

FIG. 1. Identification of six point mutations in *LRP5*. **A:** Partial sequences of PCR products of subjects and the secondary structure of the *LRP5* are shown. The heterozygous substitutions of phenylalanine in place of Leu145, methionine in place of Thr244, leucine in place of Pro382, methionine in place of Thr552, and stop codon (TGA) in place of Arg1534 are indicated by arrows. A single base substitution in the 5' splice donor site of Intron 7 (c.1584+1G>A) is also shown. **B:** Single-letter amino acid ClustalW alignments of residues surrounding the four missense mutations. The mutated residues are shaded in the species in which the residue is evolutionarily conserved. Blue, negatively charged residues; red, positively charged residues; gold, hydrophobic residues; black, other residues.

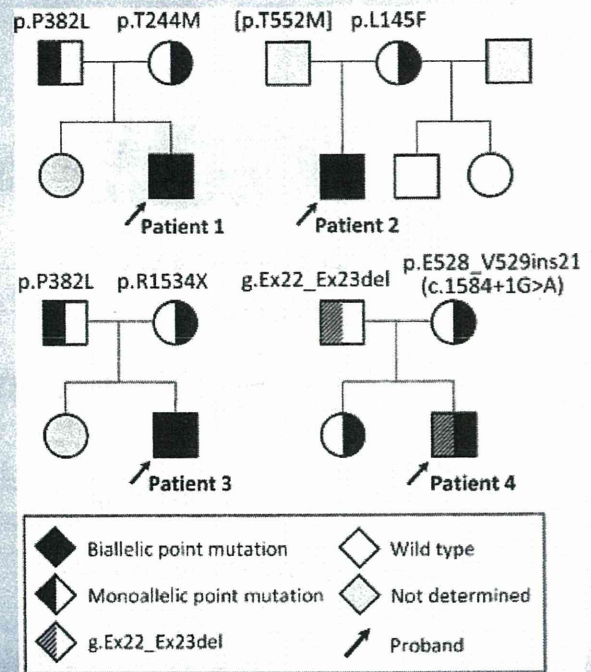


FIG. 2. Pedigrees of the four patients with osteoporosis-pseudoglioma syndrome. Family studies revealed a total of eight individuals having a monoallelic *LRP5* mutation. The genotype of the father of Patient 2 is inferred (indicated by bracket), whereas all others have been determined by molecular analysis. Clinical phenotypes of the monoallelic mutation carriers are summarized in Table I.

4 had only mutated RT-PCR fragment, while the mother had both wild type and mutated fragments. Sequencing of the mutant fragment revealed a 63-bp insertion between exons 7 and 8. The inserted sequence was identical to 5' terminal of intron 7 (data not shown), indicating cryptic splice donor site utilization at 63-bp downstream of the native exon/intron junction. This mutation is predicted to add extra 21 amino acids without termination codon after Glu528 (p.E528_V529ins21).

Identification of a 7.2-kb Microdeletion

We hypothesized that a seemingly normal allele of Patient 4 would not express intact *LRP5* mRNA due to yet unidentified mutation, because only mutated RT-PCR fragment was amplified. The father of Patient 4 had significantly low BMD but had no *LRP5* mutation in the coding regions, implying that the cryptic mutation was transmitted from the father. Candidates for such mutation include a regulatory mutation (e.g., deletion of enhancer element) and a submicroscopic structural mutation (e.g., exon-level deletion/duplication) accompanied by destabilization of mRNA. To explore these types of mutation, we conducted custom-designed oligonucleotide tiling aCGH analyses targeted to a 600-kb genomic region harboring *LRP5*. As a result, we discovered a novel 7.2-kb

