

201128062A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

先天性高インスリン血症の病態解明
と治療適正化に関する研究

平成23年度総括・分担研究報告書

研究代表者 依藤 亨

平成24(2012)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

- 先天性高インスリン血症の病態解明と治療適正化に関する研究3
研究代表者 依藤 亨（大阪市立総合医療センター）

II. 分担研究報告

1. 先天性高インスリン血症の包括治療の確立に関する研究.....12
分担研究者： 依藤 亨（大阪市立総合医療センター）
吉澤明彦（信州大学）
井上 健（大阪市立総合医療センター）
中村哲郎（大阪市立総合医療センター）
増江道哉（木沢記念病院）
西堀弘記（木沢記念病院）
安達昌功（神奈川県立こども医療センター）
平野賢一（大阪大学医学研究科循環器内科学）
2. 本邦における先天性高インスリン血症の分子基盤.....20
分担研究者： 依藤 亨（大阪市立総合医療センター）
3. 定量的指標を用いた 18F-DOPA PET 検査による先天性高インスリン血症の膵臓病変局在診断に関する研究.....24
分担研究者： 増江道哉（木沢記念病院）
西堀弘記（木沢記念病院）
4. 先天性高インスリン血症の新規内科的治療（オクトレオチド持続皮下注療法）に関する研究.....29
分担研究者： 依藤 亨（大阪市立総合医療センター）
5. 新生児高インスリン血症に対するジアゾキサイドの使用に関する研究.....33
分担研究者： 河井昌彦（京都大学）
楠田 聡（東京女子医科大学）
6. インスリンと IGF-I（Insulin-like growth factor-I）の胎児発育に及ぼす作用に関する研究.....39
分担研究者： 市場博幸（大阪市立総合医療センター）
7. 糖尿病母体児における高インスリン血症状態の検討—低血糖時の糖代謝、脂肪酸分解、ケトン体産生について.....41
分担研究者： 楠田 聡（東京女子医科大学）

8.	先天性高インスリン血症の遠隔期予後の検討.....	43
	分担研究者： 安達昌功（神奈川県立こども医療センター）	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表.....	46
IV.	研究成果の刊行物・別冊.....	56

I. 総括研究報告

先天性高インスリン血症の病態解明と治療適正化 に関する研究

研究代表者

依藤 亨 大阪市立総合医療センター小児代謝・内分泌内科部長

研究要旨

本邦において欧米先進諸国と比べて実態把握・診断・治療面で遅れがあると考えられる先天性高インスリン血症について、早急に診療態勢を整えて国際的水準の医療を実現するとともに、新規医療を開発してより良い予後を達成することを目的とした研究である。本研究班では平成 22 年度に、我が国の持続性先天性高インスリン血症の全症例に対応できる欧米並みの遺伝子診断体制・PET 診断体制を整えた。その基盤に立って、平成 23 年度は次のような成果をえた。(1) さらに症例数を増加して診断・治療体制の信頼性を高め、同時にこの診療体制をより広く、永続的に提供するための基盤整備を行った。(2) 分子遺伝学的解析を症例数を増やして行い、膵部分切除で治療できる可能性のある局所性病変が大多数を占める我が国の遺伝疫学的特徴を確認した。(3) 局所性病変の局在診断のための $^{18}\text{F}\text{-DOPA}$ PET の症例数を増やして施行し、画像診断の手法をより洗練されたものとした。(4) K_{ATP} チャネル性の重症本症を主たる対象とし、びまん性病変で膵全摘以外の外科治療が困難な症例や、局所性であっても膵頭部に存在するなど外科治療困難な症例に対するオクトレオチド持続皮下注射療法の有効性を検討した。(5) 持続性本症との鑑別が問題になる一過性先天性高インスリン血症については、発症機序・適切な対応が確立されていないが、我が国で本症に対して唯一保険適用のあるジアゾキサイドについて使用状況調査を行い、臨床的問題点を明らかにした。(6) 先天性高インスリン血症の新生児が過体重になる機序を解明するため、250 例糖尿病母体児の臍帯血インスリン、IGF1 を検討し、胎児発育には IGF1 値との関連の方が優位であることを明らかにした。(7) 同様に糖尿病母体児に対して高インスリン血症状態の検討、低血糖時の糖代謝、脂肪酸分解、ケトン体産生の検討し、新生児低血糖症でケトン体産生が悪いとされるのはケトン体産生機序の問題より高インスリン状態があることによる可能性が高いことを示した。(8) 本邦の先天性高インスリン血症患者のう

ち、治療後顕性糖尿病を来さなかった症例の長期予後の検討を行い、本症に自然治癒傾向があること、神経学的予後に関しては改善の余地があることを明らかにした。

分担研究者

依藤 亨（大阪市立総合医療センター小児代謝・内分泌内科部長）

増江道哉（木沢記念病院小児科部長）

西堀弘記（木沢記念病院放射線科部長）

中村哲郎（大阪市立総合医療センター小児外科部長）

井上 健（大阪市立総合医療センター病理部部長）

吉澤明彦（信州大学病態解析診断学助教）

安達昌功（神奈川県立こども医療センター内分泌代謝科部長）

楠田 聡（東京女子医科大学母子総合医療センター教授）

市場博幸（大阪市立総合医療センター新生児科部長）

河井昌彦（京都大学新生児集中治療部准教授）

A 研究目的

先天性高インスリン血症は、新生児・乳児期に高度の低血糖をきたし、重症例ではしばしば高度の神経学的後遺症を残すため、適切な血糖管理が極めて重要である。従来は内科的治療が無効な症例に対しては95%以上の膵垂全摘が行われていたが、治癒しないことも多く、さらに大部分の症例では術後インスリン依存性糖尿病をきたすことが知られている。近年、欧米を中心に本症の40%ではβ細胞の過形成が膵の一部に限局しており、局所切除で後遺症なく治癒することが示され、本症の治療は大きく転換しつつある。遺伝子診断上これらの局所性病変は父親由来のK_{ATP}チャンネル遺伝子異常をもつ個体の母由来アリの欠失が生じることにより発症することが知られるようになった。また、局所病変の同定にK_{ATP}チャンネル遺伝子診断、18F-DOPAによるPETなどが有効なことも報告されている。

