

201128071A

厚生労働省科学研究費補助金

難治性疾患克服事業

ビオチン代謝異常症の鑑別診断法と治療方法の開発

平成23年度 総括研究報告書

研究代表者 鈴木洋一

平成24(2012)年3月

厚生労働省科学研究費補助金

難治性疾患克服事業

ビオチン代謝異常症の鑑別診断法と治療方法の開発

平成23年度 総括研究報告書

研究代表者 鈴木洋一

平成24(2012)年3月

目 次

I. 総括研究報告	
ビオチン代謝異常症の鑑別診断法と治療方法の開発-----	3
鈴木洋一	
(資料)	
II. 分担研究報告	
ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症における	
高頻度変異に対する迅速診断法の臨床応用-----	19
坂本 修	
(資料)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	25
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	29

I. 総活研究報告書

ビオチン代謝異常症の鑑別診断法と治療方法の開発

研究代表者 鈴木洋一 千葉大学大学院公衆衛生学 准教授

研究要旨

【背景】ビオチン代謝異常は先天性の酵素欠損症と栄養性ビオチン欠乏症の大きく2つの原因からなるが、それらの疾患の頻度と鑑別診断については、これまで十分検討されていなかった。また、ビオチン代謝異常症に関する情報がまとまっている日本語のウェブサイトはなかった。アレルギー疾患の治療中に発生する栄養性ビオチン欠乏症状を示す乳児が増えている。

【目的】本研究は先天性代謝異常症と栄養性ビオチン欠乏症の日本における頻度を明らかにすること、ビオチン代謝異常症に関する情報をウェブ上に公開すること、ビオチン代謝異常の鑑別診断法の開発、新規なビオチン代謝異常に関連する遺伝子を同定することを目的とする。

【方法】アンケート調査を行い、栄養性ビオチン欠乏症の頻度、ビオチニダーゼ欠損症、ホロカルボキラーゼ合成酵素欠損症の症例を経験したかどうかを尋ねた。先天性と栄養性の鑑別に遺伝子診断を用いた。エクソーム解析によって変異遺伝子未知の患者における遺伝子の同定を試みた。ビオチン代謝に関連する遺伝子を同定するため、一般集団における血清ビオチン値を規定する遺伝子多型のゲノムワイドに相関をスクリーニングした。ビオチン代謝異常に関する情報を整理した。

【結果】臨床的に問題となる栄養性ビオチン欠乏症は、過去10年間で、2.5%の病院で経験があり、少なくとも日本全体で70例以上発生していると推定された。先天性代謝異常症は、28年間で29例（HLCS欠損症27例）確定例が確認された。遺伝子診断は先天性と栄養性の鑑別に有用であった。ビオチン代謝異常症でホロカルボキラーゼ合成酵素とビオチニダーゼ遺伝子に異常が見られない症例のエクソーム解析では、多数の変異が見つかっており、原因遺伝子の特定には至っていない。小児の一般集団において、血清ビオチン値を規定する複数の遺伝子座位の存在が推定された。

研究分担者

坂本 修 東北大学大学院医学系研究科

小児病態学分野 講師

A 研究目的

- (1) ホロカルボキシラーゼ合成酵素(HLCS)欠損症とビオチニダーゼ(BTD)欠損症などの先天性ビオチン代謝異常症の発生頻度を明らかにする。
- (2) アレルギー治療用のペプチドミルク等の特殊ミルクによるビオチンの摂取不足によってビオチン欠乏症状(マルチプルカルボキシラーゼ欠損症:MCD)を起こす栄養性ビオチン欠乏症が日本でどの程度の頻度で起こっているのかを推定する。
- (3) MCDの症状を示しながら、HLCS、BTD遺伝子に異常が見つからないMCD症状を示す患者サンプルにおいて、新たな遺伝子異常の同定を試みる

- (4) ビオチン代謝異常症の原因となる可能性となる遺伝子の領域をスクリーニングするため、正常小児の血清ビオチン濃度を測定しゲノムワイドに遺伝子多型を調べ、血清ビオチンの量的形質遺伝子座の検出を試みる。
- (5) ビオチン代謝異常の臨床像、診断、原因、治療に関する情報のウェブサイトを開発、公開する。

B 研究方法

- (1) 倫理面への配慮
疫学調査では、病院の医師への質問用紙のみを用いたため、特に倫理面の問題はないと考えられた。小児一般集団の解析は、アレルギー、肥満に関連する研究について、千葉大学の生命倫理審査を受け承認されている。参加者全員からのインフォームドコンセントを得ており、本研究においては、アレルギー感作とビオチン代謝の関連を調べる過程で得られた情報を利用している。本集団では、アレルギー

一、肥満以外の研究へのコンセンも得ており、全て匿名化を行った上で解析を行っており、倫理的な問題は無いと思われる。

(2) アンケート調査

目的の(1)と(2)のため、全国の小児科のある病院を対象にアンケート調査を行った。厚生労働省難治性疾患克服研究事業の「特定疾患の疫学に関する研究班(主任研究者 永井正規)による「難病の患者数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル」の方法に準じて、小児科のある全国の病院 2946 病院を病院規模ごとに抽出率を変え、921 病院を選び、1 次調査をおこなった。

(3) 先天代謝異常症の発生状況

1982 年から 2011 年までの 29 年間の研究代表者が行ってきた、酵素診断と遺伝子診断の記録と、平成 21 年度に行われた、難治性疾患克服事業の「先天性ビオチン代謝異常における分子遺伝学的方法による病態解析および迅速診断法の開発」(研究代表者 坂本 修)の調査結果を統合し、これまでに確定している HLCS および BTD 欠損症の症例の発生状況を把握することとした。

(4) 遺伝子変異の検出

一次的な病因とみられる遺伝子異常が同定されていない 5 症例について、候補遺伝子として、ビオチン依存性大脳基底核症の遺伝子 SLC19A3 とファミリーの SLC16A1 の各遺伝子に変異が見つかるかをスクリーニングした。さらに、全エクソンのシークエンシングのため、Exon Capture を行った後に、イルミナの HiSeq2000 で 91bp 長、paired end でシークエンスを行った。その後リファレンス配列へのマッピングを行い、一塩基多型、挿入、欠失を検出した。全エクソンシークエンシングは東北大学遺伝病学分野の青木洋子准教授との共同でおこなった。

(5) 血清ビオチン濃度の決定遺伝子座

遺伝子解析のインフォームドコンセントを得てある千葉市内の小学 1 年生から 6 年生の 411 名のサンプルを用いた。血清ビオチン値は、Immunodiagnostik Assay (Streptavidin-biotin の結合を利用した ELISA system)を用いて測定した。全ゲノム SNP 解析は、Illumina 社の

HumanHap 660 Quad を利用して行った。

(6) ウェブサイトの構築

平成 22 年度は、改訂が容易なように、コンテンツマネジメントシステム(MODx)を利用してレンタルサーバー上に行うこととしたが、平成 24 年度は、研究期間が終わった後も維持するため、千葉大学のサーバーに移行、内容も改訂することにした。

(7) 統計解析法

連鎖不平衡(LD)の状況、タグ SNP による単一 SNP、ハプロタイプの相関解析は Haploview ver. 4.2 と SNPalyze V7.0 Pro を用いて行った。ゲノムワイドの SNP とビオチン濃度との関連解析には PLINK を用いた。その他の解析は IBM SPSS Statistics version 19 を用いた。

C 研究結果

(1) 栄養性ビオチン欠乏症

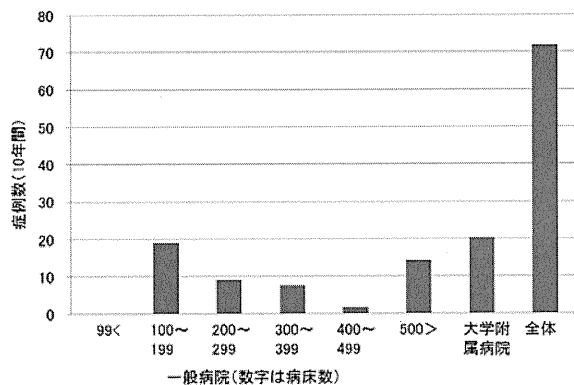
アンケート調査は、全国の小児科を持つ病院を対象として、行った。小児科を持つ病院を 2946 リストアップした。一般病院は、病床数によって、6 群に、大学の附属病院は別グループとし、7 群に分類した。大学病院、500 床以上の病院の方が、重症なアレルギー疾患患者を抱えている可能性が高いと考え、これらの病院は全てにアンケートを送付した。それ以外の病院については、小さい規模の病院ほど、低率の抽出率としてアンケートを送付することにした。

