が得られるものと推測される。しかしな
がら、新生児スクリーニングでは確定診断に苦慮する非
典型例や偽陽性例に遭遇することを想定しておく必要が
あり、酵素活性測定が希求されることになる。

FAAの化学構造を考えた場合、今回用いたHPLC条件
では、より極性の高いジカルボン酸類であるフマル酸と、
芳香環を有することでより極性が低いホモゲンチジン酸
の中間の保持時間で溶離するものと推定されるが、今回
の実験系では培養上清中にフマル酸の生成が確認でき
なかった。細胞破碎液の分析ではホモゲンチジン酸のピ
ークも見出されず、今回の方法ではホモゲンチジン酸を
細胞内に取り込ませることができていないものと考えられ
た。

E. 結論

ホモゲンチジン酸ジオキシゲナーゼ（HGD）を発
現させた HEK293 細胞にホモゲンチジン酸を添加し
て培養したが、異化反応が進んだ証左は得られなかつ
た。HGD 粗酵素を用いる反応系では高濃度酸素下で

の反応が求められ、さらに次のマレイルアセト作酸イ
ソメラーゼの粗酵素を用意する必要があるなど、診断
系を長く維持するには簡便性の点で難があるが、引き
続き検討する予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

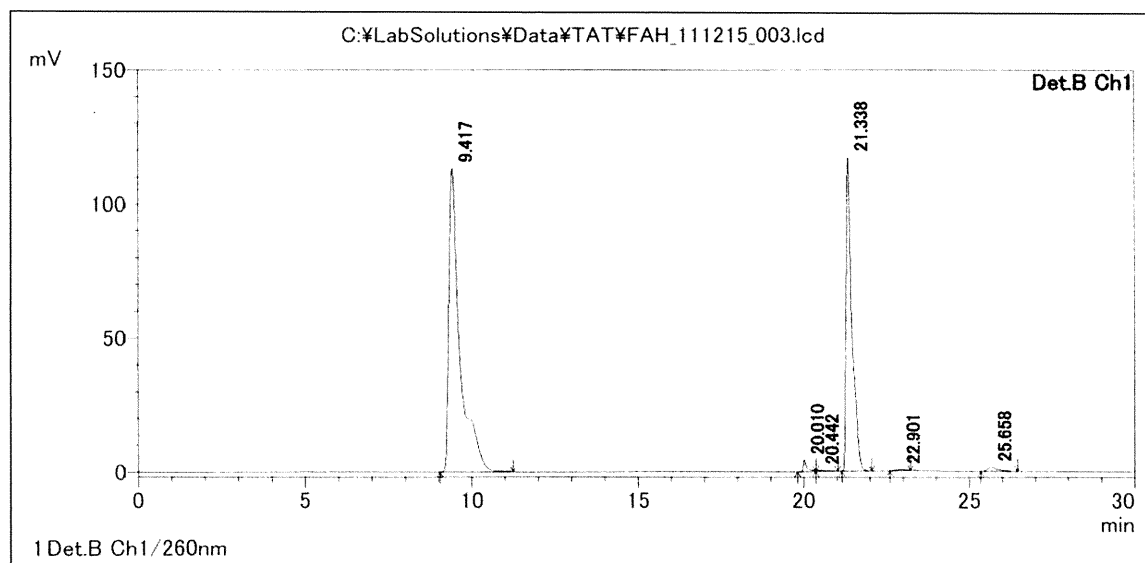


図1. フマル酸およびホモゲンチジン酸標品（各 5mM 混合液）のクロマトグラム（UV 260nm）

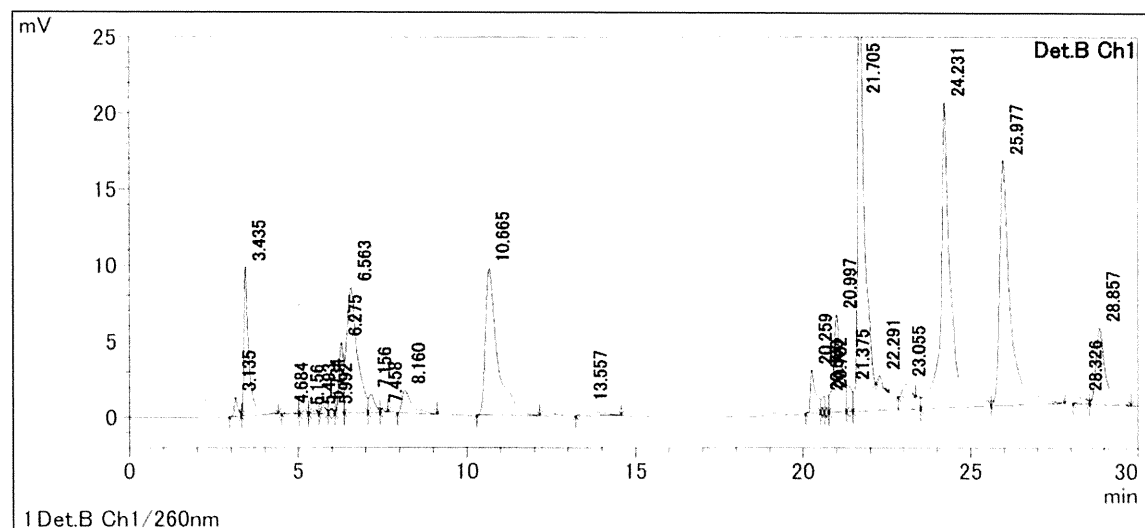


図2. ホモゲンチジン酸 2mM 添加 24 時間培養後，上清のクロマトグラム（UV 260nm）

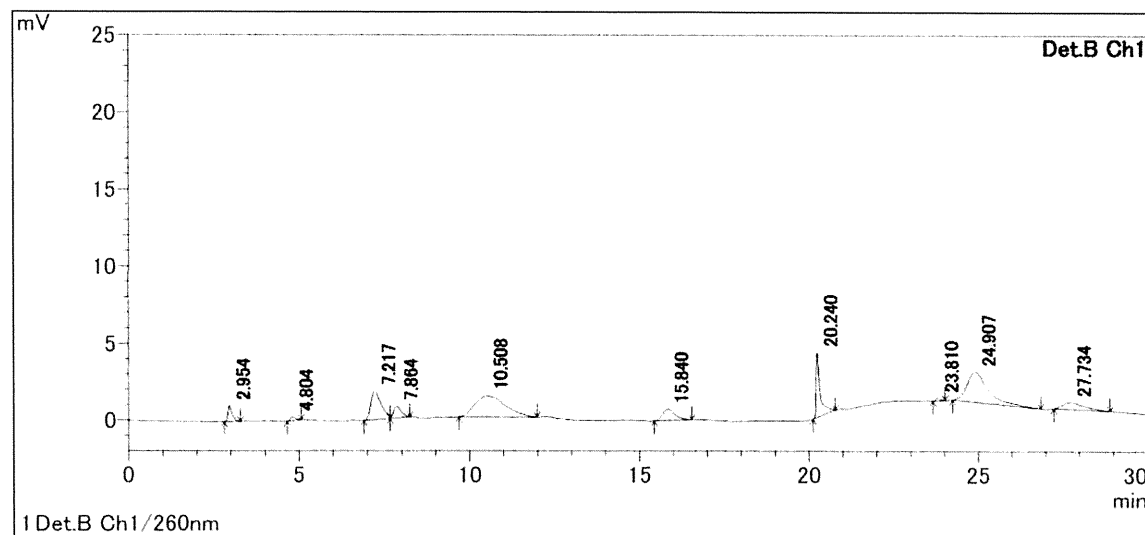


図3. ホモゲンチジン酸 2mM 添加 24 時間培養後，細胞破碎液のクロマトグラム（UV 260nm）

高チロシン血症 I 型に対する NTBC 投与の効果

分担研究者 名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野 准教授:伊藤哲哉

研究要旨

高チロシン血症 I 型は肝硬変、肝不全へと進行する予後不良の疾患であるが、早期に診断し NTBC すれば肝障害の発生を予防することができるとされている。我々は第 1 子が高チロシン血症 I 型と診断され、母をドナーとした生体部分肝移植を行った症例の次子に対し、NTBC 投与によって肝障害悪化を予防し、生後 1 歳 4 か月時に生体部分肝移植を施行し良好な結果を得た。NTBC 投与は本症の予後改善に非常に有効であった。

共同研究者

植田昭仁（ひいらぎこどもクリニック）

横井暁子（名古屋市西部医療センター城北病院小児科）

A. 研究目的