一方、本邦では本症の診断、治療に必要な検査、薬剤の多くが保険未承認であることも手伝って、旧態の治療が続行されてきた。その結果、本来回避可能な膵垂全摘により医原性糖尿病を発症した患児も少なくなかったと思われる。本研究では先行研究で明らかにした我が国での発症実態を基盤に、我が国の実情に合った海外に劣らない診療体制を整えるとともに、新規医療を開発して、さらに進んだ診療体制を確立することを目標とした。

B. 研究方法

1) 先天性高インスリン血症の包括治療の確立に関する研究

先行研究にて行った全国調査の結果、我が国における持続性先天性高インスリン血症の発症頻度がおよそ4万出生に一人であることが明らかになった。すなわち、年間に30人弱の新規患者発生がある

と考えられる。平成 22 年度にこの数に迅速に対応できる遺伝子診断システムとして、*ABCC8*, *KCNJ11*, *GLUD1*, *GCK* 遺伝子のゲノム DNA からの PCR 増幅と直接塩基配列決定、また MLPA 法によるエクソン欠失の有無を概ね 2 週間以内に検討できる体制を確立し、局所性病変の可能性のある症例 18F-DOPA PET へ国内紹介して検査を実施する体制を整えた。平成 23 年度は、この体制を使用してより多数の国内症例に対応した。

2) 本邦における先天性高インスリン血症の分子基盤

上記システムの一環として研究代表者の施設を中心に、全国から依頼を受けて遺伝子診断を行い、本邦における分子疫学背景を調査した。平成 22 年度の検討で、我が国では局所切除の対象となり得る局所性 K_{ATP} チャンネル性高インスリン血症の頻度が高い可能性が示唆されたが、症例数が少ないためのバイアスも考えられたため、本年度は症例を増やしてこの傾向を確認することを試みた。また、一過性症例では *HNF4A* 遺伝子異常以外は非遺伝性の可能性が高いと考えられているが、本研究では一過性症例の遺伝子解析も行い、この推測が妥当であるかも検討した。

3) 定量的指標を用いた 18F-DOPA PET 検査による先天性高インスリン血症の膵臓病変局在診断に関する研究

本邦において 18F-DOPA PET が唯一可能な施設である木沢記念病院中部療護センターにおいて蓄積したデータを解析し、診断上の有用性と問題点を検討した。さらに、主観的になりがちな PET 診断を定量化して、より確実に診断することを

試みた。

4) 先天性高インスリン血症の新規内科的治療（オクトレオチド持続皮下注療法）に関する研究

永続型先天性高インスリン血症重症例のうち、膵垂全摘以外の外科治療が困難と考えられた児に対してインスリンポンプを用いた在宅オクトレオチド持続皮下注射による治療を試み、その効果・副作用について長期観察を行った。

5) 新生児高インスリン血症に対するジアゾキサイドの使用に関する研究

現在臨床的取り扱いに一定の方針がなく、混乱がみられるジアゾキサイドの使用に関して国内疫学調査を行い、使用実態の調査、副作用の出現状態を検討した。

6) インスリンと IGF-I (Insulin-like growth factor-I) の胎児発育に及ぼす作用に関する研究

胎児発育に対するインスリンと IGF-I の作用を検討する目的で、糖尿病母体児 250 例について、臍帯血中の IRI、CPR、IGF-I 濃度、在胎期間、出生体重、出生時身長、HFD の有無、SFD の有無、生後 2 時間血糖値、低血糖治療の有無、母の糖尿病型に関するデータを検討した。

7) 糖尿病母体児における高インスリン血症状態の検討—低血糖時の糖代謝、脂肪酸分解、ケトン体産生について

糖尿病母体児の出生後の糖代謝、脂肪酸分解、ケトン体産生を知る目的で、2010 年 9 月から 2011 年 4 月に東京女子医科大学母子総合医療センターで出生した糖尿病母体児 (IDM) のうち、正期産児で出生体重 2500g 以上、新生児仮死を認めなかった児 19 例について出生直後に血糖、

インスリン (IRI) を測定した。その後低血糖(<40mg/dL)を認めた時点で血糖、インスリン(IRI)、遊離脂肪酸(FFA)、ケトン体の測定を行った。

8) 先天性高インスリン血症の遠隔期予後の検討

神奈川県立こども医療センター内分泌代謝科に通院中の先天性高インスリン血症患児のうち、既報の顕性糖尿病発症5症例 (DM 例) を除く計 10 例について、神経学的予後、治療法、高血糖の有無を後方視的に検討した。

C. 研究結果

1) 先天性高インスリン血症の包括治療の確立に関する研究

(分担報告書 依藤 亨、吉澤明彦、井上 健、中村哲郎、増江道哉、西堀弘記、安達昌功、平野賢一)

前年度確立した欧米型の診断・治療システムをさらに多くの患者に対して施行した。診断システムは全例に対し、スムーズに機能したが、下記の問題点が明らかになった。① 18F-DOPA PET で膵頭部局所性病変を同定された場合、胆管、主膵管を損傷せずに核出術を行うことが容易でないこと。② 遺伝子検査上局所性病変が疑われても 18F-DOPA PET 上びまん性に見える症例が存在すること。