アンケートは 2010 年 11 月に 921 の病院の小児科宛に発送し、2011 年 4 月時点で、589 の病院からの回答を得た。回答率は 64%であった。10 の病院からは、小児科が閉鎖、担当者がいないとして返送されてきた。

調査では、まず近年、増加していると思われる。アレルギー疾患の治療に使われている、アミノ酸調節粉末(ペプチドミルク)の利用をすすめたり、使用した経験があるかどうかを先ず問うた(問 1)。その結果、200 床以下の病院では、約 35%にとどまっていたが、200 床以上の病院および大学病院では、60%を超えていた。病院数で補正して割合を平均すると、200 床以下の病院が多いため 49%という値になるが、500 症以上と大学病院に絞った場合は 69%となった。

次に、アミノ酸調節粉末による栄養によって、ビオチン欠乏症が起こることを知っているかどうか尋ねた。有効回答の583のうち、知っていると答えたのは、208病院、36%であった。病床の少ない病院より、多い病院、特に大学病院での認知度が高い傾向が見られた。問1と同様に抽出割合を勘案して、補正した割合は、25%であった。500床以上+大学病院に限ると49%で、全体の平均の倍の値となった。

図1 ペプチドミルク使用によるビオチン欠乏症の推定発症数



栄養性ビオチン欠乏症の症例の経験があるかどうかの質問では、400床以下の病院では、2%台以下であるが、500床以上の病院で約6%、大学病院では14%と高率であった。病院数の多い小規模病院を含めた全体の割合は、2.5%となった。経験があると答えた病院を1例と見なした、10年間の臨床的に気づかれた栄養性ビオチン欠乏症の発生頻度を厚生労働省研究班の方法に基づいて計算すると、70例という値が得られた(図1)。直近の10年間で、少なくとも見積もっても、年間に平均7例以上は、栄養性ビオチン欠損症の小児が発生していると推定された。

(2) 先天代謝異常症の発生状況

1次アンケート調査では、過去1年間にHLCS欠損症、ビオチンダーゼ欠損症など、先天性ビオチン代謝異常症の発症についても問うている。4病院からの回答がありと言うことであったが、文書ないし電話の確認で、2例は栄養性ビオチン欠乏症で、2例は誤記入であることが分かり2010年に新たに発症した先天代謝異常症は、確認出来なかった。

平成21年度の難治性疾患克服研究事業「先

天性ビオチン代謝異常症における分子遺伝学的方法による病態解析および迅速診断の開発」研究班の報告を見ると、日本小児科学会専門医研修施設512病院を対象とした調査では、HLCS欠損症が12施設で、17症例、BTD欠損症1施設1例が確認されている。そのうち、HLCS欠損症の13例と、BTD欠損症例が2次調査に答え、1例を除いて、遺伝子変異が明らかになっていることが分っていた。

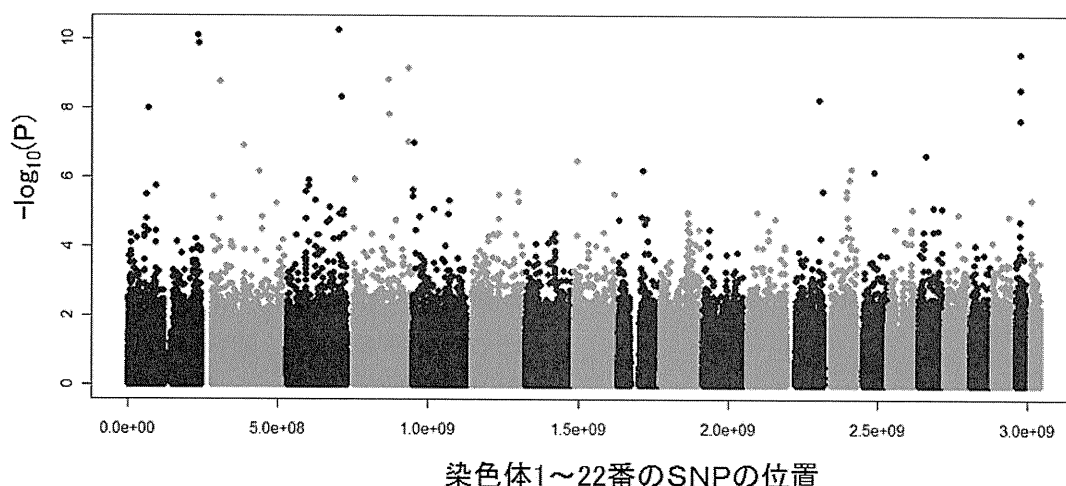
一方、研究代表者らは、1982年の本邦初の症例の酵素診断以来、MCDを疑われた患者について酵素ないし、遺伝子診断を行ってきた。HLCS欠損症については、1例を除いて少なくとも一つのアレルの遺伝子の異常を確認している。平成21年度の調査で詳細が分かったものは、すべて、このリストに含まれていることを確認した。この28年に27例のHLCS欠損症確定例が発生しているが、毎年の出生は100万人を超えており、本疾患の年間の発症率は100万人に1人を下回っていると思われる。遺伝子変異としては、L237Pが最も多く、約30%を占め、それに約24%の780delGが続いている。複数のアレルで見つかっている変異はR508WとV550Mであり、これら4種の変異でアレル全体の6割を占めていた。

一方、日本人で変異まで同定されている、BTD欠損症は、日本人におけるBTD欠損症のスクリーニングで見つかった1例(Pomponio et al 1998 Mol Genet Metabol 64:152-154)と、21年度の調査で、三重県で診断された1例、計2例のみが確認できた。BTD欠損症は、日本人では、HLCS欠損症より、さらに少ないと推定された。

HLCS欠損症とBTD欠損症の診断時の紹介病院の県別分布を見ると、HLCS欠損症は、ほぼ全国に広がっており、地域集積性は特に認められない。2つの最も頻度の高い変異L237Pとdel760Gも特に地域に限定している事はない。

栄養性か酵素異常症の鑑別診断には、以前は酵素活性を測定していたが、2005年以降は遺伝子診断のみで、栄養性と先天性のビオチン代謝異常症の鑑別行われていた。両者の鑑

図2 血清ビオチン値に対するSNPの関連のゲノムワイドスクリーニング



別は 90%の症例で可能であった。

(3) MCD の新たな遺伝子異常の同定

尿の生化学、皮膚症状などから、MCD の症状を示しながら、HLCS と BTD 遺伝子に異常の見つからなかった症例 5 例について、ビオチン依存性大脳基底核症の遺伝子 (SLC19A3) の exon 1 から exon 7、そのファミリー遺伝子である SLC16A1 の exon 2 から exon 5 について、変異の同定を試みたが、変異は見つからなかった。そこで、次に全エクソンのシーケンシングを行った。2 例についてのこれまで結果を得たが、その結果、全 SNP 数は約 35 万個 (うち新規 SNP が約 10 万個)、In/del については、約 8000 個 (うち新規が約 2500 個) 検出した。現状では、家系データがなく、異なる症例に共通な変異がみつかっていないことなど、遺伝子の絞り込みが困難な状態となっている。この状況に対処するため、一般集団における血清ビオチン値に影響を与える量的形質遺伝子座 (QTL) を検出しそれを候補遺伝子とするアプローチを考え、次に示す結果を得た。

(4) 血清ビオチン濃度の決定遺伝子座

対象者 411 名のうちの 233 名については、50 万個以上のゲノムワイドの SNP についてタイピングデータを得ることが出来た。血清ビオチン値はほぼ正規分布をしており、平均 144、標準偏差 64.0 ng/L であった。血清ビオチン値を目

的変数、SNP のアレル、性別を説明変数とする、直線回帰での、SNP の係数の有意差を調べたところ、ゲノムワイドの有意差 5×10^{-8} を下回る SNP が、18 個、遺伝子座としては、11 箇所見つけた。 10^{-6} より小さい値を示した SNP はさらに 15 個、遺伝子座としては 10 箇所認められていた (図 2)。しかし、これらの有意差を示す SNP はアレル頻度が低いため、真の有意性は 2 次サンプルでの再現性をみるまで結論は出せない。現在 2 次スクリーニングが進行中である。

(5) ビオチン代謝異常 Web の開発

ビオチン代謝異常症に関する知識を広く公開する為、ビオチンの生理機能、ビオチンの先天性代謝異常症、栄養性のビオチン欠乏症についての情報を、千葉大学の公衆衛生学の URL をアクセスすると参照できるようにした。

