

201128064A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

シトリン欠損症の実態調査と診断方法および
治療法の開発に関する研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 岡野 善行

平成 24 (2012) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告	-----	2
シトリン欠損症の実態調査と診断方法および治療法の開発に関する研究	-----	3
岡野 善行		
(資料1) 疾患概要	-----	12
(資料2) 研究者リスト	-----	13
(資料3) シトリン欠損症国際シンポジウム抄録	-----	14
II. 分担研究報告	-----	37
1. シトリン欠損症モデル (citrin/mGPDH double KO) マウスを用いた	-----	38
病態解析と新規治療法の開発		
佐伯 武頼		
2. 成人型シトルリン血症患者の臨床像と治療戦略	-----	46
池田 修一		
3. シトリン欠損症の簡便・迅速な遺伝子診断法の確立	-----	49
～遺伝子スクリーニングの可能性～		
大浦 敏博		
4. 一酸化窒素合成系に関連する生体マーカーを用いた病態評価と	-----	52
治療への応用		
塚原 宏一		
5. シトリン欠損症の遺伝カウンセリングツールの開発	-----	57
玉置 (橋本) 知子		
6. シトリン欠損症の治療法の開発	-----	58a
(疾患モデルマウスを用いた食餌実験)		
浅川 明弘		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	59
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	63

[1] 総括研究報告

シトリン欠損症の実態調査と診断方法および治療法の開発に関する研究

研究代表者 岡野 善行 大阪市立大学 講師

研究要旨：シトリン欠損症は新生児期には胆汁うっ滞症、幼児期から青年期は一見無症状の適応・代償期、そして、予後不良な疾患である成人発症 II 型シトルリン血症（CTLN2）を示す。本研究では、シトリン欠損症の出生から老年に至るまでの自然歴・生活歴を明らかにし、各年代に適した生活指導を含めた食事療法、薬物療法等の治療法を開発し、治療指針を作成し、CTLN2 の発症予防と発症後の肝移植の回避を目標としている。CTLN2 発症後の治療には、ピルビン酸ナトリウム投与と低炭水化物食療法がその進行を抑制し、肝移植を回避できる可能性を示唆する結果を得た。幼児期以降は適応・代償期として見かけ上健康であるが、食癖異常などの症状とともに、疲労の増加と生活全般に著しい QOL の低下を示していた。血中シトルリン、酸化ストレスマーカー、患者 QOL 調査、食事調査、身体発育を指標として、ピルビン酸ナトリウム臨床研究ではその有効性が示唆されている。新生児期の NICCD に対しては MCT ミルクが有効であり、乳児期肝移植の回避に有用である。タンデムマス法による新生児マスキングでの患者発見は予防医学の観点から非常に重要で効果的であるが、一部の患者が発見されているにすぎない。本研究では、遺伝カウンセリングのマニュアル化と患者家族、学校を対象としたパンフレットを作成している。患者にとって生命の危険を伴う移植治療を回避し、また、医療費の軽減化がはかり、患者の学校生活、社会生活上での QOL の向上に貢献し、そして、社会全体でその認識と理解を深め、国民の保健・医療・福祉の向上に貢献する。

研究分担者

佐伯武頼	熊本大学生命資源研究・ 支援センター 教授
池田修一	信州大学医学部神経内科学 教授
浅川明弘	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 心療内科 准教授
大浦敏博	東北大学医学部小児科 臨床教授
玉置(橋本) 知子	兵庫医科大学人類遺伝学 教授
塚原宏一	岡山大学生体応答学 准教授

A. 研究目的

Kobayashi らは高アンモニア血症、高シトルリン血症、肝障害、精神症状を主症状とし、予後不良な疾患である成人発症 II 型シトルリン血

症（CTLN2）が SLC25A13 異常で生じることを報告した(Nat Genet. 1999)。その遺伝子産物であるシトルリンはミトコンドリア内膜に局在する肝型アスパラギン酸・グルタミン酸膜輸送体であり、その欠損は細胞質へのアスパラギン酸供給障害やミトコンドリアへの NADH の供給障害、糖新生障害となる(Palmieri L, EMBO J. 2001)。

シトリン欠損症は新生児期に子宮内発育不全、肝内胆汁うっ滞症 (NICCD) で発症し、生後 1 才までに自然寛解する (Tamamori A, Eur J Pediatr 2002, Ped Res 2004)。幼児から思春期は適応・代償期として見かけ上健康であるが、食癖異常、成長障害、易疲労感などの症状が指摘されている。成人期にはシトリン欠損症患者の 20% に CTLN2 が発症し、肝移植を必要とする。この CTLN2 発症には遺伝子型の違いは関与せず、環

境因子、生活習慣、食事習慣等の関与が推定されている。現在、肝移植以外の確定された治療法はない。

本研究の目的は、シトリン欠損症の出生から老年に至るまでの自然歴・生活歴を明らかにし、各年代に適した生活指導を含めた食事療法、薬物療法等の開発とガイドラインを作成することである。また、モデル動物を用いた新しい治療薬の開発と迅速で簡便な診断方法の開発を行う。その結果、患者のよりよい QOL をめざした生活指導と食事療法、薬物療法を行い、CTLN2 発症を予防する。

B. 研究方法

1. 病歴・病態調査

1) 小児領域の患者の病歴調査：本症例を多く経験している各研究協力者に患者登録を依頼し、調査を行った。大浦敏博（研究分担者）、岡野善行（研究代表者）が担当した。

2) 成人領域の患者の病歴調査：内科領域で最も多くの患者を経験している池田修一（研究分担者）と矢崎正英（研究協力者、信州大学）が担当した。

3) 新生児・乳児期の NICCD に対する治療ガイドラインを作成するために、症状（胆汁うっ滞症、発育不全等）と治療（薬物療法と食事療法）を比較検討した。（岡野善行、武田泰輔；研究協力者）

2. QOL 調査

本研究班は小児の疲労尺度の測定法を開発し、その有効性を確認している。シトリン欠損症の適応・代償期（見かけ状健康）で指摘されている倦怠感の実態は、これまで明らかにされていない。

前年度、開発した日本語版 PedsQL Multidimensional Fatigue Scale（倦怠感尺度）にて、シトリン欠損症患者の倦怠感と一般 QOL の実態を明らかにし、両者の関連を検索した。岡野と小林京子（研究協力者、東京大学家族看護学分野）が担当した。