③ 術中迅速病理診断が容易でないこと。これらの問題点に対する解決法として、外科治療困難例に対する内科的治療の開発や、外科治療施設の集約化の必要性が明らかになった。

また本科学研究費が終了したのちも診療体制を広く永続的に提供することが重要であるという認識のもとで、①遺伝子

検査の先進医療化申請、②大阪市立総合医療センターの遺伝子診療部業務として継続的に提供できる体制の整備、③木沢記念病院における PET 診断の自費診療化による継続提供、④社会的周知のためのホームページ作成の準備を行った。

2) 本邦における先天性高インスリン血症の分子基盤

(分担報告書 依藤 亨)

一過性、持続性を含め、我が国の先天性高インスリン血症 145 例の遺伝子解析を行った。持続性本症 83 例中 46 例に遺伝子変異を同定した。K_{ATP} チャンネル変異が 40 例で最も多かったが、うち両アリル変異は 7 例のみであり、片アリル変異のほとんどは父由来の変異で、膵部分切除の対象となり得ることが示唆された。重症例の大部分は K_{ATP} チャンネル変異陽性のため、我が国の重症例では局所性病変の比率が海外での報告より高いことが示唆された。

3) 定量的指標を用いた 18F-DOPA PET 検査による先天性高インスリン血症の膵臓病変局在診断に関する研究

(分担報告書 増江道哉・西堀弘記)

現時点で 18F-DOPA PET を行える我が国唯一の施設である木沢記念病院中部療護センターにて、重症度が高く手術治療の対象と考えられる患児を対象に PET を行い、遺伝子検査、また手術例では病理所見と比較したところ、PET で単一局所性と診断された症例では、100% 診断が正確であったのに対し、多発性・びまん性と診断された症例では病理所見と異なる結果となる症例がかなりあることが判明した。PET 診断の精度を改善するために

定量的診断法 (pancreas percentage 法) を開発し、診断精度は格段に改善した。

4) 先天性高インスリン血症の新規内科的治療 (オクトレオチド持続皮下注療法) に関する研究

(分担報告書 依藤 亨)

1 か月以上オクトレオチド持続皮下注射を行った 14 症例を集積した。全例に有効であった。遺伝子検査上父由来の K_{ATP} チャンネル片アレル異常をもち、局所性が疑われた症例では比較的必要量が少なく追加治療を必要としなかった症例が多く、両アレル変異でびまん性病変が疑われた症例では $25 \mu\text{g/kg/d}$ でも完全なコントロールが困難で追加治療を要する症例が多かったが、多くの症例では内科的に管理可能であった。

5) 新生児高インスリン血症に対するジアゾキサイドの使用に関する研究

(分担報告書 河井昌彦、楠田聡)

全国の新生児医療施設に対するアンケートで、ジアゾキサイドは 70 名で使用されており (高インスリン血症の患者の 62.5%)、93% の症例で有効であった。軽微なものがほとんどではあったが、約 40% に副作用を認めた。一部の症例では、動脈管開存などの重篤な循環器系副作用を認めた。

6) インスリンと IGF-I (Insulin-like growth factor-I) の胎児発育に及ぼす作用に関する研究

(分担報告書 市場博幸) 糖尿病母体児では臍帯血中の IRI、CPR、IGF-I 濃度の何れもが、出生体重との間に有意な正の相関を認め、これらのうち IGF-I が最も出生体重と相関することが明らかになった。こ

のことは、母体高血糖に伴う胎児の高インスリン血症により児の IGF-I 分泌が促進され、これが胎児発育を促進するのではないかとする仮説を支持する結果であった。

7) 糖尿病母体児における高インスリン血症状態の検討—低血糖時の糖代謝、脂肪酸分解、ケトン体産生について

(分担報告書 楠田聡)

16 例の検討で、出生直後時の血糖は中央値 57mg/dL (範囲 46–100)、IRI は中央値 $3.9 \mu\text{U/L}$ (範囲 0.9–48.6) であった。血糖値と IRI の間には相関を認めなかった。低血糖群は 3 例で、低血糖時の血糖はそれぞれ 9、39、24 で、IRI は 189.5、28.9、24.5 であり、FFA、ケトン体は極めて低値であった。新生児低血糖ではケトン体産生が低いとされているが、ケトン体産生機構の問題ではなく、多くは高インスリン傾向によるものであることが示唆された。

8) 先天性高インスリン血症の遠隔期予後の検討

(分担報告書 安達昌功)

神奈川県立こども医療センター症例のうち、治療後顕性糖尿病を来さなかった 10 例を対象として、①90% 脾切除でも高血糖が起りやすい事、②本症には治癒傾向があり、内科的治療が時間とともに不要になる傾向が見られること、③内科的治療を行った児の多くが神経学的後遺症を残していることを確認した。

D. 考察

欧米と比較して大きく遅れていると考えられた我が国の先天性高インスリン血症の診療状況であったが、本研究により診断面では、ほぼ同等のレベルを達成で

きた。遺伝子診断のスループットと 18F-DOPA PET とも本邦で発症する全例に対応できる体制となった。診療の継続性を考えるうえでは、診断体制の継続提供可能な環境を整える必要があるが、最終的に遺伝子検査・18F-DOPA PET が保険適用されるまでの過渡期の対策として、大阪市立総合医療センターで継続的に遺伝子診断が行える体制を整え、木沢記念病院で 18F-DOPA PET を継続的に行える体制を整えた。また、患者・医療者向けのホームページを作成し、まもなく公開できる状況となった。