D 考察

本研究では、これまで不明であった小児期における栄養性ビオチン血病の発生頻度を推定する調査を行った。また、先天性代謝異常症についても、研究代表者の 20 年間以上にわたる酵素・遺伝子解析による確定診断から、HLCS、BTD 欠損症の症例数も改訂することができた。近年のアレルギー疾患の罹患率の上昇から、ビオチンの添加が認められていない、特殊ミルクの栄養によるビオチン欠乏症が確實

に起こっていることが確認できた。今回の調査では、各病院における発症が10年以内、少なくとも1例以上の発症という質問となっており、今後、より定量的、短期間の調査を行うと、さらに数値は上昇するものと思われる。しかし、昨年に研究代表者がアレルギー誌に、ペプチドミルクの利用の際のビオチン添加を推奨した論文を発表したこと。また、学会等での発表が盛んなため、ビオチンの補充療法が広く行われると、この数字は低下するものと考えられる。今後、ビオチンの補充を行っているかどうかについての調査も行う予定である。

先天性ビオチン代謝異常の頻度の調査については、罹患率が非常に低く、今回の研究のような、抽出による1年間の罹患率の調査では把握が難しいことが明らかとなった。しかし、一昨年度の調査と29年間の診断実績を統合できたことで、HLCS欠損症の頻度の推定がより正確になったと思われる。すなわち、この29年間の患者数は、30例に満たないようであり、日本では、おおよそ百数十万人の出生数が毎年あるため、HLCS欠損症の発症は年間100万人に1人を下回ると思われる。BTD欠損症は、わずか2例のみが確認出来ており、HLCS欠損症よりさらに頻度は1桁小さいと思われ、両疾患共に日本人では非常に稀な病気であることが示された。

これまで、特有な有機酸尿パターンを示し、ビオチン治療に反応し症状が改善したが、HLCSやBTD遺伝子に変異が見いだされない症例の2例について、エクソーム解析の結果を得たが、多数の可能性のある変異が見つかっており、絞り込みには成功していない。現在、さらなる症例のエクソーム解析を追加して行っている。

今回、この問題を解決する手段として、一般集団において血清ビオチン値を測定し、それと関連する遺伝子座を同定し、エクソーム解析による座位との共通部分から絞り込みを狙った。その結果、1次スクリーニングでゲノムワイドに有意差の基準を満たす座位が見つかった。しかし、多くはアレル頻度が低いSNPであるため、現在、計画どおり $-\log_{10}(P)$ が大きい上位50領域についてはタイピングを行う準備をしている状

況である。また、今回解析した小児集団で、アトピー、総IgE値や、特異IgE値との相関を見たところ、アトピー、総IgE、ネコ特異IgE、スギ特異IgEとの相関係数(有意確率)がそれぞれ、0.188(0.0043)、0.221(0.00073)、0.154(0.019)、0.227(0.00054)と弱いながら有意の相関が見られた。ビオチンの免疫系への関与を示唆するデータとして興味深い。

ホームページについては、開設して1年半となったが、Web情報がきっかけとなって、ビオチン代謝異常が疑われた患者さんの千葉大学の受診、遺伝カウンセリングに至ったケースがそれぞれ1件あり、一定の価値はあると思われた。

E 結論

栄養性と先天性のビオチン代謝異常症の罹患率の疫学調査を行って、栄養性ビオチン欠乏症の発症頻度が初めて明らかとなった。先天性代謝異常の遺伝子診断は、栄養性欠乏症と遺伝性疾患の鑑別診断にとって重要な検査であると思われた。

F 健康危険情報

特になし。

G 研究発表

1)論文発表

1. Inoue H, Mashimo Y, Funamizu M, Yonekura S, Horiguchi S, shimojo N, Kohno Y, Okamoto Y, Hata A Suzuki Y: Association of the MMP9 gene with childhood cedar pollen sensitization and pollinosis *J Hum Genet* 2012; 57: 176-183.
2. Suzuki H, Terai M, Hamada H, Honda T, Suenaga T, Takeuchi T, Yoshikawa N, Shibuta S, Miyawaki M, Oishi K, Yamaga H, Aoyagi N, Iwahashi S, Miyashita R, Onouchi Y, Sasago K, Suzuki Y Hata A: Cyclosporin A treatment for Kawasaki disease refractory to initial and additional intravenous immunoglobulin. *Pediatr Infect*

- Dis J* 2011: 30: 871-6.
3. Onouchi Y, Suzuki Y, Suzuki H, Terai M, Yasukawa K, Hamada H, Suenaga T, Honda T, Honda A, Kobayashi H, Takeuchi T, Yoshikawa N, Sato J, Shibuta S, Miyawaki M, Oishi K, Yamaga H, Aoyagi N, Iwahashi S, Miyashita R, Murata Y, Ebata R, Higashi K, Ozaki K, Sasago K, Tanaka T Hata A: ITPKC and CASP3 polymorphisms and risks for IVIG unresponsiveness and coronary artery lesion formation in Kawasaki disease. *Pharmacogenomics J* 2011: doi: 10.1038/tpj.2011.45
 4. Noguchi E, Sakamoto H, Hirota T, Ochiai K, Imoto Y, Sakashita M, Kurosaka F, Akasawa A, Yoshihara S, Kanno N, Yamada Y, Shimojo N, Kohno Y, Suzuki Y, Kang M J, Kwon J W, Hong S J, Inoue K, Goto Y, Yamashita F, Asada T, Hirose H, Saito I, Fujieda S, Hizawa N, Sakamoto T, Masuko H, Nakamura Y, Nomura I, Tamari M, Arinami T, Yoshida T, Saito H Matsumoto K Genome-wide association study identifies HLA-DP as a susceptibility gene for pediatric asthma in Asian populations. *PLoS Genet* 2011: 7: e1002170.
 5. Hattori S, Shimojo N, Mashimo T, Inoue Y, Ono Y, Kohno Y, Okamoto Y, Hata A Suzuki Y: Relationship between RANTES Polymorphisms and Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis in a Japanese Infant Population. *Jpn J Infect Dis* 2011: 64: 242-5.
 6. Harada M, Hirota T, Jodo AI, Hitomi Y, Sakashita M, Tsunoda T, Miyagawa T, Doi S, Kameda M, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Noguchi E, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N, Suzuki Y, Yoshihara S, Adachi M, Ebisawa M, Saito H, Matsumoto K, Nakajima T, Mathias RA, Rafaels N, Barnes KC, Himes BE, Duan QL, Tantisira KG, Weiss ST, Nakamura Y, Ziegler SF, Tamari M TSLP Promoter Polymorphisms are Associated with Susceptibility to Bronchial Asthma *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011: 44: 787-93.
 7. 鈴木洋一: 症例34 (ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損によるマルチプルカルボキシラーゼ欠損症) in *先天代謝異常症 Diagnosis at a Glance* 日本先天代謝異常学会編 2011: 102-104.
 8. 鈴木洋一: 小児気管支喘息のゲノム解析の現状 *アレルギー・免疫*18:1298-1305, 2011.
 9. 鈴木洋一: 多因子遺伝性疾患としてのアレルギー疾患—遺伝子解析の意義と限界 *小児内科* 2011: 43: 1843-1848.
 10. Sanayama Y, Nagasaka H, Takayanagi M, Ohura T, Sakamoto O, Ito T, Ishige-Wada M, Usui H, Yoshino M, Ohtake A, Yorifuji T, Tsukahara H, Hirayama S, Miida T, Fukui M, Okano Y. Experimental evidence that phenylalanine is strongly associated to oxidative stress in adolescents and adults with phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 2011: 103:220-225.
 11. Al-Haggar M, Sakamoto O, Shaltout A, El-Hawari A, Wahba Y, Abdel-Hadi D. Fanconi Bickel syndrome: Novel mutations in GLUT 2 gene causing a distinguished form of renal tubular acidosis in two unrelated Egyptian families. *Case Reports in Nephrology*. 2011 doi:10.1155/2011/754369.
 12. Gopalakrishnan A, Kumar M, Krishnamurthy S, Sakamoto O, Srinivasan S. Fanconi-Bickel syndrome in a 3-year-old Indian boy with a novel mutation in the GLUT2 gene. *Clin Exp Nephrol* 2011: 15:745-748
 13. Aso K, Okano Y, Takeda T, Sakamoto O, Ban K, Iida K, Yamano T, Shintaku H. Spectrum of glutamate dehydrogenase mutations in Japanese patients with congenital hyperinsulinism and hyperammonemia syndrome. *Osaka City*