高チロシン血症 I 型は新生児期から乳児期早期にかけて発症する肝障害をきたす疾患として知られているが、肝細胞障害は肝硬変、肝不全へと進行し、肝癌を発生する症例も多い¹⁾。この肝障害に対し欧米では NTBC [2-(2-Nitro-4-trifluoromethylbenzoyl)-1,3-cyclohexanedione] が投与され効果を上げている。この薬剤はチロシン代謝の上流の酵素である 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸酸化酵素を阻害し、本疾患における有害代謝産物であるサクシニルアセトンなどの産生を抑制することができる²⁾。我々は高チロシン血症 I 型と診断され早期からの NTBC 投与を行った後生体部分肝移植により良好な経過をとった症例を経験したので報告する。

B. 研究方法

症例: 2 か月女児

主訴: 高チロシン血症 I 型の次子

家族歴: 血族結婚なし。

父: 日系ブラジル人、心臓弁膜症のため弁置換術施行。

母: ブラジル人

第 1 子: 健康

次兄: 高チロシン血症 I 型、母から生体部分肝移植施行

し経過良好。

現病歴: 前医にて、出生体重 4130g、正常分娩で出生。巨大児、新生児低血糖症のため治療された。兄が高チロシン血症 I 型であり、アミノ酸分析にてチロシン高値等を認めため本児も同疾患と診断されフェニルアラニン・チロシン除去ミルクを開始された。この前医では特殊ミルクのみの投与となっており、皮疹、下痢が出現したため当院転院となった。当院転院時はチロシン、フェニルアラニンの過制限状態で活気不良を認め、GOT: 44U/L、GPT: 61U/L、血中総蛋白: 4.3g/dl、アルブミン: 2.8g/dl、PT: 55.6%、APTT: 44.1%、チロシン: 6.3 nmol/ml、フェニルアラニン: 8.0 nmol/ml、と低蛋白血症、凝固系障害、チロシン、フェニルアラニン低値を示していた。普通ミルクを加えた食事療法を開始したがこれにもかかわらず肝機能障害、貧血が進行し、腎障害も著明になったことから予後不良と判断された。生体部分肝移植の適応と考えられたが、母は兄への移植をすでにすませていたこと、父は心疾患があることから早期の肝移植は困難であった。このため、スウェーデンオーファインインターナショナル社の協力で NTBC 入手が可能となったことから、当院医薬品臨床試験審査委員会の承認を得て、生後 2 ヶ月半から NTBC: 1mg/kg/日の投与を開始した。NTBC 開始後は数日で皮疹、貧血、低蛋白血症、肝機能障害などが劇的に改善し、兄の活動性も良好となった。体重増加も良好となり、画像検査上も肝腫瘍は認めず経過観察された。その後の経過も良好であったが、家族が生体部分肝移植を強く希望され、母方叔母からドナーとなる申し出があったため、1 歳 9 ヶ月時に生体部分肝移植を施行した。摘出し