一方、治療面ではいくつかの問題点が浮き彫りになった。すなわち、診断がついても局所性病変が膵頭部にあるときや、びまん性であるときなどは、外科的対応は必ずしも容易ではなく、海外で行われるような roux-en-Y jejunal loop に膵体尾部をドレナージして再建する手術は国内ではほとんど経験がなく、長期的な安全性も不明である。また、核出術についても、病理医の術中迅速標本の正確な解釈に問題があり、局所性病変に対する外科治療施設の集約の必要性があると考えられた。一方で、膵垂全摘は術後に糖尿病を発症することがきわめて多く、我々の神奈川こども医療センターでの遠隔期予後の調査でもその事実が確認できた。

こういった症例に対する対応の可能性の一つとして、本研究でも確認された本症の自然治癒傾向を利用した内科療法、すなわち長期オクトレオチド持続皮下注射療法のデータを集積した。目立った合併症なく多くの症例が管理可能であることが明らかになり、さらに一部の症例で

はこの治療で膵切除なく自然治癒に持ち込むことができた。症例のさらなる集積と、本療法の早期の保険適用化が望まれる。

先天性高インスリン血症には、持続性のものに加えて一過性のものが存在する。一過性でも一時的には重症である者も多く、また持続期間も長いものでは数か月に及ぶことが知られている。そういった症例に持続高カロリー輸液のみで臨むのか、先般保険適用されたジアゾキサイドを使用するののかについては確立したガイドラインが存在しない。ジアゾキサイドは一過性高インスリン血症の多くに有効であるが、低体重児が多い一過性本症では副作用もやすく、慎重に使用すべきであることが明らかになった。

一過性、持続性を早期に鑑別することが、臨床的には非常に重要であるが、その一つの手がかりは持続性本症をもつ患児の過体重傾向である。胎児発育において、インスリン・IGF1 がもつ役割の解明は両者の臨床的鑑別に有用であると思われるが、糖尿病母体児を対象として行った検討では、過体重に主として寄与するのはインスリンよりも IGF1 であることが本研究で示唆された。一過性本症は持続性本症よりは多いものの、まれな病態であると考えられたが、本研究により、低体重児の低血糖の多くが高インスリン傾向によるものである可能性が示唆され、実際には軽症例も含めると従来考えられていたよりはるかに高頻度であると考えられた。

E. 結論

平成 23 年度の研究の結果、診断面では欧米先進施設レベルの検査体制を全国の症例に提供できる目途がついた。一方、治療面では欧米モデルが必ずしも本邦症例にとって最適のものではなく、内科的治療と組み合わせた治療体制が確立される必要があることが明らかとなった。オクトレオチド持続皮下注療法は、そのための有力な手段のひとつであるが、さらなる治療の洗練と、計画的な治験による早期の保険適用化が望ましいと考えられた。また、継続的な治療研究により、近い将来に恒久的に確立された治療体制が構築可能と考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文・著書発表

- 1) Yorifuji T, Kawakita R, Nagai S, et al. Molecular and Clinical Analysis of Japanese Patients with Persistent Congenital Hyperinsulinism: Predominance of Paternally Inherited Monoallelic Mutations in the KATP Channel Genes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:E141-5.
- 2) 川北理恵、杉峰啓憲、長井静世、河井昌彦、楠田 聡、依藤 亨 本邦における先天性高インスリン血症の実態調査 *日児誌* 2011, 115;563-569.
- 3) Masue M, Nishibori H, Fukuyama S, Yoshizawa A, Okamoto S, Doi R, Uemoto S, Tokumi T, Kasai T, Yorifuji T. Diagnostic accuracy of

[¹⁸F]-fluoro-L-dihydroxyphenylalanine positron emission tomography scan for persistent congenital hyperinsulinism in Japan. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;75:342-6.

4) Yorifuji T, Hosokawa Y, Fujimaru R, Kawakita R, Doi H, Matsumoto T, Nishibori H, Masue M. Lasting F-DOPA PET Uptake after Clinical Remission of the Focal Form of Congenital Hyperinsulinism. *Horm Res Paediatr* 2011;76:286-290

5) 依藤 亨 低血糖 特集 小児の輸液ベーシックガイド 小児科臨床 2011; 74:247-252.

6) 依藤 亨 炭水化物 児玉浩子、玉井浩、清水俊明編 小児臨床栄養学 pp37-39 診断と治療社 2011

7) 依藤 亨 遺伝性インスリン分泌異常症の診療最前線～personalized medicineのモデルとして 日本小児科学会雑誌 2011, 115;1727-1735

8) 松原康策、和田珠希、依藤 亨、増江道哉、西堀弘記、磯目賢一、由良和夫、仁紙宏之、深谷 隆 3年間のオクトレオチド持続皮下注射により膣手術を回避できた先天性高インスリン血症 日本小児科学会雑誌 2011, 115; 1445-1450.

9) 依藤 亨 高インスリン性低血糖症 特集 最近話題の遺伝子異常による内分泌および類縁疾患 ホルモンと臨床 2011, 58; 71-75.

10) 依藤 亨 先天性高インスリン血症の診療最前線 医学のあゆみ 2012, 240; 232-237

2. 学会発表

1) Tohru Yorifuji, Rie Kawakita, Rika Fujimaru, Yuki Hosokawa, Hironori Nishibori, Michiya Masue. Current status of congenital hyperinsulinism in Japan. Monogenic Disorders of Insulin Secretion: Congenital Hyperinsulinism and Neonatal Diabetes. International Symposium at the Children's Hospital of Philadelphia. (Philadelphia) Mar 15, 2012.