- Med J* 2011; 57:1-9.
14. Nagasaka H, Tsukahara H, Takatani T, Sanayama Y, Takayanagi M, Ohura T, Sakamoto O, Ito T, Wada M, Yoshino M, Ohtake A, Yorifuji T, Hirayama S, Miida T, Fujimoto H, Mochizuki H, Hattori T, Okano Y. Cross-sectional study of bone metabolism with nutrition in adult classical phenylketonuric patients diagnosed by neonatal screening. *J Bone Miner Metab* 2011; 29:737-743.
 15. Mohandas Nair K, Sakamoto O, Jagadeesh S, Nampoothiri S. Fanconi-Bickel Syndrome. *Indian J Pediatr* on line
 16. Vatanavicharn N, Liammongkolkul S, Sakamoto O, Sathienkijanchai A, Wasant P. Phenotypic and mutation spectrums of Thai patients with isovaleric acidemia. *Pediatr Int* in press.
 17. Sakamoto O, Ohura T, Murayama K, Ohtake A, Harashima H, Abukawa D, Takeyama J, Haginoya K, Miyabayashi S, Kure S. Neonatal lactic acidosis with methylmalonic aciduria by novel mutations in the SUCLG1 gene. *Pediatr Int* 2011; 53: 921-5.
 18. Niizuma H, Uematsu M, Sakamoto O, Uchiyama T, Horino S, Onuma M, Matsuhashi T, Rikiishi T, Sasahara Y, Minegishi M, Tsuchiya S. Successful cord blood transplantation with reduced-intensity conditioning for childhood cerebral X-linked adrenoleukodystrophy at advanced and early stages. *Pediatr Transplant* in press.
 19. 大西達也、森一博、高松昌徳、岸揚子、山上貴司、山下和子、松岡優、坂本修 非ケトン尿と高血糖を呈した新規変異によるメチルマロン酸血症の子宮内胎児発育遅延児例 *小児科臨床* 2011; 64:909-915.
 20. 管野潤子、坂本修、鎌田文顕、箱田明子、稲垣徹史、森本哲司、山田雅明、呉繁夫、大浦敏博、土屋滋 著明な高アンモニア血症で発症し、代謝性アシドーシスは呈さなかったプロピオン酸血症の1例 *小児科臨床* 2011; 64:1857-1863.
 21. 大浦敏博、呉繁夫、菊地敦生、坂本修、重松陽介、岡野義行、小林圭子、佐伯武頼 シトリン欠損症マス・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.
 22. 鈴木洋一 食物アレルギーの乳幼児へのアミノ酸調節粉末投与の際はビオチンの補充を *アレルギー* 2010; 59:1587-1588.
 23. Kamada F, Aoki Y, Narisawa A, Abe Y, Komatsuzaki S, Kikuchi A, Kanno J, Niihori T, Ono M, Ishii N, Owada Y, Fujimura M, Mashimo Y, Suzuki Y, Hata A, Tsuchiya S, Tominaga T, Matsubara Y, Kure S A genome-wide association study identifies RNF213 as the first Moyamoya disease gene *J Hum Genet* 2011; 56: 34-40.
 24. Undarmaa S, Mashimo Y, Hattori S, Shimojo N, Fujita K, Miyatake A, Doi S, Kohno Y, Okamoto Y, Hirota T, Tamari M, Hata A, Suzuki Y Replication of genetic association studies in asthma and related phenotypes *J Hum Genet* 2010; 55: 342-9.
 25. Onouchi Y, Ozaki K, Buns JC, Shimizu C, Hamada H, Honda T, Terai M, Honda A, Takeuchi T, Shibuta S, Suenaga T, Suzuki H, Higashi K, Yasukawa K, Suzuki Y, Sasago K, Kemmotsu Y, Takatsuki S, Saji T, Yoshikawa T, Nagai T, Hamamoto K, Kishi F, Ouchi K, Sato Y, Newburger JW, Baker AL, Shulman ST, Rowley AH, Yashiro M, Nakamura Y, Wakui K, Fukushima Y, Fujino A, Tsunoda T, Kawasaki T, Hata A, Tanaka T Common variants in CASP3 confer susceptibility to Kawasaki disease *Hum Mol Genet* 2010; 19: 2898-906.
 26. Fukuda N, Suzuki Y, Sato K, Yajima D, Hayakawa M, Motani H, Kobayashi K, Otsuka K, Nagasawa S, Iwase H Estimation of age from sclerotic glomeruli Forensic *Sci Int* 2010; 197(1-3): 123 e1-4.

2)学会発表

1. 山出史也、真下陽一、下条直樹、有馬 孝恭、森田 慶紀、広田 朝光、土居 悟、宮武 明彦、岡本 美孝、河野 陽一、玉利 真由美、羽田 明、鈴木洋一 日本人における喘息とマトリックスメタロプロテアーゼ12遺伝子多型との関連 第48回日本小児アレルギー学会 2011年10月30日 福岡.
 2. 山出史也、真下陽一、下条直樹、有馬 孝恭、森田 慶紀、広田 朝光、土居 悟、佐藤一樹、鈴木修一、西牟田敏之、渡邊宏子、星岡 明、富板美奈子、山出晶子、渡邊美砂、岡本 美孝、河野 陽一、玉利 真由美、羽田 明、鈴木洋一 日本人における喘息とマトリックスメタロプロテアーゼ-7および12遺伝子多型との関連:日本人における症例対照研究 第56回日本人類遺伝学会 2011年11月12日 千葉.
 3. 山出史也、真下陽一、下条直樹、有馬 孝恭、森田 慶紀、広田朝光、土居 悟、佐藤一樹、鈴木修一、西牟田敏之、渡邊宏子、星岡 明、富板美奈子、山出晶子、渡邊美砂、岡本 美孝、河野 陽一、玉利 真由美、羽田 明、鈴木洋一 小児期発症喘息患者の呼吸機能と重症度におけるトロンボキサンA2受容体遺伝子多型の役割 第56回日本人類遺伝学会 2011年11月12日 千葉.
 4. K Takeuchi1, Y Mashimo, S Hattori1, N Shimojo, M Tomita, T Arima, Y Morita, K Sato, S Suzuki, T Nishimuta, H Watanabe, A Hoshioka, A Yamaide, M Watanabe, Y Kohno, A Hata, Y Suzuki. The role of thromboxane A2 receptor gene polymorphisms in lung function and severity in childhood-onset asthma. 16th International Congress of Human Genetics October 14, 2011, Montreal, Canada.
 5. F Yamaide, Y Mashimo, N Shimojo, T Arima, Y Morita, T Hirota, S Doi, K Sato, S Suzuki, T Nishimuta, H Watanabe, A Hoshioka, M Tomiita, A Yamaide, M Watanabe, Y Okamoto, Y Kohno, M Tamari, A Hata1, Y Suzuki Association of matrix metalloproteinase-7 and -12 genes polymorphisms with asthma: A case-control study of MMP-7 and -12 in a Japanese population 16th International Congress of Human Genetics October 14, 2011, Montreal, Canada.
 6. 鈴木洋一、真下陽一、羽田明 栄養性ビオチン欠乏症と先天性ビオチン代謝異常症に関する疫学調査 日本ビタミン学会第63回大会 2011年6月5日 広島.
 7. 鈴木洋一 気管支喘息表現型の多様性～遺伝子から病態まで「遺伝子から見た小児気管支喘息の多様性」シンポジウム 第60回日本アレルギー学会 平成22年11月25-27日 東京.
 8. 小児期発症喘息患者の重症度と呼吸機能に関連する遺伝子多型 竹内和秀、真下洋一、服部 聡、下条直樹、玉利真由美、羽田 明、鈴木洋一他 第60回日本アレルギー学会 平成22年11月25-27日 東京.
 9. Association of the matrix metalloproteinase 13 gene with child-onset asthma. Y. Suzuki, Y. Mashimo, S. Hattori, K. Takeuchi, N. Shimojo, T. Hirota, K. Fujita, A. Miyatake, S. Doi, Y. Okamoto, Y. Kohno, M. Tamari, A. Hata アメリカ人類遺伝学会 平成22年11月2-6日 ワシントンDC、アメリカ合衆国.
- G 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)
1. 特許取得
血清ビオチン値を規定する遺伝子座と遺伝子多型(出願予定)
 2. 実用新案登録
該当無し
 3. その他
該当無し

資料1 ビオチン代謝異常ホームページ

初めに

本ホームページは、人のビオチン代謝異常についての一般的な知識と、診断、治療に関する情報が手軽に手にいられる様に作製された。平成23年度の厚生労働省の難治性疾患研究事業の終了後も、情報にアクセス可能とするため、千葉大学医学部のサーバーを用いて維持することとした。