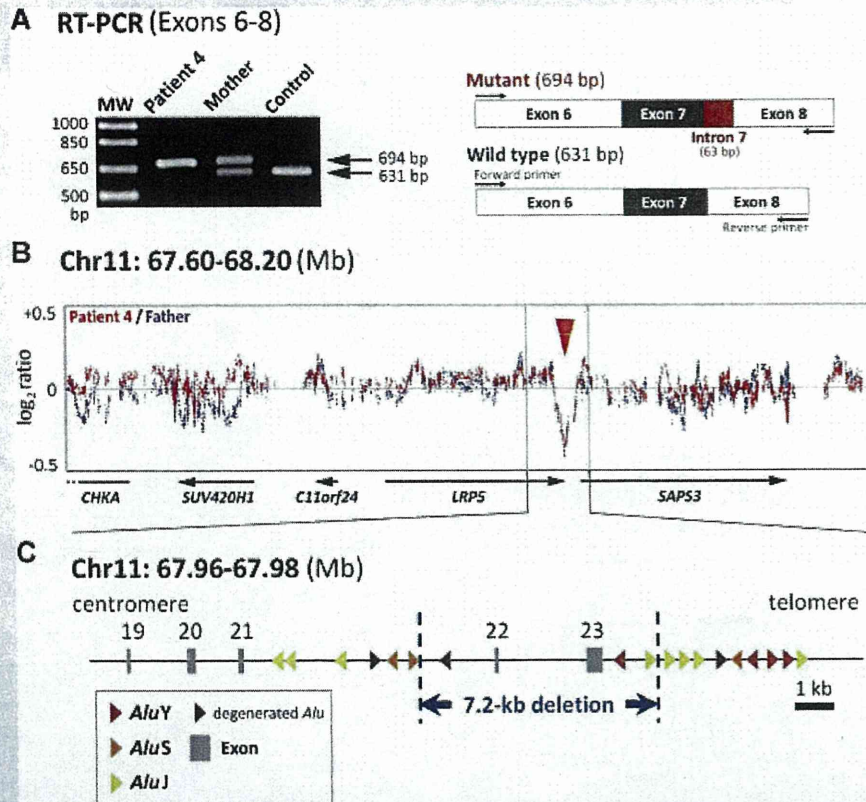


FIG. 3. Identification of a 7.2-kb deletion encompassing exons 22 and 23 of *LRP5*. **A:** Left panel shows an agarose gel electrophoregram of RT-PCR fragments spanning exons 6–8. Patient 4 and the mother were shown to have mutated PCR fragment (694 bp), which was larger than wild-type one (631 bp). Note that Patient 4 had only mutated fragment. Right panel shows schematic diagram of the RT-PCR fragments. Sequencing of the fragments revealed that the mutant had 63-bp insertion between exons 7 and 8. The inserted sequence was identical to 5' terminal of intron 7. **B:** Oligonucleotide tiling aCGH results for Patient 4 (red dots) and his father (blue dots). Each dot represents moving average (symmetric 50-nearest neighbors) ratio of $\log_2(\text{Cy5}/\text{Cy3})$. To reduce background signal, data were analyzed by subtracting the average of control individuals ($n = 2$). A red arrowhead indicates the deleted region. **C:** A schematic view of chromosome 11q13.2 (physical position, 67.96–67.98 Mb; NCBI Build 36.1, hg18). This region contains exons 19–23 of *LRP5*, and a total of 18 *Alu* repeats (red, *AluY*; orange, *AluS*; yellow, *AluJ*; brown, degenerated *Alu*). Deletion breakpoints were determined by PCR and sequencing with a deleted region-specific primer pair.

microdeletion encompassing exons 22 and 23 (Fig. 3B; designated g.Ex22_Ex23del in this report). Sequence analysis of the centromeric and telomeric boundaries revealed that the breakpoints were present in the *AluS* and *AluJ* regions, respectively, showing 83% homology [chr11: g.(67967534_67967551)_(67974756_67974774-67974774)del](NCBI Build 36.1, hg18) (Fig. 3C). This *Alu*–*Alu* recombination indicates an unequal crossing-over in the father or an ancestor. This deletion was absent in the mother, sister, and 100 control individuals.

DISCUSSION

We have reported on four OPS patients with biallelic *LRP5* mutations. Various types of mutations were observed, including four missense mutations (p.L145F, p.T244M, p.P382L, and p.T552M), one nonsense mutation (p.R1534X), one splice site mutation (c.1584+1G>A), and one multi-exon deletion (g.Ex22_Ex23del).

The p.L145F has been described in a Japanese patient with autosomal-dominant FEVR with osteopenia [Qin et al., 2005] but has not been observed among OPS patients. To our knowledge, p.L145F is the first mutation that causes both OPS and FEVR. The mother of Patient 2 was heterozygous for p.L145F and had low BMD, but had no ocular phenotype (Table I). It is not surprising, because the majority of family members of OPS patients (monoallelic *LRP5* mutation carriers) did not have ocular phenotype in the previous large-scale study [Ai et al., 2005]. Low penetrance of the ocular phenotype in monoallelic mutation carriers would explain those observations. Phenotype of FEVR is generally variable [Warden et al., 2007], although no data taking individual genotypes into account have been available so far.