2) Michiya Masue, Hironori Nishibori, Seisuke Fukuyama, Tohru Yorifuji. Repeated 18F-DOPA PET studies for patients with KATP-channel congenital hyperinsulinism. Monogenic Disorders of Insulin Secretion: Congenital Hyperinsulinism and Neonatal Diabetes. International Symposium at the Children's Hospital of Philadelphia. (Philadelphia) Mar 15, 2012.

3) 依藤 亨、細川悠紀、藤丸季可、川北理恵、土井 拓、松本貴子、西堀弘記、増江道哉 KATP チャネル性高インスリン血症の自然軽快機序 第 45 回日本小児内分泌学会（大宮）平成 23 年 10 月 7 日

4) 依藤 亨 新生児血糖異常症の臨床 第 3 回神戸新生児内分泌勉強会（特別講演）（神戸）平成 23 年 6 月 2 日

5) 依藤 亨 本邦の先天性高インスリン血症の遺伝疫学 第 84 回日本内分泌学会（神戸）平成 23 年 4 月 21 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

II. 分担研究報告

先天性高インスリン血症の包括治療の確立に関する研究

分担研究者

依藤 亨（大阪市立総合医療センター小児代謝・内分泌内科部長）
吉澤明彦（信州大学病態解析診断学助教）
井上 健（大阪市立総合医療センター病理部長）
中村哲郎（大阪市立総合医療センター小児外科部長）
増江道哉（木沢記念病院小児科部長）
西堀弘記（木沢記念病院放射線科部長）
安達昌功（神奈川県立こども医療センター内分泌代謝科部長）
平野賢一（大阪大学医学研究科循環器内科学助教）

研究要旨

先行研究にて行った全国調査の結果、我が国における持続性先天性高インスリン血症の発症頻度がおよそ4万出生に一人であることが明らかになった。すなわち、年間に30人弱の新規患者発生があると考えられる。平成22年度にこの数に迅速に対応できる遺伝子診断システムとして、*ABCC8*, *KCNJ11*, *GLUD1*, *GCK* 遺伝子のゲノムDNAからのPCR増幅と直接塩基配列決定、またMLPA法によるエクソン欠失の有無を概ね2週間以内に検討できる体制を確立し、局所性病変の可能性のある症例18F-DOPA PETへ国内紹介して検査を実施する体制を整えた。平成23年度は、この体制を使用してより多数の国内症例に対応した。さらに、診断のためのmodalityを永続性に確保し、広く社会に周知するため、遺伝子診断、PET診断の継続のための体制とホームページ作成を試みた。一方、確立した診断システムは全例に対し、スムーズに機能したが、いくつかの問題点が明らかになり、局在性病変の診断が必ずしも外科治療の成功につながらないことが明らかになった。

A. 研究目的

先天性高インスリン血症は、新生児期・乳児期に持続する低血糖症で発症する。稀な疾患であるが重篤な低血糖をきたした児には高頻度で神経学的後遺症を残すため¹⁾²⁾、その適切な管理は臨床上極めて重要である。本症は、生後3-4カ月以内に軽快する一過性のものと、それ以降も持続する持続性のものに大別される。一過性本症は母体糖尿病、母体薬剤投与や

胎児機能不全によるストレス誘発性のものなどが知られており、一般に非遺伝性であると考えられている。一方持続性本症は、大部分が遺伝性と考えられている。

既にいくつかの原因遺伝子が同定されており、代表的なものとして膵β細胞のグルコース応答性インスリン分泌に重要なATP感受性カリウムチャネルを構成するSUR1 (*ABCC8* 遺伝子)、Kir6.2

(*KCNJ11* 遺伝子) の異常によるものが最も多く、次いで高インスリン血症・高アンモニア血症症候群をきたすグルタミン酸脱水素酵素 (*GLUD1* 遺伝子) 異常が多いとされている。持続性高インスリン血症は、欧米では5万人に1人程度の発症頻度と報告されている³⁾。従来、内科的治療に抵抗性の症例では神経学的後遺症を回避するために95%以上の膵垂全摘が行われてきたが、多くは治癒しないか、術後糖尿病に至っており²⁾、その予後は必ずしも芳しいものではなかった。近年になって、欧米を中心に持続性本症の分子遺伝学的理解が進み、治療方法の長足の進歩が見られるようになった⁴⁾⁵⁾が、本邦では保険適応の制限などとも関連して本症の診断・治療は大きく後れをとっていた。我々は先行研究により、それまで明らかでなかった本症の我が国での発症実態を明らかにした⁶⁾。その結果、年間我が国全体でおよそ15例に K_{ATP} チャンネル遺伝子診断と、その結果によって18F-DOPA PETが新規に必要なことが判明した。

欧米では、診断後直ちに18F-DOPA PETを行うことが勧められているが、平成22年度の本研究班の検討で、我が国症例においては局所性病変でもPET上、多発性またはびまん性に見えることがあり、迅速な遺伝子診断を先行する必要があると考えられた。本研究では、さらに経験を重ねて、現時点でのより良い診断・治療方針を決定し、さらに全国の症例に対してその医療を提供するための基盤作成をすることを目的とした。

B. 研究方法

全部で40エクソンに及ぶ K_{ATP} チャンネル遺伝子検査を容易にするため、エクソン39個からなるABCC8サブユニットをPCR 17反応でカバーできるように、近接するエクソンをまとめて増幅できるようなプライマーを設定した(プライマー詳細は平成22年度本研究班報告書参照)。得られたPCR産物を磁気ビーズで生成して、増幅に用いたプライマー、一部は内部プライマーを用いてBigDye terminator cycle sequencing kit ver 3.1を使用してシーケンシング反応を行い、ABI prism 3100xl自動シーケンサーにて塩基配列決定した。得られたデータはSoft Genetics社製Mutation Surveyor softwareを用いて迅速に変異解析を行えるよう設定し、片アリル変異が同定された場合は速やかに両親の検索を行い変異の親由来を確定した。