3. 成人発症 II 型シトリン血症の治療法の開発

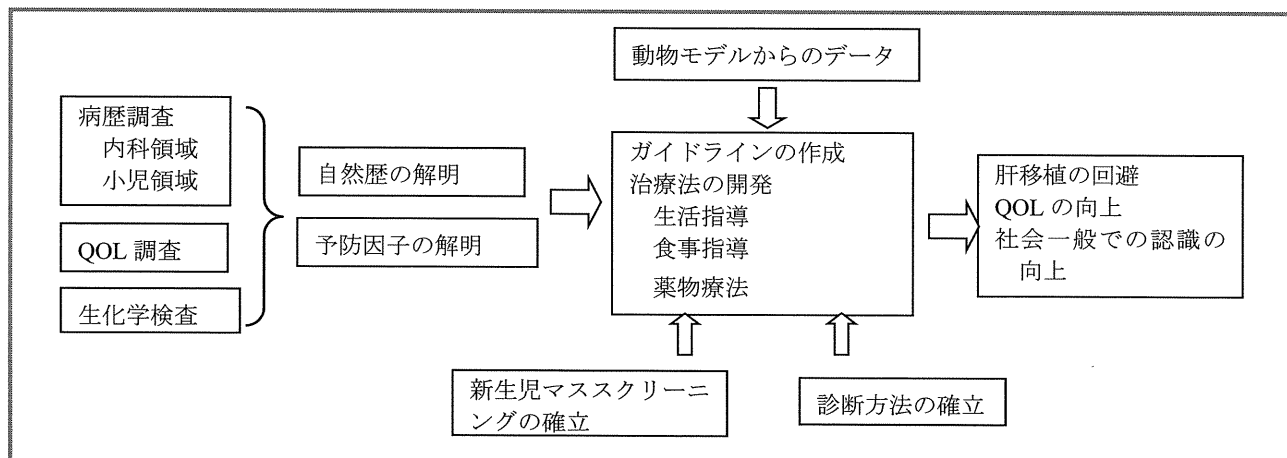
CTLN2 患者 31 名の臨床像と治療内容を検討し、ピルビン酸ナトリウムと食事療法の有効性について池田修一が検討した。

4. 代償期・無症状期シトリン欠損症患者の薬物療法（ピルビン酸ナトリウム）の効果

その効果判定に、当研究で明らかにした酸化ストレスマーカー、アミノ酸、糖、脂質代謝を中心に測定し、その他に食事内容、身体的発育、PedsQL、を指標とした。岡野善行、塚原宏一、長坂博範（研究協力者、宝塚市立病院）が担当した。

5. 新生児マススクリーニング

タンデムマス法による新生児マススクリーニングでの有用性の検討を行った。遺伝子診断からの患者頻度 1/1.7 万人に比較して、その発見率は低く、偽陰性に対してマススクリーニング法の改善とその有効性を再検討する。重松陽介（福井大学）、稲岡一孝（大阪府立母子保健総合医療センター）、酒本和也（大阪市環境保健協会）の各研究協力者が担当した。



6. 迅速な診断方法の開発

シトリン欠損症はその症状の多様性からも確定診断には遺伝子診断を必要としている。迅速診断法の開発を行った。大浦敏博が担当した。

7. 動物モデルによる治療法の開発

シトリン欠損症モデル Ctrn/mGPD double-KO マウスを用いて、食餌 (CE-2 と AIN-93M) による摂食量と体重の変化を観察した。さらに、ピルビン酸ナトリウム、アミノ酸、脂肪投与による効果を検討した。佐伯武頼 (研究分担者) が担当した。

8. シトリン欠損症の遺伝カウンセリング

遺伝カウンセリングはクライアントに、疾患に関するその個人が必要とする情報を提供し、正しい理解をはかることを通じてその個人の将来をサポートすることを目的とする。研究分担者は、治療法が確定していない多数の疾患に対する遺伝カウンセリングを経験し、その不安は、1) 疾患の症状や予後はどうか、2) 自分が発症するのか、3) 自分の子供や家族が患者となるのかどうか、という点に集約されるため、それを起点に検討した。玉置知子、(兵庫医科大学) が担当。

(倫理面への配慮)

シトリン欠損症の DNA 診断については、各遺伝子診断機関である大阪市立大学、信州大学、東北大学の倫理委員会の承認後、患者および代諾者へのインフォームド・コンセントでの同意の後、解析を行っている。疫学研究については、国立成育医療センター委託研究「先天代謝異常症の診断ネットワークを介した長期予後追跡システムの構築」および、鹿児島大学、大阪市立大学で、倫理委員会の承認を得ている。薬物療法であるピルビン酸ナトリウムの投与については、大阪市立大学、信州大学、東北大学、筑波大学、済生会横浜東部病院、京都赤十字病院、九州大学の各実施施設で倫理委員会の承認を得ている。対象者に対する人権擁護へ十分な配慮とインフォームド・コンセントにもとづく

同意を得ている。大阪市立大学では、この一連の統括的な研究計画に応じた臨床研究に関して倫理委員会にて承認されている (承認番号 1698)。

遺伝子改変動物については鹿児島大学、徳島文理大学、熊本大学にて、組換え DNA 実験委員会の承認を得ている。動物愛護の精神に則り、必要最小限の数をを用い、実験に際しては最小限の苦痛しか与えないよう配慮する。

C. 研究結果

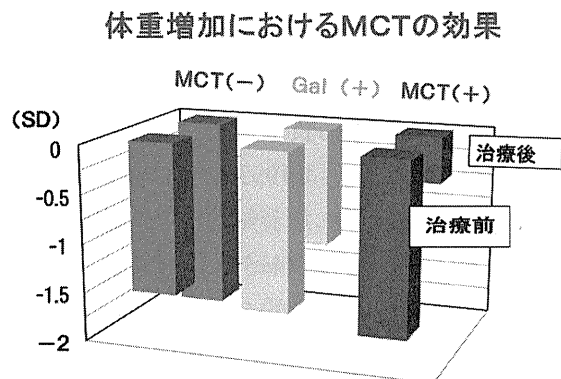
1. 新生児胆汁うっ滞症の治療法の検討

小児領域では 110 例の患者登録を行っている。その調査票の中から、0-2 才まで臨床経過と治療について検討した。対象患者を治療群別に通常ミルク群、MCT ミルク使用群、ガラクトース除去ミルク使用群 (MCT 使用はない) に分けた。治療の有効性は体重改善度、血中総胆汁酸、直接ビリルビンを指標として判定した。MCT ミルク使用群では他の群に比較して、体重増加の改善、胆汁うっ滞の改善が認められた。シトリン欠損症の多くは生後 6 カ月までに自然軽快する。しかしながら、中には生体肝移植の必要とした重篤例も存在し、MCT ミルクによる積極的な治療が有効であった。