内容

(1)トップページ

本ホームページのURLは、<http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/pubheal/biotin/index.html>であり、図1がトップページとなっている。トップページからは、ビオチンとは、栄養性欠乏症、先天性代謝異常症、診断と治療のそれぞれの内容へのタブが設けられている。

図1

(2) ビオチンとは

ビオチンは水溶性ビタミンの一つとされています。図のような簡単な分子です(図 1)。

1942年、Sydenstricker [1]は人においてもビオチンの欠乏症の起こることをはじめて科学的に証明しました。実際にビオチン欠乏症に遭遇することはまれと考えられ、その後しばらくは、ビオチンと人の疾患との関係についてあまり問題にされることはありませんでした。1970年代に複数のカルボキシラーゼ活性の低下が同時にみられ、ビオチンの大量療法によって治療可能な先天性代謝異常症「マルチプルカルボキシラーゼ欠損症」の存在が認識されるようになり[2, 3]、さらに1980年代には完全静脈栄養施行時のビオチン欠乏症が報告され[4]、このビタミンの重要性が認識されるようになりました。

ビオチンのヒトでの働きとして確立しているものは、4種類あるカルボキシラーゼという酵素の働きを助ける「補酵素」という役割です。4種類のカルボキシラーゼは、ロイシンの異化経路のメチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ(MCC)、脂肪酸合成の律速酵素であるアセチル CoA カルボキシラーゼ(ACC)、糖新生系の律速酵素の一つであるピルビン酸カルボキシラーゼ(PC)、バリンやイソロイシン等のアミノ酸の異化経路に存在するプロピオニル CoA カルボキシラーゼ(PCC)です。ビオチンが欠乏したり、ビオチニダーゼやホロカルボキシラーゼ合成酵素の異常などにより、カルボキシラーゼのホロ化が障害されると、個体は、これらの多様な代謝経路の機能不全により、多彩な症状がでできます(図 2)。

ビオチンの機能がカルボキシラーゼの補酵素以外にもあることも知られています。分子レベルの変化として観察されているものとして、1)絶食ラットにおいてビオチンは肝グルコキナーゼのmRNAと活性を上昇させる[5]、2)ビオチンは種々の組織においてcGMPの細胞内レベルを上昇させる[6]、3)ビオチン欠乏で、オルニチントランスカルバミラーゼのmRNAの低下が起こる[7]、などが報告されています。ビオチンの投与、欠乏によって個体レベルで観察された現象としては、1)ラットにおける血糖調節、インスリン分泌への影響[8, 9]、2)ビオチン欠乏の親から生まれたマウスにおいて臓器形成障害[10]、ビオチン欠乏での口蓋の融合過程の阻害[11]、3)免疫細胞に与える影響[12]、があります。最近の発見に、ホロカルボキシラーゼ合成酵素によってヒストンがビオチン化され、これが遺伝子の発現に影響しているかもしれないというものがあります[13]。

図 1

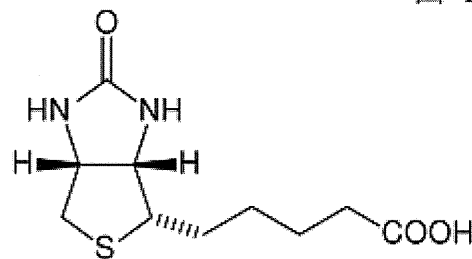
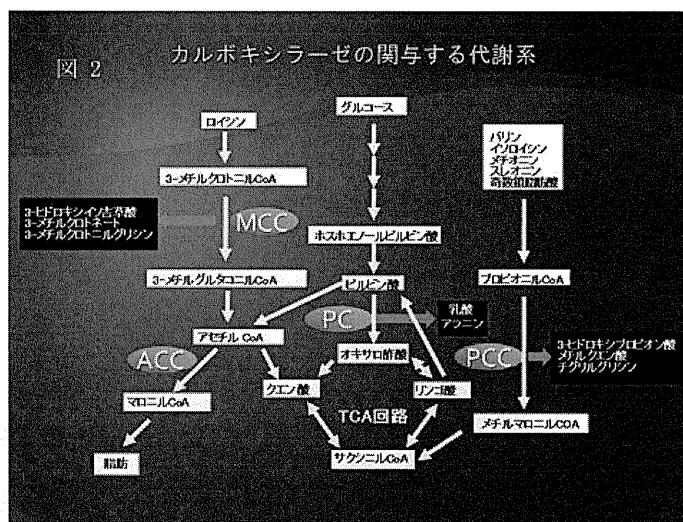


図 2 カルボキシラーゼの関与する代謝系



文献

1. Sydenstricker V, DeVaughn S and Isbell H. Observations on the "egg white injury" in man. J Am Med Assoc 1942;118:1199-1200
2. Gompertz D, Draffan GH. Biotin-responsive beta-methylcrotonylglycinuria. The Lancet 1971;22-24
3. Wolf B. Disorders of biotin metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS and Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. 7 ed. New York: McGraw-Hill, 1995:3151-3177
4. Mock DM, deLorimer AA, Liebman WM, Sweetman L and Baker H. Biotin deficiency: an unusual complication of parenteral alimentation. N Engl J Med 1981;304:820-3
5. Chauhan J, Dakshinamurti K. Transcriptional regulation of the glucokinase gene by biotin in starved rats. J Biol Chem 1991;266:10035-8
6. Vesely DL. Biotin enhances guanylate cyclase activity. Science 1982;216:1329-1330
7. Maeda Y, Kawata S, Inui Y, Fukuda K, Igura T and Matsuzawa Y. Biotin deficiency decreases ornithine transcarbamylase activity and mRNA in rat liver. J Nutr 1996;126:61-6
8. Zhang H, Osada K, Sone H and Furukawa Y. Biotin administration improves the impaired glucose tolerance of streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) 1997;43:271-80
9. Zhang H, Osada K, Maebashi M, Ito M, Komai M and Furukawa Y. A high biotin diet improves the impaired glucose tolerance of long-term spontaneously hyperglycemic rats with non-insulin-dependent diabetes mellitus. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) 1996;42:517-26
10. Watanabe T. Teratogenic effects of biotin deficiency in mice. J Nutr 1983;113:574-81
11. Watanabe T, Dakshinamurti K and Persaud TV. Biotin influences palatal development of mouse embryos in organ culture. J Nutr 1995;125:2114-21
12. Baez-Saldana A, Diaz G, Espinoza B and Ortega E. Biotin deficiency induces changes in subpopulations of spleen lymphocytes in mice. Am J Clin Nutr 1998;67:431-7
13. Zemleni J, Chew YC, Hassan YI and Wijeratne SS. Epigenetic regulation of chromatin structure and gene function by biotin: are biotin requirements being met? Nutr Rev 2008;66 Suppl 1:S46-8

(3) 栄養性欠乏症

最近問題になっている栄養性ビオチン欠乏症は、アレルギー治療のために使用しているペプチドミルク(アミノ酸調整粉末)によるビオチン欠乏症です。現在市販されているペプチドミルクのビオチンが添加されていないために、このミルクを数ヶ月にわたって摂取した子供にビオチン欠乏症が生じたという報告が相次いでいます。診断が確実に論文等になっている報告等を藤本先生が2005年に発表しています[1, 2]。下の1表は藤本先生の表にさらに症例を追加したものです。この表の中には、先天代謝異常症のメチルマロン酸血症の治療ミルク(S22)でビオチン欠乏症状が起こったとの報告もあります[3]。これ以外にも、情報が不足しているため表に含めていませんが、ビオチン欠乏症の報告が続いています。2008年には、虫本らが小児科学会で7例の報告をしています[4]。同学会では、さらに2例の発表がありました[5, 6]。2009年には、双子のビオチン欠乏症、[7]、未熟児で生まれた児のミルクアレルギーの治療中の発症[8]、2010年にも3例の学会報告[9-11]がなされ、ここ数年は、年間2例以上のビオチン欠乏症の報告があり、栄養性ビオチン欠乏症はアレルギー治療のためのペプチドミルクの摂取の際に注意しなければならない副作用であると言えます。