変異解析により、局所性病変の可能性がある症例について、木沢記念病院中部療育センターと連携して速やかに18F-DOPA PETを行った。さらにその結果を用いて外科治療可能な症例については外科治療を行った。外科手術は研究代表者の施設あるいは患児の居住地周辺の小児外科において行われた。手術を行った症例については病理所見と術前診断の関連を検討した⁷⁾。

本研究班終了後の本症治療の継続提供を目指して、基盤整備を行った。診療に必須である遺伝子診断においては、先進医療申請を行った。また、18F-DOPA PETに関しても木沢記念病院における有償継続提供の申請を行い、本医療の保険適用化までに発生した患児の診療に支障がないための体制づくりを試みた。さらに

診療体制を周知するためにホームページの作成を開始した。

C. 研究結果

① 遺伝子検査

平成 22 年度に引き続いて症例を重ね、現時点でのスループット・正確性は我が国の全症例をカバーするのに十分であることが確認された(分担研究 2 本邦における先天性高インスリン血症の分子基盤)参照。本年度診療を行った 1 例では遺伝子診断が他施設で行われており、臨床的重症度や PET 所見からびまん性病変が疑われるのとの矛盾が問題となった。臍生検によりびまん性病変が明らかになったため、遺伝子検査を再検してみると、両アレル変異のうち片アレルの変異が見逃されており、実際は遺伝子検査上もびまん性病変であることが確認できた。

本症の診療において無駄な検査や治療後遺症を避けるために遺伝子検査は必須である。将来にわたって継続的な遺伝子検査の提供をするため、大阪市立総合医療センター遺伝子診療部に業務を委託し、先進医療として認められるよう厚生労働省に申請中である。

② 18F-DOPA PET

本 PET は、保険診療適用外の検査で、木沢記念病院倫理委員会の承認をうけ家族同意のもとで施行した。現時点で、木沢記念病院中部療護センターは東アジアで先天性高インスリン血症に本検査を施行可能な唯一の施設である。遺伝子診断施設(大阪市立総合医療センター)と連携のうえ、局所性病変の可能性がある患児について遺伝子検査結果の速やかな連絡

のもと、PET 検査を施行できる体制を整えることができた。

本症の医療にとって本検査も必須であるが、本研究費終了後も有償で継続提供する予定である。

③ 外科治療・病理診断

遺伝子診断、PET 検査の結果の基づいて、適応のある 15 症例に対して臍切除を施行した。12 例では、治癒ないし一部症例で軽度の低血糖が残存したが、最終的に治癒できた。治癒できなかった 3 例は以下の経過であった。

(症例 1) 新生児発症重症低血糖症。遺伝子変異は c.4608+1G>C とワイルドタイプのヘテロ接合体で変異は父由来。

18F-DOPA PET にて臍頭部病変を同定。臍頭部病変の切除を試みるも低血糖の残存あり、再手術にて臍頭部の大部分を CUSA にて除去するも術後低血糖が続き内科的治療続行となった。術後、切除部分の病理組織を検討したところ、病変部位が含まれており(図 1)、病変の残存が疑われた。

(症例 2) 新生児期発症重症低血糖症(前述の症例)。他院にて遺伝子検査が施行され、父由来の片アレル変異(c.2506C>T)とされてきた。臨床的に重症で、

18F-DOPA PET 上は臍頭部にやや取り込みの大きいびまん性病変と診断された

(図 2)。病理所見を受けて、本研究班で遺伝子診断を再検したところ、従来同定されていた変異に加えて、新たに c.4412-13G>A を同定した。すなわち、初回の遺伝子検査では同定されていなかった変異を同定し、元来びまん性であったことが明らかになった。

(症例3) 新生児期発症重症低血糖症。遺伝子検査にて、c.1773delC /c.2992C>Tの複合ヘテロ接合体でびまん性病変であると判断。念のため行った18F-DOPA PETでも確認された(図3)。オクトレオチド持続皮下注射が有効であったが、25 μ g/kg/dでも十分に低血糖がコントロールされず、グルカゴン持続静注、ブドウ糖持続点滴が必要な状態となったため、管理を容易にする目的で90%弱の膵切除を行った。術後低血糖は残存したが、オクトレオチド持続皮下注射のみで管理できるようになったため退院できた。

D. 考察

平成22年度の成果と合わせて診断面では欧米先進施設同様のレベルを達成できた。大部分の症例は局所性病変で外科治療により後遺症なく根治できたが、問題を残す症例も経験した。症例1では、膵頭部病変の完全切除の困難性と迅速病理所見の正確さに問題が見られた。頭部病変を主膵管や胆管を損傷せずに核出することは外科医、病理医にとって必ずしも容易なことではなく、distal pancreateojejunostomyの短期的長期的安全性も必ずしも確認されておらず、症例によってはオクトレオチド持続療法などの内科的治療で自然軽快を待つ方向も考えられた。また、膵切除の経験豊富な小児外科医や、新生児の膵病理に経験豊富な病理医は少なく、症例発生数から考えて外科治療に関しては治療施設を集約する必要もあると考えられた。遺伝子診断についても同様で、症例2の経過が遺伝子診断施設の集約化も必要であることを示唆している。症例3は内科治療困難な