2. 代償期・無症状期の治療

(1) PedsQL 疲労感尺度について

53 名のシトリン欠損症患者とその保護者 51 名から回答を得た。シトリン欠損症患者の倦怠感、健康な子どもに比して強く、その QOL



は低いことが明らかになった。倦怠感と一般 QOL の間に、強い相関が示され、倦怠感による QOL の低下は明らかであった。さらに、シトリン欠損症患者と保護者間における倦怠感および一般 QOL の評価に差が認められた。保護者は患者自身よりも、倦怠感を低く、すなわち、QOL を高く評定し、患者自身よりも患者の健康状態を良好であると捉えていた。

(2) ピルビン酸ナトリウムの投与

幼児から青年期のシトリン欠損症患者を対象として、ピルビン酸ナトリウムの治療効果について検討した。現在のところプレリミナリーな結果では、1) 食癖異常の著明な改善はないが、穀物を摂取できるようになった。2) 乳酸ピルビン酸比の改善、酸化ストレスマーカーの改善が認められた。また、これまで体重減少など著明な症状を示していた患者では、より明確な改善、体重増加の回復と日常生活の QOL の改善が認められた。

3. 成人発症 II 型シトルリン血症患者の治療

本症患者 31 名（男性 19 名；女性 12 名）の脳症初発年齢は平均 38.5 ± 15 歳（12–73 歳）であり、その程度は肝性昏睡度 I–V 度と様々であった。治療に関しては、15 名で生体肝移植を施行し、2 名で、国内で脳死体肝移植を施行した。内科的治療としては、低炭水化物食による食事療法（食事中の炭水化物熱量を 45%–40%）、アルギニン製剤（3–12g/日）、4 年前からピルビン酸ナトリウム（3–15g/日）を導入した。ピルビン酸ナトリウムを導入した 10 名の患者では（脳死体肝移植を施行した 2 名を除いて）、脳症の発作頻度も激減して、経過良好である。

成人患者（39–52 歳の男性 5 名）での栄養特性では、平均蛋白質、脂質、炭水化物のエネルギー比（PFC 比）は $19 \pm 3\%:44 \pm 5\%:37 \pm 4\%$ であった。以前報告された若年層（1–33 歳）のシトリン欠損症患者（ $19 \pm 2\%:44 \pm 5\%:37 \pm 7\%$ ）とほぼ一致していた。また、一般的な日本人では脂質摂取量は加齢とともに低下するが、この傾向は CTLN2 患者には見られなかった。

4. 新生児マススクリーニング

タンデムマス法による新生児マススクリーニング(NMS)を大阪府では 2008 年から、大阪市では 2009 年から同意の得られた全新生児に対して開始された。大阪地区でのシトリン欠損症の頻度は 1/35,000 人であった。また、この大阪地区から NMS が正常であるにもかかわらず、1 例のシトリン欠損症患者が発見されている。全国調査によるシトリン欠損症の発見率は 12/91 万人と、遺伝子診断からの患者頻度 1/1.7 万人に比較して非常に少ない。しかしながら、大阪地区ではシトリン欠損症患者の 1/2 を NMS で発見し、NICCD や CTLN2 発症を予防、治療できる可能性が示唆された。（研究協力者 重松陽介、稲岡一孝、酒本和也）

5. シトリン欠損症の迅速診断

PCR 産物にハイブリダイズしたプローブの融解温度曲線分析により変異を検出した。日本人で頻度の高い 11 種類の変異（95%の患者対立遺伝子）はすべて検出可能で、偽陽性を認めなかった。より迅速な診断が可能となり、間違った食事を避け、禁忌となる薬剤の投与を防ぐことが出来る。

6. シトリン欠損症モデル (Citrin/mGPDH double KO) マウスを用いた病態解析と新規治療法の開発。

固形食 CE-2 から成熟げっ歯類には充分とされる合成飼料 AIN-94M への食餌の変化はモデルマウスの摂食量減少と体重減少をもたらすことを明らかにした。AIN-93M の蛋白量が少ないので、AIN-93M にカゼインを添加すると摂食量の増加と体重の増加をもたらすことを明らかにした。さらに同様の効果は、Na-Pyr や新たに見出した有効物質であるアミノ酸 (Ala と Glu) ならびに中鎖トリグリセリド (MCT) の添加でも見出された。しかしながら、それらの効果が異なることを肝アミノ酸の変化から検討している。

7. シトリン欠損症の遺伝カウンセリング

シトリン欠損症は、常染色体劣性遺伝性(AR)疾患であり、その診断には遺伝子解析が不可欠である。しかしながら、AR 疾患と異なり、1) 同じ遺伝子変異であっても症状が大きく異なる場合があること。2) 乳幼児 (NICCD) と成人 (CTLN2)では全く異なる病型を示し、その間には無症状期があること。3) NICCD もしくは CTLN2 の一方しか発症しない場合もあること。4) 保因者確率が 1/60 程度と高頻度であるにも関わらず、実際の発症率は低いこと。5) 自然歴が予測困難であること。以上がこの疾患の特徴であり、遺伝カウンセリングを困難なものとしている。

したがって、本疾患の頻度が本邦ではきわめて高く、自然歴がきわめて多様であることを、遺伝カウンセリング担当医に情報提供することを目的とし、遺伝情報を的確に提供できるツールの整備を行った。1) 本症の基本的知識を的確に知るため、GeneReviews の和訳 (Kobayashi, K and Saheki T 著)、2) up-to-date 情報を知る目的で、「The AASPP-international Symposium on Citrin Deficiency in Matsumoto (2011.10)」を DVD に記録した。