表1 治療用ミルクによるビオチン欠乏症の報告

No	診断年	診断時の年齢	性	ミルク	血清ビオチン(ng/ml)	有機酸尿	報告者	文献
1	1991	3月	男	EF	ND	+	阿部	12
2	1996	11月	男	EF	1.5	+	樋口	13
3	1996	5月	男	EF	1.4	+	樋口	14
4	1998	14日	男	S-22	2.4	+	高野	3
5	2001	4才	女	EP	NT	NT	西原	15, 16
6	2001	11月	男	NOB	1.7	NT	西原	15, 16
7	2002	4才	男	EF	1.6	+	細谷	17
8	2002	5月	女	EF	1.8	+	細谷	17
9	2004	5月	男	EF	1.6	+	藤本	1, 2
10	2004	5月	男	MHP	NT	NT	加瀬	18, 19
11	2005	4月	女	?	1.6	+	河場	20
12	2007	4月	女	EF	ND	+	真々田	21
13	2009	5月	女	NMA1	0.4	+	後藤	22

EF:エレンタールフォーミュラ、MHP:エピトレス、NMA1:ニューMA-1、NOB:のびやか、NT:施行せず、ND:検出感度以下

文献

1. Fujimoto W, Inaoki M, Fukui T, Inoue Y and Kuhara T. Biotin deficiency in an infant fed with amino acid formula. J Dermatol 2005;32:256-61
2. 藤本亘.【最近のトピックス 2005 Clinical Dermatology 2005】皮膚科医のための臨床トピックス アミノ酸調整粉末単独哺育に起因するビオチン欠乏症. 臨床皮膚科 2005;59:142-144
3. 高野祐子, 梅林典子, 廣瀬伸一, 渡辺敏明, 吉田一郎 and 満留昭久. 特殊調製乳(S22)による栄養中にビオチン欠乏症を呈したメチルマロン酸血症の乳児例. 日本先天代謝異常学会雑誌 1998;14:218
4. 虫本雄一, 長谷川有紀, 遠藤充, 小林弘典 and 山口清次. ビオチン欠乏症による2次性マルチプルカルボキシラーゼ欠損症7例の検討. 日本小児科学会雑誌 2008;112:225
5. 阿部清美, 吉井啓介, 綾部匡之, et al. アレルギー疾患用ミルクの長期使用により、ビオチン欠乏に至った1例. 日本小児科学会雑誌 2008;112:320
6. 西田豊, 牛久英雄, 蓮見純平 and 八木久子. MCT605ミルクによるビオチン欠乏症の1例. 日本小児科学会雑誌 2008;112:1588
7. 寺林和也, 藤本徳毅, 藤井紀和, 立花隆夫 and 田中俊宏. ビオチン欠乏症の双子例. 皮膚の科学 2009;8:571
8. 安田真里, 佐野ちひろ, 清澤秀輔, et al. ミルクアレルギー超低出生体重児に対する治療用ミルクによる養育中に生じたビオチン欠乏症の一例. 日本未熟児新生児学会雑誌 2009;21:630
9. 秋庭真理子, 高増哲也, 藤野歩, 犬尾千聡 and 栗原和幸. アミノ酸調整乳で哺乳され、ビオチン欠乏症と考えられた1乳児例. 日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会誌 2010;8:73
10. 洲崎玲子, 眞海芳史, 大関正彦, et al. ミルクアレルギー除去ミルク哺育中に生じたビオチン欠乏症の1例. 日本皮膚科学会雑誌 2010;120:707
11. 本間仁, 益野元紀, 井戸正流, et al. 加水分解乳による完全人工乳栄養中にビオチン欠乏症を発症した1乳児例. 日本小児科学会雑誌 2010;114:344

12. 阿部博紀, 他. アミノ酸調整粉末(605z)によると思われるビオチン欠乏症の1例. 日本先天代謝異常学会雑誌 1991;7:172
13. Higuchi R, Noda E, Koyama Y, et al. Biotin deficiency in an infant fed with amino acid formula and hypoallergenic rice. Acta Paediatr 1996;85:872-4
14. 樋口隆造, 水越真里, 小山佳紀 and 他. アミノ酸調整粉末によるビオチン欠乏症の2例. 日本小児科学会雑誌 1996;100:1908-1912
15. 西原修美. 【ビタミンの基礎と臨床】ビオチンの臨床. Modern Physician 2007;27:1237-1241
16. 西原修美. 小児アトピー性皮膚炎患者の血清ビオチン値についての検討. 日本皮膚科学会雑誌 2007;117:57
17. 細谷まち子, 荒川泰子, 牛久英雄 and 高柳正樹. エレメンタルフォーミュラを使用中にビオチン欠乏をきたした2症例. 日本小児栄養消化器肝臓学会雑誌 2002;16:54
18. 加瀬貴美, 森川玲子 and 新飯田裕一. ミルクアレルゲン除去ミルク単独栄養児に生じたビオチン欠乏症の1例. 日本皮膚科学会雑誌 2006;116:800
19. 加瀬貴美, 森川玲子, 村本文男 and 新飯田裕一. ミルクアレルゲン除去ミルク単独哺育によるビオチン欠乏症の1例. 臨床皮膚科 2009;63:716-719
20. 河場康郎, 小西恭子, 岡田晋一, et al. 【内分泌・代謝】ビオチンを含有しないアミノ酸調整ミルク哺育により高乳酸・ピルビン酸血症を呈した1例. 小児科臨床 2005;58:385-390
21. 真々田容子, 村田敬寛, 谷口歩美, et al. 牛乳蛋白アレルギー児に発症したアミノ酸調整粉末哺育によるビオチン欠乏症. アレルギー 2008;57:552-557
22. 後藤美奈, 大畑亮介, 伊藤恵子, et al. アミノ酸調整粉末の単独哺育中に生じた後天性ビオチン欠乏症の1例. 臨床皮膚科 2009;63:565-569

(4) 先天代謝異常症

ビオチン代謝の異常に関係する遺伝子の異常による病気、すなわち先天性ビオチン代謝異常症と分類できる病気は、4種類あります。ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症、ビオチンダーゼ欠損症、ビオチン依存性大脳基底核症、ビオチントランスポーター異常症です。最後の1つは遺伝子レベルでの異常が確認されていません。日本人で確認されている病気は、ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症とビオチンダーゼ欠損症です。また、ビオチンが関係するとされるその他の病気もあります。

ホロカルボキシラーゼ合成酵素

1. 病因・発症機序

ホロカルボキシラーゼ合成酵素 (HLCS) の活性低下によって起こる、常染色体性劣性の遺伝形式を示す先天性代謝異常です。日本での発生頻度は100万出生に数名程度と推定されます[1]。HLCS 遺伝子は1994年に初めて蛋白の一次構造が明らかになり、日本人患者で変異が確認されました[2]。HLCS は複数のカルボキシラーゼのアポ蛋白とヒストンへのビオチンの取り込み(共有結合)を触媒する酵素で、HLCS 活性の低下は、プロピオニル CoA カルボキシラーゼ(PCC)、メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ(MCC)、ピルビン酸カルボキシラーゼ(PC)、アセチル CoA カルボキシラーゼ(ACC)などの活性低下を招き、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症とも呼ばれる状態となります[3]。本疾患は、単一の酵素欠損が結果として複数の代謝経路の酵素活性の低下を引き起こすことで非常に多彩な症状を示すことが特徴です。

2. 臨床症状

本人症例では、酵素活性の低下の著明な場合が多く、約半数は生後2日以内に発症します[4]。新生児期発症型の典型的な症状は、代謝性酸性血症(アシドーシス)による多呼吸、呼吸障害、痙攣、哺乳障害、全身の皮膚炎(図4 Fig04)など。アシドーシスは主にPCCとPCの低下が原因と考えられます。皮膚炎はACCの低下が一次的な原因で、そのため脂肪酸、リン脂質の合成異常があるために起こっていると考えられています。尿中有機酸の検査では、PCC、MCC、PCの欠損に由来するマルチプルカルボキシラーゼ欠損症に特徴的なパターンを示し、診断的価値が高いです。HLCS 酵素活性の低下の少ない軽症型では、皮膚炎、発育障害、痙攣、筋緊張異常が主な症状となり、乳児期から小児期の期間に感染などのストレスが加わった際、全身状態の悪化した時に入院、診断が明らかになることが多い[5,6]。皮膚または全身の易感染性または感染の重症化も時々ある症状です。

3. 診断法

生児では、呼吸障害、痙攣、全身状態の悪化があれば、直ちに血液ガス、アンモニア、乳酸の測定を行う必要があります(図7、Fig07)。高度のアシドーシス、高乳酸血症、高アンモニア血症が認められた場合は、他の有機酸血症との鑑別も含め、まず尿中有機酸の分析を行います。本症では複数のカルボキシラーゼの活性低下を反映した特徴的な有機酸パターンを示します。(図8、Fig08)すなわち、MCCの活性低下により、3-ヒドロキシイソ吉草酸、3-メチルクロトネート、3-メチルクロトニルグリシン。PCCの活性低下により、3-ヒドロキシプロピオネート、メチルクエン酸、チグリルグリシンが生じます。PCの活性低下は乳酸の上昇の原因と考えられます(図9、Fig09)。血中アミノ酸分析では、アラニンの上昇が見られることが多いです。ロイシンの高値がきっかけで診断された例もあります。鑑別診断としては、ビオチンダーゼ欠損症と栄養性ビオチン欠乏症が問題となりますが、ビオチンの大量投与による治療を優先し、症状が安定してから行っても臨床的には問題がない。