びまん性病変で、膵全摘はやむを得ないところであったが、従来のような95%以上の膵全摘を行わず、低血糖の残存を前提として内科治療管理が容易になる程度の膵切除を行った。このような症例の長期予後は不明で、今後の集積を待つ必要があるが、従来のように初回手術後直ちに糖尿病を発症する程度の膵全摘は必ずしも好ましくないと考えられた。

【引用文献】

- 1) Menni F, de Lonlay P, Sevin C. Neurologic outcomes of 90 neonates and infants with persistent hyperinsulinemic hypoglycemia. *Pediatrics* 2001 ; 107(3) : 476-9.
- 2) Meissner T, Wendel U, Burgard P. Long-term follow-up of 114 patients with congenital hyperinsulinism. *Eur J Endocrinol*. 2003 ; 149(1) : 43-51.
- 3) Bruining, G. Recent advances in hyperinsulinism and the pathogenesis of diabetes mellitus. *Curr Opin Pediatr* 1990 ; 2 : 758-765.
- 4) Stanley CA. Advances in Diagnosis and Treatment of Hyperinsulinism in Infants and Children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 ; 87(11) : 4857-4859.
- 5) Kapoor RR, James C, Hussain K. Advances in the diagnosis and management of hyperinsulinemic hypoglycemia. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2009 ; 5(2) : 101-12.

- 6) 川北理恵、杉峰啓憲、長井静世 本邦における先天性高インスリン血症の実態調査 日児誌 2011, 115;563-569.
- 7) Yorifuji T, Kawakita R, Nagai S et al. Molecular and Clinical Analysis of Japanese Patients with Persistent Congenital Hyperinsulinism: Predominance of Paternally Inherited Monoallelic Mutations in the KATP Channel Genes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:E141-5.

E. 結論

平成 23 年度の研究の結果、診断面では欧米先進施設レベルの検査体制を全国の症例に提供できる目途がついた。一方、治療面では欧米モデルが必ずしも本邦症例にとって最適のものではなく、内科的治療と組み合わせた治療体制が確立される必要があることが明らかとなった。オクトレオチド持続皮下注療法は、そのための有力な手段のひとつであるが、さらなる治療の洗練と、計画的な治験による早期の保険適用化が望ましいと考えられた。また、継続的な治療研究により、近い将来に恒久的に確立された治療体制が構築可能と考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文・著書発表

- 1) Yorifuji T, Kawakita R, Nagai S, et

al. Molecular and Clinical Analysis of Japanese Patients with Persistent Congenital Hyperinsulinism: Predominance of Paternally Inherited Monoallelic Mutations in the KATP Channel Genes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:E141-5.

2) 川北理恵、杉峰啓憲、長井静世、河井昌彦、楠田 聡、依藤 亨 本邦における先天性高インスリン血症の実態調査 日児誌 2011, 115;563-569.

3) Masue M, Nishibori H, Fukuyama S, Yoshizawa A, Okamoto S, Doi R, Uemoto S, Tokumi T, Kasai T, Yorifuji T. Diagnostic accuracy of [¹⁸F]-fluoro-L-dihydroxyphenylalanine positron emission tomography scan for persistent congenital hyperinsulinism in Japan. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011;75:342-6.

4) Yorifuji T, Hosokawa Y, Fujimaru R, Kawakita R, Doi H, Matsumoto T, Nishibori H, Masue M. Lasting F-DOPA PET Uptake after Clinical Remission of the Focal Form of Congenital Hyperinsulinism. *Horm Res Paediatr* 2011;76:286-290

5) 依藤 亨 低血糖 特集 小児の輸液ベーシックガイド 小児科臨床 2011; 74:247-252.

6) 依藤 亨 炭水化物 児玉浩子、玉井浩、清水俊明編 小児臨床栄養学 pp37-39 診断と治療社 2011

7) 依藤 亨 遺伝性インスリン分泌異常症の診療最前線～personalized medicine のモデルとして 日本小児科学会雑誌 2011,

115;1727-1735

8) 松原康策、和田珠希、依藤 亨、増江道哉、西堀弘記、磯目賢一、由良和夫、仁紙宏之、深谷 隆 3年間のオクトレオチド持続皮下注射により膵手術を回避できた先天性高インスリン血症 日本小児科学会雑誌 2011, 115; 1445-1450.

9) 依藤 亨 高インスリン性低血糖症特集 最近話題の遺伝子異常による内分泌および類縁疾患 ホルモンと臨床 2011, 58; 71-75.

10) 依藤 亨 先天性高インスリン血症の診療最前線 医学のあゆみ 2012, 240; 232-237

2. 学会発表

1) Tohru Yorifuji, Rie Kawakita, Rika Fujimaru, Yuki Hosokawa, Hironori Nishibori, Michiya Masue. Current status of congenital hyperinsulinism in Japan. Monogenic Disorders of Insulin Secretion: Congenital Hyperinsulinism and Neonatal Diabetes. International Symposium at the Children's Hospital of Philadelphia. (Philadelphia) Mar 15, 2012.

2) Michiya Masue, Hironori Nishibori, Seisuke Fukuyama, Tohru Yorifuji. Repeated 18F-DOPA PET studies for patients with KATP-channel congenital hyperinsulinism. Monogenic Disorders of Insulin Secretion: Congenital Hyperinsulinism and Neonatal Diabetes. International Symposium at the Children's Hospital of Philadelphia. (Philadelphia) Mar 15,

2012.