D. 考察

シトリン欠損症：成人発症 II 型シトルリン血症 (CTLN2) はわが国でその原因遺伝子が発見され、そして、本疾患の頻度は日本で 1/17,000、中国南部で 1/6,400 と東アジアを中心に高い頻度を示し、北米、欧州では低頻度の疾患である。以上のように、本疾患の解明にはわが国での研究開発が重要なポイントとなっており、国際的にもその病態解明と治療法の開発が待たれている。

シトリン欠損症では、年齢によって生化学検査所見・症状が大きく変化するため、診断は容易ではない。大部分の NICCD 症例は生後 6 ヶ月～1 歳までに検査所見の正常化と胆汁うつ滞

などの症状は消失する。しかしながら、中には肝移植を必要とする重篤な症例も存在する (4 例/253 例 : 1.6 %)。NICCD 患者の後ろ向き病歴調査結果から、新生児・乳児期の MCT ミルクは有効であり、早期の胆汁うつ滞の改善と栄養代謝の改善をもたらしていた。

幼児から青年期では、適応・代償期としてその症状は非常に個人差が大きく、一見無症状から発育不良、精神神経症状まで様々な病像を示す。そして、成人に達すると疾患遺伝子をホモで持つ患者の約 20%において CTLN2 を発症する。以上のような症状の多様性と年齢的变化のために、シトリン欠損症の確定診断として、SLC25A13 遺伝子に異常を見いだす遺伝子診断は不可欠な状況である。本研究では、わが国の 95%のシトリン遺伝子の同定を可能とする迅速遺伝子診断法を開発した。

成人の CTLN2 発症患者に対する研究成果として、ピルビン酸ナトリウムと高蛋白高脂肪低炭水化物食療法は CTLN2 の進行を抑制し、肝移植を回避できる可能性を示唆していた。しかしながら、その併用療法の限界性をも示唆する症例も報告され、その効果の差異に対する検討が必要である。

適応・代償期においても、本疾患の病態であるエネルギー産生障害、糖新生障害からの、易疲労性、低血糖、成長障害を示す患者は少なくない。アミノ酸、糖質、脂質、そして、酸化ストレスの検査マーカーの探索では、シトルリン高値、ミトコンドリア機能異常、酸化ストレスの増加、高コレステロール血症が明らかであった。たとえ無症状であっても、生体代謝環境は正常コントロールと明らかに異なる結果となっている。また、患者および保護者の QOL 調査では、対照コントロールと比較して明らかに一般尺度および特に疲労尺度評価は低下しており、QOL の低下が示唆された。一見明らかな症状のない状況であっても、代謝機能の異常は QOL に大きな影響を与えていた。そして、これらの代償期患者へのピルビン酸ナトリウムの投与は酸化ストレスを低下させるという結果

が得られている。

シトリン欠損症を対象疾患としたタンデムマス法による新生児マススクリーニングの有効性とその限界は今回の調査ではいまだ不確かである。そのため、NICCD 未発症のシトリン欠損症患者が発見できる新たなスクリーニング法の開発について検討する必要がある。

シトリン欠損症モデルマウスの開発とその研究は学童期のシトリン欠損症患者の「痩せ(成長障害)」の原因の一面が明らかにした。すなわち高糖質食 (AIN-93M) は疾患モデルマウスの食欲の減退を引き起こし、摂食量減少から体重減少を引き起こした。しかし、この摂食量の減少はたんぱく質、その成分のアミノ酸、さらにはピルビン酸ナトリウムや MCT オイルによって矯正できた。この結果はピルビン酸ナトリウムの有効性を示すとともに、新たな食事療法の開発を示唆する結果となっている。

本疾患の頻度が本邦ではきわめて高く、自然歴がきわめて多様であることから、遺伝カウンセリング担当医に確実に本疾患の情報提供を行うことは不可欠である。よって、遺伝情報を的確に提供できるツールの整備を目指し下記を行った。1) 本症の基本的知識のため、GeneReviews のシトリン欠損症の項目 (Kobayashi, K and Saheki T 著) の和訳、2) up-to-date 情報として、「The AASPP international Symposium on Citrin Deficiency in Matsumoto, Oct 2011」の DVD 記録とそのキーワード検索を作成した。また、患者家族、学校現場への教育パンフレットとガイダンスを患者団体と共同で作成した。社会での本疾患の認識と理解を深め、患者の QOL の改善に役立てられる。

E. 結論

本研究の結果、1) 新生児マススクリーニングで早期発見と早期治療を行える可能性がある。2) 新生児乳児期の肝内胆汁うつ滞症 (NICCD)、幼児青年期の適応・代償期、成人期の成人発症 II 型シトルリン血症(CTLN2)の各ステージにお

ける自然歴が明らかとなってきた。3) 食事療法と薬物療法による治療が CTLN2 の発症予防と QOL の改善が可能である。4) モデルマウスを用いた研究で新たな治療法の開発が見込まれている。これらの研究成果は、患者とその保護者に対して、学校生活、社会生活上での QOL の向上に貢献し、そして、社会全体でその認識と理解を深め、国民の保健・医療・福祉の向上に貢献できる可能性を十分に示している。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. [Kobayashi K](#), [Okano Y](#), Hohashi N. Reliability and validity of the PedsQL™ Multidimensional Fatigue Scale in Japan. *Qual Life Res.* 2011; 20:1091-1102.
2. [Saheki T](#), Inoue K, Ono H, Tushima A, Katsura N, Yokogawa M, Yoshidumi Y, Kuhara T, Ohse M, Eto K, Kadowaki T, Sinasac DS, [Kobayashi K](#). Metabolomic analysis reveals hepatic metabolite perturbations in citrin/mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase double-knockout mice, a model of human citrin deficiency. *Mol Genet Metab.* 2011;104:492-500.
3. Pardo B, Rodrigues TB, Contreras L, Garzón M, Llorente-Folch I, [Kobayashi K](#), [Saheki T](#), Cerdan S, Satrustegui J. Brain glutamine synthesis requires neuronal-born aspartate as amino donor for glial glutamate formation. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2011 ;31:90-101.
4. Nakamura M, Yazaki M, Kobayashi Y, Fukushima K, Ikeda S, Kobayashi K, [Saheki T](#), Nakaya Y. The characteristics of food intake in patients with type II citrullinemia. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2011;57:239-245.
5. Ramos M, Pardo B, Llorente-Folch I, [Saheki T](#), Del Arco A, Satrustegui J. Deficiency of the mitochondrial transporter of aspartate/glutamate aralar/AGC1 causes hypomyelination and