アトピー性皮膚炎、アレルギーのある児に、低アレルゲン性の特製ミルク(アミノ酸調整粉末、ペプチドミルク)を長期にわたって投与した場合[7,8]や、メチルマロン酸血症の治療でS-22ミルクを投与されている場合に、栄養性ビオチン欠乏症となることがあり注意が必要です。詳しくは「栄養性ビオチン欠乏症」のセクションをご覧ください。

診断確定には、末梢血などから精製したDNAを用いて遺伝子診断が行われます。遺伝子診断で日本人患者の約90%が診断可能となっています。HLCS 遺伝子の蛋白翻訳領域を含むエクソンについて直接シーケンシングを行いことで変異のスクリーニングを行います。

遺伝子異常が見つからない場合、末梢血から樹立したリンパ芽球におけるHLCS活性の測定を行う必要がある[9]。

遺伝子診断はオーファンネット・ジャパン事に依頼して下さい。

Orphan Net Japan

4. 治療

生児期の代謝性アシドーシス、呼吸障害などには一般的なアシドーシスと生命維持のための治療に加え、ビオチンの10 - 50 mg/dayの静注または経口投与が必要です。実際には確定診断がつくまで、ビタミンの大量療法を行うこととなります(ビオチン以外のビタミン: 塩酸チアミン 100-200 mg/day、リボフラビン 100-300 mg/day、シアノコバラミン 1mg/day)。ビオチン投与により、数日以内に、急激な一般状態の回復、皮膚炎の改善などが期待できます。ビオチンによる治療開始が遅れなければ多くの症例は急性期を乗り切ることが可能です。一般状態の安定している時期は10 - 100mg/dayの経口投与を続けることとなります。ビオチンの投与量が十分かどうかの鋭敏な指標は、尿中有機酸分析で、臨床症状が見られない場合でも、有機酸尿が続く場合は、ビオチンの増量を考えた方が良くもありません。少なくともアシドーシス、高アンモニア血症を示さない様に十分なビオチンを投与することが必要です。ビオチンの過剰投与による中毒は報告がないので、効果が認められなければ、ビオチンの増量を積極的に行っても問題ありません。ただし、100 mg/day以上投与しても、HLCSの残存活性が低い患者では、症状が完全にコントロール出来ない場合があります。

5. 合併症

生前からあるいは生後に、脳のCT等で脳室の拡大が認められることがあります。これが、発育遅延などと関係しているかどうかは明らかではありませんが、ビオチン投与の効果が十分でないことを示唆する所見かもしれません。

6. 予後

生児期発症の症例でもビオチンの投与に反応し、新生児期を乗り切ったものは、生命の予後はそれほど悪くありません。しかし、日本人で多い、高度な酵素活性低下を示す変異の例、たとえばLeu237Proと780delGの複合ヘテロ接合体では、尿中有機酸排泄が続く、皮膚炎、発達障害を示す患者もいます。乳児期以降発症の軽症例では、Val550MetやArg508Typなどの遺伝子変異をホモまたは複合ヘテロ接合体として持つことが多く、ビオチン投与により、ほとんど症状を示さずに経過することが知られています。症状が認められない場合でも、尿中有機酸が認められる場合は、ビオチンの効果が十分ではないと考えられ、感染症で急激に症状が悪化する可能性があるため、慎重な経過観察が必要です。酵素診断や遺伝子検査による本症の確定診断が出来るようになって、30年経過しましたが、これまで、ビオチン治療によってフォローされていた患者がどの様になっているかの系統的な調査はありません。

ビオチンダーゼ欠損症

ビオチン代謝異常症でよく研究されているもう一つの疾患がビオチンダーゼ欠損症です[10]。ビオチンダーゼ欠損症の発症時期は生後1週から2才にわたり、3ヶ月ごろが多いようです。新生児の発症が少ないため、遅発型マルチプルカルボキシラーゼ欠損症と呼ばれることもあります。症状としては、痙攣、筋緊張低下、運動失調、皮膚炎、脱毛、結膜炎などで、微妙にホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症とは違ってきます。病状の進行とともに半数の症例に難聴、視神経萎縮などの感覚神経障害が認められるようになることも多少違う様です。約8割の患者ではHLCS欠損症にも見られる特徴的な有機酸尿が認められ、症状がはっきりしなくても尿の検査から、臨床診断が可能です。遅発型マルチプルカルボキシラーゼ欠損症の原因がビオチンダーゼであることを発見したのは、米国のBarry Wolf博士で、ビオチンダーゼ欠損症の研究は彼らのグループの功績がほとんどです[11]。ビオチンダーゼのアミノ酸配列はWolfらのグループによって明らかにされ[12]、その遺伝子は3番染色体3q25.1に存在しています[13]。ビオチンダーゼ欠損症の欧米人患者では欠失/挿入変異(G98:del7ins3)、ミスセンス変異(Arg538Cys、Gln456His)が高頻度変異として報告されています[14-16]。

ビオチンダーゼ欠損症は日本人には非常に希と考えられます。これまで、文献的には、マススクリーニングで見つかった一人の患者の遺伝子解析が報告されているだけです(Asp489Thrのホモ)[17]。ビオチン代謝異常のアンケート調査で、ヘテロの変異がもう一人の小児に見つかっています。

ビオチン依存性大脳基底核症

サウジアラビアのOzandらは、1998年ビオチン投与により症状が劇的に改善する常染色体劣性遺伝性と思われる神経疾患について報告しました[18]。大脳基底核に壊死を思わせるMRI(磁気共鳴映像)所見があり、急性脳症の症状で発症し、筋硬直、四肢麻痺等の症状も認められます。生化学的にはHLCS欠損症、ビオチンダーゼ欠損症にみられる所見を全く示さないのが特徴です。神経学的症状はビオチンを病初期の段階で投与することで、劇的に改善すると記載されています。2005年、本症の一次的障害は、SLC19A3という、もともとはチアミンというビタミンを運ぶとされていたビタミン輸送蛋白であることが報告されました[19]。日本では、この病気はまだ報告がないと思われます。

ビオチントランスポーター欠損症

マルチプルカルボキシラーゼ欠損症の症状を示すが、ホロカルボキラーゼ合成酵素、ビオチンダーゼ、SLC19A3の遺伝子に異常が無く、細胞のビオチン輸送のアクセシビリティでその低下が示された症例が1例だけ報告されています[20]。

ビオチンが関係するその他の病気

掌蹠膿疱症(掌蹠膿疱症性骨関節炎)という病気は、手のひら、足の裏に多数の膿疱が出現、なかなか直らない、胸肋鎖骨関節、脊椎の関節炎がおこる病気ですが、その一部にビオチン投与で改善する例があることが分かっています。タレントの奈美悦子さんがこの病気にかかり有名になりました。このビオチンが有効な掌蹠膿疱症については、本荘第一病院の前橋賢先生が多くの症例を経験しています。ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症にみられる、代謝性アシドーシスが全身症状はあまり目立たず、免疫グロブリンの異常、Tリンパ球を中心とする免疫のバランスの異常が示唆されているようです。ある一定の遺伝的背景を持つ人が軽度なビオチンの不足となった場合に、自己免疫病と類似する病態を示す様になっていると考えられます。

文献

1. 重松陽介. タンデム質量分析計による新生児代謝異常症マススクリーニング. 日本小児科学会雑誌 110: 895-903, 2006.