3) 依藤 亨、細川悠紀、藤丸季可、川北理恵、土井 拓、松本貴子、西堀弘記、増江道哉 KATP チャネル性高インスリン血症の自然軽快機序 第45回日本小児内分泌学会(大宮)平成23年10月7日

4) 依藤 亨 新生児血糖異常症の臨床第3回神戸新生児内分泌勉強会(特別講演)(神戸)平成23年6月2日

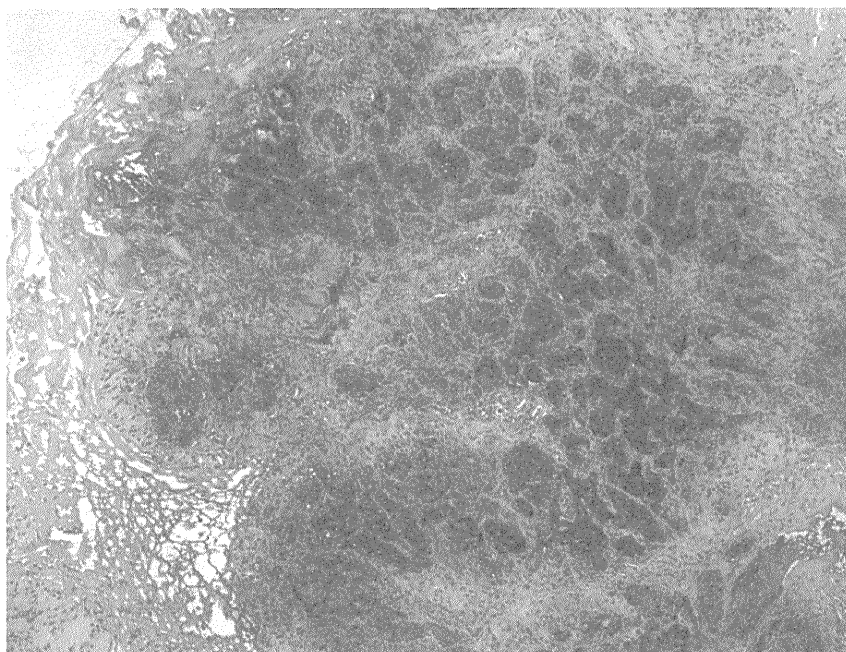
5) 依藤 亨 本邦の先天性高インスリン血症の遺伝疫学 第84回日本内分泌学会(神戸)平成23年4月21日

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

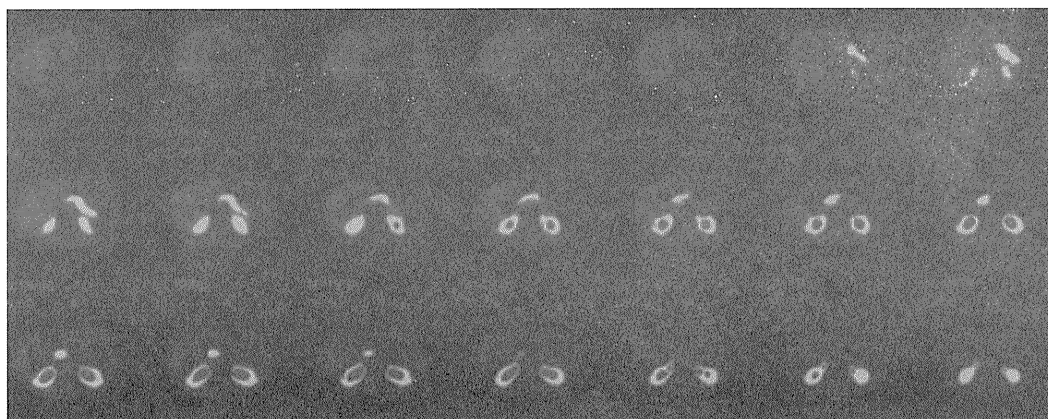
(図1) 症例1 病理所見 (インスリン染色)

術中迅速標本で明らかでなかった、局所性病変を示す β 細胞の集簇が見られる。



(図2) 症例2 18F-DOPA PET

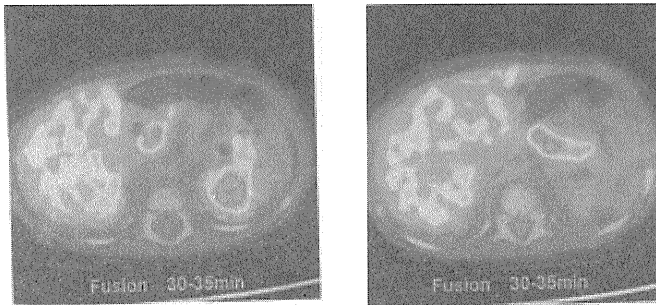
膵全体にわたって取り込みが見られ、びまん性病変が疑われた。



(図3) 症例3 18F-DOPA PET

膵頭部、膵体部に強い取り込みが見られびまん性ないし多発性病変が疑われた。

【18F-DOPA PET】

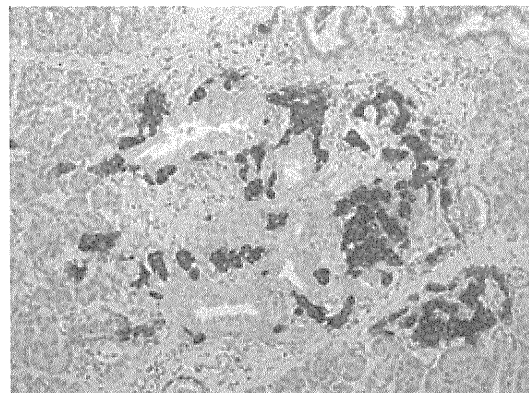


(図4) 症例3 病理所見

病理所見では、巨大核をともなう膵島が膵全体に分布しており、びまん性病変の像であった。



H-E染色 400倍



Insulin染色 200倍

細胞質が好酸性で腫大した核を持つ細胞の存在