- neuronal defects unrelated to myelin deficits in mouse brain. *J Neurosci Res*. 2011;89:2008-20017.
6. Song YZ, Deng M, Chen FP, Wen F, Guo L, Cao SL, Gong J, Xu H, Jiang GY, Zhong L, Kobayashi K, Saheki T, Wang ZN. Genotypic and phenotypic features of citrin deficiency: five-year experience in a Chinese pediatric center. *Int J Mol Med*. 2011 ;28:33-40.
 7. Ushikai M, Horiuchi M, Kobayashi K, Matuda S, Inui A, Takeuchi T, Saheki T. Induction of PDK4 in the heart muscle of JVS mice, an animal model of systemic carnitine deficiency, does not appear to reduce glucose utilization by the heart. *Mol Genet Metab*. 2011;102:349-355.
 8. Fu HY, Zhang SR, Wang XH, Saheki T, Kobayashi K, Wang JS. The mutation spectrum of the SLC25A13 gene in Chinese infants with intrahepatic cholestasis and aminoacidemia. *J Gastroenterol*. 2011;46:510-518.
 9. Hutchin T, Preece MA, Hendriksz C, Chakrapani A, McClelland V, Okumura F, Song YZ, Iijima M, Kobayashi K, Saheki T, McKiernan P, Baumann U . Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD) as a cause of liver disease in infants in the UK. *J Inherit Metab Dis*. 2011 (in press)
 10. Contreras L, Urbieta A, Kobayashi K, Saheki T, Satrústegui J. Low levels of citrin (SLC25A13) expression in adult mouse brain restricted to neuronal clusters. *J Neurosci Res*. 2010; 88: 1009-1016.
 11. Kikuchi A, Arai-Ichinoi N, Sakamoto O, Matsubara Y, Saheki T, Kobayashi K, Ohura T, Kure S. Simple and rapid genetic testing for citrin deficiency by screening 11 prevalent mutations in SLC25A13. *Mol Genet Metab*. 2012 (in press)
10. 矢崎正英、池田修一、小林圭子、佐伯武頼. 成人型シトルリン血症の治療—低炭水化物食と経口ピルビン酸投与の有効性 *臨床神経学* 2010;50:844-847
 11. 大浦敏博、呉繁夫、菊地敦生、坂本修、重松陽介、岡野善行、小林圭子、佐伯武頼. シトルリン欠損症マス・スクリーニングの可能性. *日本先天代謝異常学会雑誌* 2011;27:42-45.
2. 学会発表
 1. 矢崎正英、池田修一、成人型シトルリン血症患者におけるピルビン酸ナトリウムの有効性. *日本神経学会*. 2011.5.20 (名古屋)
 2. 佐伯武頼、井上可奈子、小野裕実、小林圭子 モデルマウスを用いたシトルリン欠損症の肝代謝病態とピルビン酸ナトリウムの治療効果. *日本実験動物学*. 2011.5.27 (東京)
 3. 佐伯武頼、小林圭子 ワークショップ「代謝・酸化ストレスの場としての肝臓」成人発症 II 型シトルリン血症 (CTLN2) における糖質等発症誘発因子の作用機構—モデルマウスの解析から. *日本肝臓学会* 2011.6.2. (福岡)
 4. Saheki T, Kobayashi K: Pathophysiology of Citrin, a liver-type mitochondrial aspartate glutamate carrier, deficiency and development of therapeutics-Analysis using a mouse model 12th International Congress on Amino Acids, Peptides and Proteins. 2011.8.1-5 (Beijing)
 5. 岡野善行、武田泰輔、重松陽介、但馬剛、依藤亨、小林圭子. タンデムマス法で発見、診断された疾患の問題点と遺伝子診断の有用性. 第 114 回日本小児科学会学術集会 2011.8.12-14 (東京)
 6. 大浦敏博 タンデムマス対象疾患と陽性者への対応. 分野別シンポジウム タンデムマスを導入した新しい新生児スクリーニング. 第 114 回日本小児科学会学術集会 2011.8.12-14 (東京)
 7. Okano Y, Citrin deficiency working group. Sodium-Pyruvate therapy for citrin-deficient