Two novel missense mutations, namely p.P382L and p.T552M, are located in the second YWTD-EGF-like domain. Although we did not conduct in vitro functional analyses to verify loss of function of them, we believe that these mutations are pathological, because

(1) the second YWTD-EGF-like domain is the most common site of inactivating *LRP5* mutations [Ai et al., 2005; Qin et al., 2005]; (2) Pro382 and Thr552 are highly conserved residues; and (3) structures of the side chains are altered considerably. As for p.P382L, detection in two unrelated OPS patients is additional evidence.

The most remarkable finding of the present study is identification of a 7.2-kb microdeletion. This mutation was undetectable by standard PCR-based mutation screening but could be detected by oligonucleotide tiling aCGH analyses. To our knowledge, this is one of the smallest deletions identified by aCGH-based analyses. The deletion encompasses exons 22 and 23 of *LRP5* and would impair mRNA expression, because exon 23 (the last exon) has polyadenylation signal that is required for mRNA stabilization. In OPS patients, detecting only one mutation is not uncommon [Ai et al., 2005]. Exon-level deletion/duplication mediated by *Alu*-*Alu* recombination, which was observed by us and by Chung et al. [2009], would be a source of cryptic mutations in a subset of patients. Extensive screening for submicroscopic structural mutations will be required to draw conclusions. Several methods are available. As Chung et al. pointed, multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) is one possibility. However, although MLPA can find exon-level dosage changes reliably, it cannot detect mutations occurring in noncoding regions (e.g., promoter and enhancer) as well as balanced structural mutations (e.g., inversion). As for detection of mutations located in noncoding regions, oligonucleotide tiling aCGH seems to be an attractive alternative. Previous commercially available aCGH-based approaches, including bacterial artificial chromosome aCGH and genome-wide oligonucleotide aCGH, have relatively low resolution (typically >100 kb), and thus are unsuitable for detecting exon-level structural changes [Zhang et al., 2008]. This limitation can now be overcome by custom-designed oligonucleotide tiling aCGH, which has near-kilobase resolution. A major future challenge would be detection of balanced structural mutations (e.g., exon-level inversion), which are undetectable by MLPA or oligonucleotide tiling aCGH. RNA analyses, such as RT-PCR, might detect a part of such mutations, however, those analyses cannot detect mutations that abolish mRNA expression (e.g., mutation accompanied by nonsense-mediated mRNA decay). As target of genome analyses (MLPA and oligonucleotide tiling aCGH) and RNA analyses differs, these methods would work complementarily in detecting cryptic structural mutations. Therefore, detection power will be maximized if they are applied in combination as we successfully experienced.

To conclude, we described four OPS patients who had various types of *LRP5* mutations. Our observations provide not only insights into structure–function relationship of *LRP5*, but also exemplify a novel approach for detecting cryptic structural mutations using oligonucleotide tiling aCGH.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Fumiko Kato for technical assistance. We thank Hidenori Sato, Noriko Ito, and Miho Ishii (DNA Chip Research, Inc., Yokohama, Japan) for help with the aCGH analyses. We also thank Prof. Takao Takahashi for fruitful discussion.