2. Suzuki Y et al. Isolation and characterization of mutations in the human holocarboxylase synthetase cDNA. *Nat Genet* 8: 122-128, 1994.
3. Wolf B. Disorders of biotin metabolism. in *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. Vol. 3 (eds. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D) 3935-3962 (McGraw-Hill, New York, 2001).
4. Suzuki Y, Yang X, Aoki Y, Kure S, Matsubara Y. Mutations in the holocarboxylase synthetase gene hLCS. *Hum Mutat* 26: 285-290, 2005.
5. 岡崎健一 et al. 生後9ヶ月に発症したホロカルボキシラーゼ合成酵素異常によるマルチプルカルボキシラーゼ欠損症の男児例. *日本小児科学会雑誌* 110: 781-784, 2006.
6. 八木麻理子 et al. 保存新生児期ろ紙血でも異常が確認されたホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症の1乳児例. *日本小児科学会雑誌* 111: 1061-1065, 2007.
7. 河場康郎 et al. 【内分泌・代謝】 ビオチンを含有しないアミノ酸調整ミルク哺育により高乳酸・ピルビン酸血症を呈した1例. *小児科臨床* 58: 385-390, 2005.
8. 真々田容子 et al. 牛乳蛋白アレルギー児に発症したアミノ酸調整粉末ミルク哺育によるビオチン欠乏症. *アレルギー* 57: 552-557, 2008.
9. Suzuki Y et al. Enzymatic diagnosis of holocarboxylase synthetase deficiency using apo-carboxyl carrier protein as a substrate. *Clin Chim Acta* 251: 41-52, 1996.
10. Wolf B, Heard GS. Biotinidase deficiency. *Adv Pediatr* 1-21, 1991.
11. Wolf B. Disorders of biotin metabolism. in *The metabolic and molecular basis of inherited disease* (eds. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D) 3151-3177 (McGraw-Hill, New York, 1995).
12. Cole H et al. Human serum biotinidase. CDNA cloning, sequence, and characterization. *J Biol Chem* 269: 6566-6570, 1994.
13. Cole H, Weremowicz S, Morton CC, Wolf B. Localization of serum biotinidase (btd) to human chromosome 3 in band p25. *Genomics* 22: 662-663, 1994.
14. Norrgard KJ et al. Mutation (q456h) is the most common cause of profound biotinidase deficiency in children ascertained by newborn screening in the United States. *Biochem Mol Med* 61: 22-27, 1997.
15. Pomponio RJ et al. Arg538 to Cys mutation in a CpG dinucleotide of the human biotinidase gene is the second most common cause of profound biotinidase deficiency in symptomatic children. *Hum Genet* 99: 506-512, 1997.
16. Pomponio RJ, Reynolds TR, Cole H, Buck GA, Wolf B. Mutational hotspot in the human biotinidase gene causes profound biotinidase deficiency [see comments]. *Nat Genet* 11: 96-98, 1995.
17. Pomponio RJ, Yamaguchi A, Arashima S, Hymes J, Wolf B. Mutation in a putative glycosylation site (n489t) of biotinidase in the only known Japanese child with biotinidase deficiency. *Mol Genet Metab* 64: 152-154, 1998.
18. Ozand PT et al. Biotin-responsive basal ganglia disease: A novel entity. *Brain* 121: 1267-1279, 1998.
19. Zeng WQ et al. Biotin-responsive basal ganglia disease maps to 2q36.3 and is due to mutations in *slc19a3*. *Am J Hum Genet* 77: 16-26, 2005.
20. Mardach R et al. Biotin dependency due to a defect in biotin transport. *J Clin Invest* 109: 1617-1623, 2002.

(5) ビオチン代謝異常症の診断と治療

◎ビオチン代謝異常症が疑われる典型的な臨床症状

- (1) 新生児期、出生直後から日齢2日までに、呼吸障害、嘔吐、哺乳障害、全身状態の悪化があり、高度な代謝性アシドーシスがみられる。
- (2) 新生児期は異常がなく、乳児期から幼児期に、上気道感染症、発熱性疾患をきっかけに全身状態の悪化、肺炎像が無い呼吸障害、けいれん、哺乳障害など全身の悪化があり、代謝性アシドーシスが認められる。
- (3) 食物アレルギーが新生児期よりあり、アミノ酸調整粉末を主体とした栄養で2-3ヶ月過ぎたころに、アトピー性皮膚炎用の湿疹、目、口、肛門を中心とした皮膚炎の悪化がみられる。ステロイドの塗布に反応が悪い。

◎診断のポイント

上記の(1)~(3)のような症状がみられた場合は、ビオチン代謝異常症を疑い、尿の有機酸分析を出すことが診断への近道です。先天性代謝異常でも、栄養性ビオチン欠乏症でも、重症な場合は、4つのカルボキシラーゼの低下を反映した、複数代謝経路由来の異常代謝産物が検出され、診断的価値が高いです。

(1)の症状は、酵素活性の低下が著明な、ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症が原因で起こっている可能性が高いです。(2)の経過をとる場合、酵素活性の低下が(1)の症状を示す患者より軽い場合、ビオチンに対する親和性が低下した、ホロカルボキシラーゼ合成酵素の異常の可能性ががあります。(3)は、現在問題になっている、アレルギー治療用のミルクによる栄養性ビオチン欠乏症の可能性のある症状です。

栄養性なのか、ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症なのかは、遺伝子診断をした方が確実です。遺伝子診断は「オーファンネット」が受け付けています。

◎治療

経口または点滴でのビオチン投与によって、ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損でも、栄養性ビオチン欠乏症でも、数日間のうちに症状の改善をみます。投与量は、ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症の場合10 mg/日で始め、反応が悪い場合は100 mg/日まで増やします。栄養性ビタミン欠乏症では、それほど量はいらぬはずですが、投与開始時点では、栄養性なのか酵素欠損なのかは鑑別がついていないので、同様の量で始めざるを得ません。いったん症状がよくなったら、栄養性では、必要量は数μg/日で十分ですが、酵素欠損症では、mg/日オーダー以下には下げない方がよいと思われます。ビオチンが十分投与されているかどうかの指標もやはり尿中有機酸分析がよいと思われます。酵素欠損症では、症状が全く見られない状態でも、3-ヒドロキシイソ吉草酸などが検出されることがあります。

II. 分担研究報告書

ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症における高頻度変異に対する迅速診断法の臨床応用

研究分担者 坂本修（東北大学医学系研究科 准教授）

研究要旨

先天性ビオチン代謝異常症はビタミン依存症のひとつであり、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症を呈する。その代表はホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症、ビオチニダーゼ欠損症である。本邦では HCS 欠損症が主である。さらに本邦での HCS 欠損症は二つの代表的な変異がある。今回は尿有機酸分析でマルチプルカルボキシラーゼ欠損症と診断されていた児に、ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症に対する高頻度変異に対する迅速診断法を応用し有用性を確認した。

A. 研究目的

先天性ビオチン代謝異常症はビタミン依存症のひとつである。

ビオチンはビタミン B 群に属する水溶性ビタミンであり、生体内では各種カルボキシラーゼの補酵素として働く。ヒトには 4 種類のカルボキシラーゼの存在が知られており[プロピオニル CoA カルボキシラーゼ (PCC)、メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ (MCC)、ピルビン酸カルボキシラーゼ (PC)、アセチル CoA カルボキシラーゼ (ACC)]、PCC、MCC はアミノ酸代謝、PC は糖新生、ACC は脂肪酸合成の重要な酵素である。

先天性ビオチン代謝異常症の代表はホロカルボキシラーゼ合成酵素 (HCS) 欠損症、ビオチニダーゼ (BD) 欠損症である。これら 2 疾患では先述の 4 種類のカルボキシラーゼ活性が同時に低下し、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症 (MCD) と称される病態を呈する。新生児期から乳児期早期に著明な代謝性アシドーシス、難治性湿疹などで発症する。

研究協力者による先行的研究[先天性ビオチン代謝異常症における分子遺伝学的方法による病態解析および迅速診断法の開発 (H21 年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研

究事業)]にて、本邦での先天性ビオチン代謝異常症の代表はホロカルボキシラーゼ合成酵素 (HCS) 欠損症がほとんどを占めることを報告した。さらに本邦の HCS 欠損症では二つの変異が高頻度であることが知られているため、うち一つ (p.L237P) を迅速に診断する系を確立し、診断のためのフローチャートを作成した (図 末尾)。

今回はこの系の有用性を確認するため、実際の新規発症に対しこの迅速診断系を応用した。

B. 研究方法

・症例

発症が生後 2 日の女児。活気がなく哺乳不良のため新生児専門施設に紹介となった。代謝性アシドーシス (pH6.912、BE - 28.9) と高アンモニア血症 (442 μ g/dL)、高乳酸血症 (16mmol/L) を認め先天代謝異常が疑われた。絶食のうえ、人工換気と血液浄化療法、高カロリー輸液、およびアルギニン、ビタミン B1、B2、B6、B12、C、カルニチン、ビオチンの投与が開始された。同日のタンデムマス・スクリーニングで 3 ヒドロキシイソバレリルカルニチン (C50H) 5.5 nmol/mL、プロピオニルカルニチン (C3) 13.3 nmol/mL と複