- patients in the adaptation period. International Symposium on Citrin Deficiency 2011. 10. 6-7 (Matsumoto)
8. Takeda T, Okano Y, Citrin deficiency working group. Efficacy of MCT-milk in NICCD. International Symposium on Citrin Deficiency 2011. 10. 6-7 (Matsumoto)
 9. Kobayashi K, Okano Y, Ihara K, Ito T, Yoshino M, Watanabe J, Kaji J, Ohura T, Nagao M, Noguchi A, Mushiaki S, Hohashi N, Fatigue and quality of life in patients with citrin deficiency during adaptation and compensation stage. International Symposium on Citrin Deficiency 2011. 10. 6-7 (Matsumoto)
 10. Nagasaka H, Okano Y, Tsukahara H, Shigematsu Y, Momoi T, Yorifuji J, Miida T, Ohura T, Kobayashi K, Saheki T, Hirano K, Takayanagi M, Yorifuji T. Sustaining hypercitrullinemia, hyper-cholesterolemia and augmented oxidative stress in Japanese children with aspartate /glutamate carrier isoform 2-citrin- deficiency even during the silent period. International Symposium on Citrin Deficiency 2011. 10. 6-7 (Matsumoto)
 11. Saheki T. Overview of Citrin Deficiency: Pathophysiology and therapy for citrin deficiency based on the mouse model analysis. International Symposium on Citrin Deficiency 2011. 10. 6-7 (Matsumoto)
 12. Moriyama M, Ushikae M, Kuroda E, Takano K, Nakamura Y, Kobayashi K, Saheki T. Analysis of hepatic metabolism in CTLN2 model mouse by using perfusion system. International Symposium on Citrin Deficiency 2011. 10. 6-7 (Matsumoto)
 13. Kure S, Kikuchi A, Arai-Ichinoi N, Sakamoto O, Matsubara Y, Ohura T. A simple and rapid genetic test for Citrin deficiency. International Symposium on Citrin Deficiency 2011. 10. 6-7 (Matsumoto)
 14. Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, Abukawa D, Sakamoto O, Saheki T. Clinical presentations of patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD) in Japan. International Symposium on Citrin Deficiency 2011. 10. 6-7 (Matsumoto)
 15. Ikeda S-I, Yazaki M. A rare manifestation of the patients with citrin deficiency: chronic pancreatitis and hepatic cancer. . International Symposium on Citrin Deficiency 2011. 10. 6-7 (Matsumoto)
 16. Miyagawa S-I, Ikegami T, Ikeda S-I. Liver Transplantation for Citrullinemia Type II Patients- Shinshu University Experience. International Symposium on Citrin Deficiency 2011. 10. 6-7 (Matsumoto)
 17. Yazaki M, Fukushima K, Komatsu M, Ikeda S-I, Saheki T. Therapeutic approaches for patients with adult onset type II citrullinemia (CTLN2) – low carbohydrate diet and oral administration of sodium pyruvate. International Symposium on Citrin Deficiency 2011. 10. 6-7 (Matsumoto)
 18. Zhao X-J, Deng M, Yang Z-G, Song Y-Z, Saheki T. Variomics investigation of Citrin Deficiency: Six-year experience in a Chinese Pediatric Center. International Symposium on Citrin Deficiency 2011. 10. 6-7 (Matsumoto)
 19. 佐伯武頼. シンポジウム 1 4 「代謝性・遺伝性肝疾患研究の進歩」成人発症 II 型シトルリン血症の治療法は他の高アンモニア血症治療とはまったく異なる。JDDW2011 (第 19 回日本 消化器関連疾患週間) 201.10.20-23
 20. 岡野善行、武田泰輔、重松陽介、但馬剛、依藤亨、小林圭子 タンデムマス法で発見、診断された疾患の問題点と遺伝子診断の有用性. 日本マススクリーニング学会 2011.10.28-29 (福井)
 21. 佐伯武頼、井上可奈子、小野裕美. シトルリン欠損症の研究 (1) モデルマウス肝病態のメタボローム解析. 第 53 回日本先天代謝異常学会 2011.11.24-26
 22. 佐伯武頼、井上可奈子、小野裕美、桂菜摘、横川茉菜、吉積由香里. シトルリン欠損症の研究 (2) マウスモデルを用いる治療法の開発.

第 53 回日本先天代謝異常学会 2011.11.24-26
(千葉)

23. 菊池敦生、市野井那津子、坂本修、大浦敏博、
佐伯武頼、小林圭子、松原洋一、呉繁夫. シ
トリン欠損症の簡便・迅速な遺伝子診断法の
確立—感度のさらなる改善と2年間の運用実
績について—. 第53回日本先天代謝異常学会
2011.11.24-26 (千葉)
24. 小林京子、岡野善行、井原健二、伊藤哲也、
芳野信、渡辺順子、梶俊策、大浦敏博、長尾
雅悦、野口篤子、虫明聡太郎、法橋尚宏. シ
トリン欠損症患者の倦怠感とQOLの実態と
関連に関する研究. 第53回日本先天代謝異常
学会 2011.11.24-26 (千葉)

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

シトルリン欠損症

1. 概要

シトルリンはミトコンドリア内膜に局在する肝型アスパラギン酸・グルタミン酸膜輸送体で、その欠損は細胞質へのアスパラギン酸供給障害やミトコンドリアへの NADH の供給障害、糖新生障害を引き起こす。その欠損症は新生児・乳児期では肝内胆汁うつ滞症、高シトルリン血症、幼児・青年期では無症状ながら食癖異常など、成人期では高アンモニア高シトルリン血症、精神症状、肝不全などの成人発症 II 型シトルリン血症 (CTLN2) を発症する。年齢依存性に、また、各個人で多彩多様な症状を呈することを特徴としている。治療は確定したものはないが、各症状に対して対処療法を行い、最終的には肝移植を必要とする場合もある。最近、CTLN2 発症予防、治療としてピルビン酸ナトリウム投与、食事療法が考えられている。

2. 疫学

シトルリン欠損症は日本で 1/17,000、中国南部で 1/6,400 と東アジアを中心に高い頻度を示す。欧米白人種の頻度は明確ではないが、東アジアにと比較してかなり低いと考えられている。日本では 6,000 人前後の患者数が推定されている。

3. 原因

高アンモニア血症、高シトルリン血症、肝不全、精神症状を呈し、予後不良な疾患である成人発症 II 型シトルリン血症 (CTLN2) の原因遺伝子として SLC25A13 が同定された。その遺伝子産物であるシトルリンはミトコンドリア内膜に局在する肝型アスパラギン酸・グルタミン酸膜輸送体であり、その欠損により細胞質へのアスパラギン酸供給障害やミトコンドリアへの NADH の供給障害、糖新生障害を生じる。新生児・乳児期では胆汁うつ滞症、高シトルリン血症、幼児・青年期では原則無症状ながら食癖異常などを示し、成人期にはその代償機構の破綻により、約 20% の患者で CTLN2 を発症する。この CTLN2 を顕在化せしめる原因についてはいまだ明確ではなく、遺伝的要因とともに環境的要因の関与が推定されている。

4. 症状

シトルリン欠損症は新生児から老年までの幅広い年齢にわたり、また、それぞれの患者で異なる症状を呈する。

- 1) 新生児・乳児期：子宮内発育不全、高シトルリン血症、ガラクトース血症、肝内胆汁うつ滞症、黄疸、発育不全、低血糖症、ビタミン K 欠乏性凝固異常を呈するが生後 6~12 ヶ月で自然軽快する。
- 2) 幼児から青年期：食癖異常（高脂肪高蛋白低糖質、頻回摂取）、成長障害（体重増加不良）、易疲労感、低血糖症、肝機能異常。
- 3) 成人期：成人発症 II 型シトルリン血症—高アンモニア血症、高シトルリン血症、高アルギニン血症、肝不全、けいれん、精神症状（見当識障害、異常行動など）。