REFERENCES

- Ai M, Heeger S, Bartels CF, Schelling DK. 2005. Clinical and molecular findings in osteoporosis-pseudoglioma syndrome. *Am J Hum Genet* 77:741–753.
- Barrett MT, Scheffer A, Ben-Dor A, Sampas N, Lipson D, Kincaid R, Tsang P, Curry B, Baird K, Meltzer PS, Yakhini Z, Bruhn L, Laderman S. 2004. Comparative genomic hybridization using oligonucleotide microarrays and total genomic DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:17765–17770.
- Chung BD, Kayserili H, Ai M, Freudenberg J, Uzumcu A, Uyguner O, Bartels CF, Honing S, Ramirez A, Hanisch FG, Nurnberg G, Nurnberg P, Warman ML, Wollnik B, Kubisch C, Netzer C. 2009. A mutation in the signal sequence of *LRP5* in a family with an osteoporosis-pseudoglioma syndrome (OPPG)-like phenotype indicates a novel disease mechanism for trinucleotide repeats. *Hum Mutat* 30:641–648.
- Cummings SR, Melton LJ. 2002. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 359:1761–1767.
- de Smith AJ, Tsalenko A, Sampas N, Scheffer A, Yamada NA, Tsang P, Ben-Dor A, Yakhini Z, Ellis RJ, Bruhn L, Laderman S, Froguel P, Blakemore AI. 2007. Array CGH analysis of copy number variation identifies 1284 new genes variant in healthy white males: Implications for association studies of complex diseases. *Hum Mol Genet* 16:2783–2794.
- Frontali M, Stomeo C, Dallapiccola B. 1985. Osteoporosis-pseudoglioma syndrome: Report of three affected sibs and an overview. *Am J Med Genet* 22:35–47.
- Gong Y, Slee RB, Fukai N, Rawadi G, Roman-Roman S, Reginato AM, Wang H, Cundy T, Glorieux FH, Lev D, Zacharin M, Oexle K, Marcelino J, Suwairi W, Heeger S, Sabatakos G, Apte S, Adkins WN, Allgrove J, Arslan-Kirchner M, Batch JA, Beighton P, Black GC, Boles RG, Boon LM, Borrone C, Brunner HG, Carle GF, Dallapiccola B, De Paepe A, Floege B, Halfhide ML, Hall B, Hennekam RC, Hirose T, Jans A, Juppner H, Kim CA, Keppeler-Noreuil K, Kohlschuetter A, LaCombe D, Lambert M, Lemyre E, Letteboer T, Peltonen L, Ramesar RS, Romanengo M, Somer H, Steichen-Gersdorf E, Steinmann B, Sullivan B, Superti-Furga A, Swoboda W, van den Boogaard MJ, Van Hul W, Vikkula M, Votruba M, Zabel B, Garcia T, Baron R, Olsen BR, Warman ML. 2001. LDL receptor-related protein 5 (*LRP5*) affects bone accrual and eye development. *Cell* 107:513–523.
- Jiao X, Ventruto V, Trese MT, Shastry BS, Hejtmancik JF. 2004. Autosomal recessive familial exudative vitreoretinopathy is associated with mutations in *LRP5*. *Am J Hum Genet* 75:878–884.
- Koay MA, Woon PY, Zhang Y, Miles LJ, Duncan EL, Ralston SH, Compston JE, Cooper C, Keen R, Langdahl BL, MacLelland A, O'Riordan J, Pols HA, Reid DM, Uitterlinden AG, Wass JA, Brown MA. 2004. Influence of *LRP5* polymorphisms on normal variation in BMD. *J Bone Miner Res* 19:1619–1627.
- Koller DL, Ichikawa S, Johnson ML, Lai D, Xuei X, Edenberg HJ, Conneally PM, Hui SL, Johnston CC, Peacock M, Foroud T, Econs MJ. 2005. Contribution of the *LRP5* gene to normal variation in peak BMD in women. *J Bone Miner Res* 20:75–80.
- Mizuguchi T, Furuta I, Watanabe Y, Tsukamoto K, Tomita H, Tsujihata M, Ohta T, Kishino T, Matsumoto N, Minakami H, Niikawa N, Yoshiura K. 2004. *LRP5*, low-density-lipoprotein-receptor-related protein 5, is a determinant for bone mineral density. *J Hum Genet* 49:80–86.
- Nishiyama S, Kiwaki K, Inomoto T, Seino Y. 1999. Bone mineral density of the lumbar spine and total body mass in Japanese children and adolescents. *J Jpn Pediatr Soc* 103:1131–1138.
- Perry GH, Ben-Dor A, Tsalenko A, Sampas N, Rodriguez-Revenga L, Tran CW, Scheffer A, Steinfeld I, Tsang P, Yamada NA, Park HS, Kim JJ, Seo JS, Yakhini Z, Laderman S, Bruhn L, Lee C. 2008. The fine-scale and complex