5. 合併症

- 1) 新生児・乳児期：凝固障害による脳内出血、ガラクトース血症による白内障。
- 2) 学童から成人期：胃腸の不快感、高脂血症、脂肪肝、肝癌、膵炎。

6. 治療法

現在確立したものはない。

- 1) 新生児・乳児期：胆汁うつ滞に対する治療（利胆剤、脂溶性ビタミン剤、MCT ミルク）、ガラクトース除去ミルク。肝不全をきたし、肝移植を必要とする症例もある。
- 2) 食事療法（高脂肪・高蛋白・低炭水化物食）。
- 3) 成人期（成人発症 II 型シトルリン欠損症）：高アンモニア血症に対する対処療法（血液透析、血漿交換療法、フェニル酪酸、安息香酸ナトリウム、アルギニンの投与）、食事療法、ピルビン酸ナトリウムの投与、肝移植。

7. 研究班

シトルリン欠損症の実態調査と診断方法および治療法の開発研究班

シトリン欠損症の実態調査と診断方法および治療法の開発研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	岡野 善行	大阪市立大学医学部小児科	講師
研究分担者	佐伯 武頼	熊本大学生命資源研究・支援センター疾患モデル分野	特任教授
	浅川 明弘	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科心身内科学分野	准教授
	池田 修一	信州大学医学部医学科神経内科学	教授
	大浦 敏博	東北大学医学部小児科	臨床教授
	玉置(橋本) 知子	兵庫医科大学遺伝学・臨床遺伝部	教授
	塚原 宏一	岡山大学医学部小児科	准教授
研究協力者	窪田 満	手稲溪仁会病院	主任医長
	長尾 雅悦	独立行政法人国立病院機構西札幌病院	部長
	野口 篤子	秋田大学医学部小児科	助教
	堀川 玲子	国立成育医療センター	医長
	大竹 明	埼玉医科大学小児科	教授
	藤沢 知雄	済生会横浜東部病院子供センター	部長
	乾 あやの	済生会横浜東部病院子供センター	副部長
	高柳 正樹	千葉県こども病院	医療局長
	長坂 博範	宝塚市立病院	部長
	重松 陽介	福井大学医学部看護学科	教授
	伊藤 哲哉	名古屋市立大学	准教授
	井原 健二	九州大学医学部小児科	講師
	木崎 善郎	京都第一赤十字病院	部長
	依田 忍	大阪府立母子保健総合医療センター	科長
	虫明 聡太郎	摂南総合病院小児科	部長
	梶 俊策	津山中央病院	部長
	玉森 晶子	長吉総合病院小児科	医長
	小林 京子	東京大学大学院医学系研究科 健康科学・看護学専攻	大学院
	芳野 信	久留米大学医学部小児科	教授
	渡辺 順子	久留米大学医学部小児科	講師
	稲岡 一考	大阪府立母子保健総合医療センター	検査室長
	酒本 和也	大阪市環境保健協会	検査室主査
	森山 光章	大阪府立大学大学院	准教授
矢崎 正英	信州大学医学部医学科神経内科学	講師	
事務局	岡野 善行	大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学 〒545-8585 大阪府大阪市阿倍野区旭町1-4-3 T E L 06-6645-3816 F A X 06-6636-8737 e-mail okano@med.osaka-cu.ac.jp	
経理事務担当者	坂口 知子	同上 T E L 06-6645-3816 F A X 06-6636-8737 e-mail saka-tomo@med.osaka-cu.ac.jp	

The AASPP-International Symposium on Citrin Deficiency in Matsumoto

October 6 -7 , 2011

Venue: Hotel Buena Vista, Matsumoto, Japan

Local Organizing Committee

Chairman of the symposium

Shu-ichi Ikeda (Shinshu University, Matsumoto Japan.)

Takeyori Saheki (Kumamoto University, Kumamoto Japan)

Yoshiyuki Okano (Osaka City University, Osaka Japan)

Toshihiro Ohura (Sendai City Hospital, Sendai Japan.)

Scientific Secretary

Masahide Yazaki

Department of Medicine (Neurology and Rheumatology)

Shinshu University School of Medicine

3-1-1 Asahi, Matsumoto 390-8621, Japan.

Tel: +81-263-37-2673 Fax:+81-263-37-3427

E-mail: mayazaki@shinshu-u.ac.jp

TIME SCHEDULE

October 6 (The First day)		October 7 (The Second day)	
8:50	Opening Remarks (Shu-ichi Ikeda)	8:30	Global distribution in citrin deficiency (I) (Chunhua Zhang and Hock Lock Ngu) Jian-She Wang (China) Yuan-Zong Song (China) Beom Hee Lee (Korea)
9:00	Pathophysiology of citrin deficiency (Shu-ichi Ikeda and Takeyori Saheki) Takeyori Saheki (Japan) Akio Inui (Japan) Hironori Nagasaka (Japan) Laran T. Jensen (Thailand)	9:30	Coffee Break
10:30	Coffee Break	9:50	Global distribution in citrin deficiency (II) (Kiyoshi Hayasaka and Beom Hee Lee) Hock Lock Ngu (Malaysia) Duangrurdee Wattanasirichaigoon and Suporn Treepongkaruna (Thailand) David Dimmock (USA)
10:50	Animal and Cell Model of citrin deficiency (Akio Inui and Duangrurdee Wattanasirichaigoon) Mitsuaki Moriyama (Japan) Parith Wongkittichote (Thailand)	11:00	Reminiscence of Prof. Keiko Kobayashi – Discovery of citrin deficiency (Takeyori Saheki)
11:30	Improvement of diagnostic techniques (Jian-She Wang and Yuan-Zong Song) Shigeo Kure (Japan) Chunhua Zhang (Japan) Mei Deng (China)	11:15	Closing Remarks (Shu-ichi Ikeda)
12:30	Lunch (MEDIANO, 2F)	12:00	Excursion (Bus tour to Kamikochi)
13:30	Clinical characteristics in citrin deficiency (Shigeo Kure and Kendo Kiyosawa) Toshihiro Ohura (Japan) Kyoko Kobayashi (Japan) Michiharu Komatsu (Japan) Xiang-Ran Cai (China) Shu-ichi Ikeda (Japan)		
15:10	Coffee Break and Poster discussion		
15:40	Therapeutic approaches for citrin-deficient patients (I) (Yoshimitsu Fukushima and David Dimmock) Taisuke Takeda (Japan) Kiyoshi Hayasaka (Japan)		
16:20	Therapeutic approaches for citrin-deficient patients (II) (Toshihiro Ohura and Yoshiyuki Okano) Shin-ichi Miyagawa (Japan) Yoshiyuki Okano (Japan) Masahide Yazaki (Japan)		
19:00	Congress Dinner (Hotel BuenaVista, GRANDE 3F)	19:00	Farewell Dinner (The Bright Garden Reception House)