- architecture of human copy-number variation. *Am J Hum Genet* 82: 685–695.
- Pinson KI, Brennan J, Monkley S, Avery BJ, Skarnes WC. 2000. An LDL-receptor-related protein mediates Wnt signalling in mice. *Nature* 407: 535–538.
- Qin M, Hayashi H, Oshima K, Tahira T, Hayashi K, Kondo H. 2005. Complexity of the genotype–phenotype correlation in familial exudative vitreoretinopathy with mutations in the LRP5 and/or FZD4 genes. *Hum Mutat* 26:104–112.
- Richards JB, Rivadeneira F, Inouye M, Pastinen TM, Soranzo N, Wilson SG, Andrew T, Falchi M, Gwilliam R, Ahmadi KR, Valdes AM, Arp P, Whittaker P, Verlaan DJ, Jhamai M, Kumanduri V, Moorhouse M, van Meurs JB, Hofman A, Pols HA, Hart D, Zhai G, Kato BS, Mullin BH, Zhang F, Deloukas P, Uitterlinden AG, Spector TD. 2008. Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fractures: A genome-wide association study. *Lancet* 371:1505–1512.
- Tamai K, Semenov M, Kato Y, Spokony R, Liu C, Katsuyama Y, Hess F, Saint-Jeannet JP, He X. 2000. LDL-receptor-related proteins in Wnt signal transduction. *Nature* 407:530–535.
- Toomes C, Bottomley HM, Jackson RM, Towns KV, Scott S, Mackey DA, Craig JE, Jiang L, Yang Z, Trembath R, Woodruff G, Gregory-Evans CY, Gregory-Evans K, Parker MJ, Black GC, Downey LM, Zhang K, Inglehearn CF. 2004. Mutations in LRP5 or FZD4 underlie the common familial exudative vitreoretinopathy locus on chromosome 11q. *Am J Hum Genet* 74:721–730.
- Urano T, Shiraki M, Ezura Y, Fujita M, Sekine E, Hoshino S, Hosoi T, Orimo H, Emi M, Ouchi Y, Inoue S. 2004. Association of a single-nucleotide polymorphism in low-density lipoprotein receptor-related protein 5 gene with bone mineral density. *J Bone Miner Metab* 22: 341–345.
- van Meurs JB, Rivadeneira F, Jhamai M, Hagens W, Hofman A, van Leeuwen JP, Pols HA, Uitterlinden AG. 2006. Common genetic variation of the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 and 6 genes determines fracture risk in elderly white men. *J Bone Miner Res* 21: 141–150.
- Warden SM, Andreoli CM, Mukai S. 2007. The Wnt signaling pathway in familial exudative vitreoretinopathy and Norrie disease. *Semin Ophthalmol* 22:211–217.
- Wehrli M, Dougan ST, Caldwell K, O’Keefe L, Schwartz S, Vaizel-Ohayon D, Schejter E, Tomlinson A, DiNardo S. 2000. *arrow* encodes an LDL-receptor-related protein essential for Wingless signalling. *Nature* 407:527–530.
- Zhang ZF, Ruivenkamp C, Staaf J, Zhu H, Barbaro M, Petillo D, Khoo SK, Borg A, Fan YS, Schoumans J. 2008. Detection of submicroscopic constitutional chromosome aberrations in clinical diagnostics: A validation of the practical performance of different array platforms. *Eur J Hum Genet* 16:786–792.

第157回 学術集会

フェニルケトン尿症の新しい治療法

—食事療法から薬物療法へ—

大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学分野 教授 新宅治夫

はじめに

フェニルケトン尿症 (PKU) の発見は1934年ノルウェーの医師フェーリングが、尿に独特の臭いのする重度知能障害の姉弟の診察を依頼されたことに始まる。彼はその臭いが重症糖尿病合併時の尿ケトン体 (Ketone bodies) 臭である可能性も考え、当時ケトン体検出に用いられていた塩化第二鉄溶液を加えてみた。ケトン体なら茶褐色に変化するはずであったが、患児の尿は緑色に変化した。驚いた彼は患児の尿を大量に集め精製して、緑色の原因がフェニルピルビン酸であることを確認し報告した。フェニルピルビン酸はケト基 ($>C=O$) を有するケトンであるのでフェニルケトンと呼ばれ、患者はPKUと呼ばれるようになった。その後PKUはフェニルア