October 6, 2011

Opening Remarks (8:50)

Shu-ichi Ikeda (Shinshu University, Japan)

Pathophysiology of citrin deficiency (*Shu-ichi Ikeda, Shinshu University, Japan and Takeyori Saheki, Kumamoto University, Japan*)

9:00 Plenary Lecture

Overview of citrin deficiency: Pathophysiology and therapy for citrin deficiency based on the mouse model analysis

Takeyori Saheki (Kumamoto University, Japan)

9:30 O-1: Food intake control in Anorexia-Cachexia syndrome

Akio Inui (Kagoshima University, Japan)

9:50 O-2: Sustaining hypercitrullinemia, hypercholesterolemia and augmented oxidative stress in Japanese children with aspartate/glutamate carrier isoform 2-citrin- deficiency even during the silent period

Hironori Nagasaka (Chiba Children's Hospital, Japan)

10:10 O-3: Genetic suppressors in citrin deficiency

Laran T. Jensen (Mahidol University, Thailand)

10:30 Coffee Break

Animal and Cell Model of citrin deficiency (*Akio Inui, Kagoshima University, Japan and Duangrurdee Wattanasirichaigoon, Mahidol University, Thailand*)

10:50 O-4: Analysis of hepatic metabolism in CTLN2 model mouse by using perfusion system

Mitsuaki Moriyama (Osaka Prefecture University, Japan)

11:10 O-5: Functional analysis of citrin mutations using a yeast model system

Parith Wongkittichote (Mahidol University, Thailand)

Improvement of diagnostic techniques (*Jian-She Wang, Fudan University, China, Yuan-Zong Song, Jinan University, China*)

11:30 O-6: **A simple and rapid genetic test for citrin deficiency**
Shigeo Kure (Tohoku University, Japan)

11:50 O-7: **Screening of citrin-deficient patients with Mass spectrometry**
Chunhua Zhang (MILS International, Japan)

12:10 O-8: **Identification of novel SLC25A13 variation/mutations in patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency**
Mei Deng (Jinan University, China)

12:30 **Lunch (Hotel Buena Vista, MEDIANO, 2F)**

Clinical characteristics in citrin deficiency (*Shigeo Kure, Tohoku University, Japan and Kendo Kiyosawa, Nagano Red Cross Hospital, Japan*)

13:30 O-9: **Clinical presentations of patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by Citrin deficiency (NICCD) in Japan**
Toshihiro Ohura (Tohoku University, Japan)

13:50 O-10: **Fatigue and quality of life in patients with citrin deficiency during adaptation and compensation stage**
Kyoko Kobayashi (Tokyo University, Japan)

14:10 O-11: **Nonalcoholic fatty liver disease in citrin deficiency**
Michiharu Komatsu, Eiji Tanaka (Shinshu University, Japan)

14:30 O-12: **Hepatic imaging features of neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: Investigation of 18 patients diagnosed by SLC25A13 gene analysis**
Xiang-Ran Cai (Jinan University, China)

14:50 O-13: **A rare manifestation of the patients with citrin deficiency: chronic pancreatitis and hepatic cancer**

Shu-ichi Ikeda (Shinshu University, Japan)

15:10 Coffee Break and poster discussion

Therapeutic approaches for citrin-deficient patients (I) (*Yoshimitsu Fukushima, Shinshu University, Japan and David Dimmock, Medical College of Wisconsin, USA*)

15:40 O-14: **Efficacy of MCT-milk in NICCD**

Taisuke Takeda (Osaka City University, Japan)

16:00 O-15: **A therapy with medium-chain triglyceride MCT-supplemented formula in citrin deficiency**

Kiyoshi Hayasaka (Yamagata University, Japan)

Therapeutic approaches for citrin-deficient patients (II) (*Toshihiro Ohura, Sendai City Hospital, Japan and Yoshiyuki Okano, Osaka City University, Japan*)

16:20 O-16: **Liver transplantation for citrullinemia type II patients - Shinshu University experience**

Shin-ichi Miyagawa (Shinshu University, Japan)

16:40 O-17: **Sodium-pyruvate therapy for citrin-deficient patients in the adaptation period**

Yoshiyuki Okano (Osaka City University, Japan)

17:00 O-18: **Therapeutic approaches for patients with adult onset type II citrullinemia (CTLN2) - low carbohydrate diet and oral administration of sodium pyruvate**

Masahide Yazaki (Shinshu University, Japan)

19:00- Congress Dinner (Hotel Buena Vista, GRANDE: 3F)

Global distribution in citrin deficiency (I) (*Chunhua Zhang, MILS International, Japan and Hock Lock Ngu, Kuala Lumpur Hospital, Malaysia*)

8:30 O-19: **Citrin deficiency: commonest cause of neonatal intrahepatic cholestasis in Chinese**

Jian-She Wang (Children Hospital of Fudan University, China)

8:50 O-20: **Clinical spectrum of citrin deficiency: experience on a Chinese cohort of seventy-six cases**

Yuan-Zong Song (Jinan University, China)

9:10 O-21: **Clinical and molecular genetic characteristics of Korean patients with citrin deficiency**

Beom Hee Lee (University of Ulsan College of Medicine, Korea)

9:30 **Coffee Break**

Global distribution in citrin deficiency (II) (*Kiyoshi Hayasaka, Yamagata University, Japan and Beom Hee Lee, University of Ulsan College of Medicine, Korea*)

9:50 O-22: **Diagnosis and follow-up of patients with citrin deficiency in Malaysia**

Hock Lock Ngu (Kuala Lumpur Hospital, Malaysia)

10:10 O-23,24: **Study of citrin deficiency in Thailand: an infantile period**

Duangrurdee Wattanasirichaigoon and Suporn Treepongkaruna
(Mahidol University, Thailand)

10:40 O-25: **Lessons from North American patients**

David Dimmock (Medical College of Wisconsin, USA)