ラニン (Phe) 水酸化酵素の先天的な障害により、Pheからチロシンへの代謝が障害され、Phe濃度の上昇のため、精神発達遅滞、痙攣などの中枢神経症状、赤毛、色白などのメラニン欠乏を主徴とする疾患であることが明らかにされた (図1)。なお、患者の尿臭 (ネズミ尿臭、カビ臭と表現される) はフェニル酢酸による。

1953年、ハイデルベルグ大学のビッケル教授はPhe制限食が本症の治療法としてきわめて有効なことを報告したが、知能障害、赤毛などの症状が現れるのは乳児期後半であり、その頃から厳格な食事療法を始めても多少とも脳に障害を残すことは避けられなかった。このため早期発見の重要性が指摘されるようになり、わが国でも1977年から公費による新

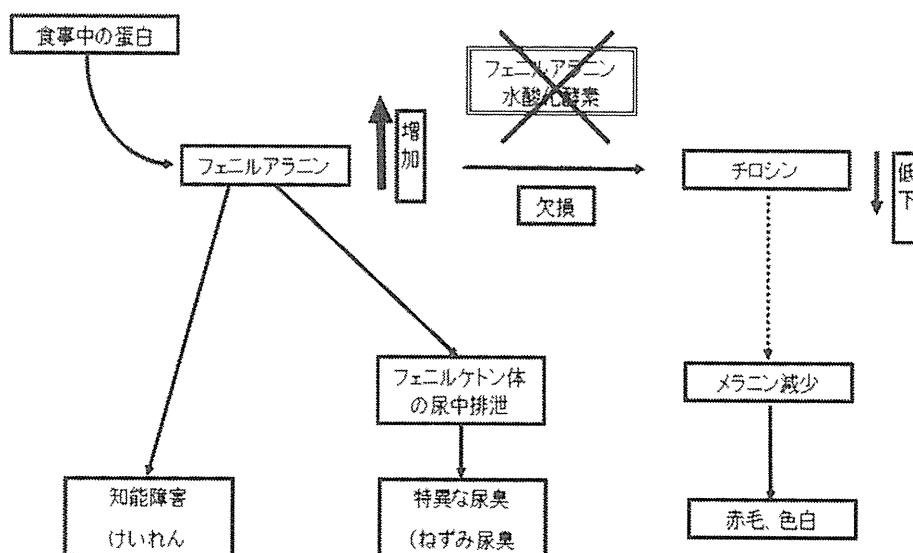


図1 フェニルケトン尿症における代謝

生児マス・スクリーニングが開始され、PKUの早期発見・早期治療が行われている。PKUは食事療法で知能障害を予防できることが明らかにされた最初の疾患である。

異型PKUの発見

1975年英国の女性医師スミスらは食事治療に反応せず中枢神経症状が進行する患者を発見し、異型PKUとして報告した。スミス医師はフェニルアラニン水酸化反応にはフェニルアラニン水酸化酵素 (PAH) だけでなく水素の供与体として補酵素テトラヒドロbiopterin (BH4) が必要であることに気づいてこの補酵素の代謝異常が異型PKUの原因であることを報告した。その中で、BH4が芳香族アミノ酸水酸化反応に共通の補酵素であるためPAHの障害による高Phe血症と同時に、チロシン水酸化酵素 (TH) とトリプトファン水酸化酵素 (TPH) の障害による神経伝達物質の欠乏が重篤な中枢神経症状を引き起こすこ

とを明らかにし、食事治療とともにこれらの神経伝達物質の前駆体であるL-DOPAと5-ヒドロキシトリプトファン (5-HTP) を投与することで治療できる可能性を示した。早期治療により予後良好であり、現在ではBH4欠損症と呼んでいる (図2)。

BH4欠損症 (異型PKU) の代謝異常については1966年のプテリジン代謝異常症の国際シンポジウムでBH4の代謝に異常があれば芳香族アミノ酸水酸化酵素全般に障害が起こるため、PAHの異常によるPKUに比べて重症の神経症状をきたすことがすでに予測されていた。しかしこのBH4欠損症がスミスらにより始めて報告されるまでに約10年が経過し、この間食事治療だけで中枢神経症状の進行する (異型) PKU患者が適切な治療を受けることはなかった。この10年のブランクを考えると常に最先端の知識をもちそれを日常臨床に取り入れることの重要性を痛感させられる。

このBH4欠損症の治療に開発されたBH4

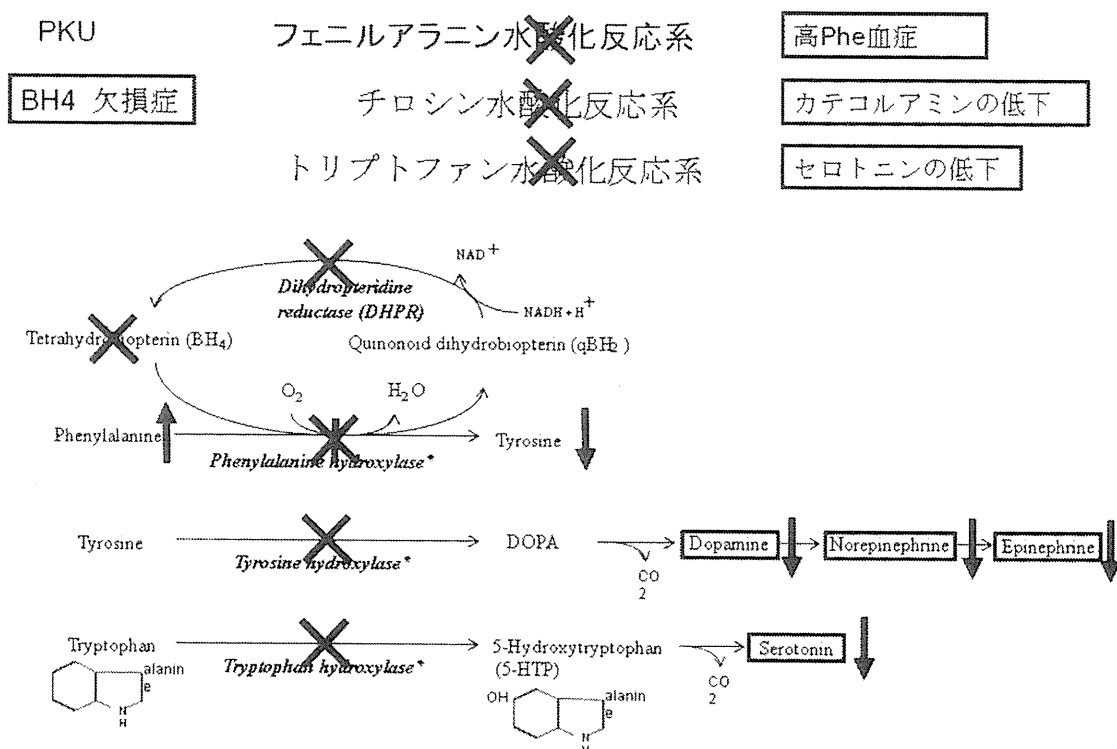


図2 BH4欠損症の代謝

は、実際にBH4欠損症の患児に投与すると数時間で血中Phe値は正常範囲まで低下するが、PAH欠損症であるPKU及び高Phe血症患児に投与しても血中Phe値は全く低下しないことから、BH4欠損症とPAH欠損症の鑑別診断にも経口負荷試験として用いられるようになった(図3)。

BH4反応性高Phe血症の発見

1999年に東北大学のKureらは、BH4経口負荷試験でBH4に反応して血中Phe値が低下するにも拘らず、プテリン分析やDHPR活性の測定でBH4欠損症とは考え難い症例を報告した。2004年著者らはこのような症例では、BH4の内服で食事療法の軽減や、普通食でも

血中Phe値がコントロールできることを報告し、これがBH4反応性高Phe血症、あるいはBH4反応性PAH欠損症とよばれるようになった(図4)。このBH4反応性高Phe血症を的確に診断し安全に治療するために設置された「BH4反応性高Phe血症に関する治療基準設定専門委員会」(以下専門委員会と略)の報告をもとに、病態の解明と診断・治療法の開発が行われるようになった。

1. 病態と頻度

BH4反応性高Phe血症において、BH4がPAH活性を上げるメカニズムの詳細は不明な点も多いが、次のような可能性が示されている。第一にBH4に対する変異PAH蛋白の親和性の低下に起因するMichaelis定数(以下Km値と略)の上昇、第二にBH4がPAH蛋白を安定化し分解から保護することにより活性を上げることなどであるが、その他BH4の効果はPheの濃度依存的にPAHの高次構造に作用

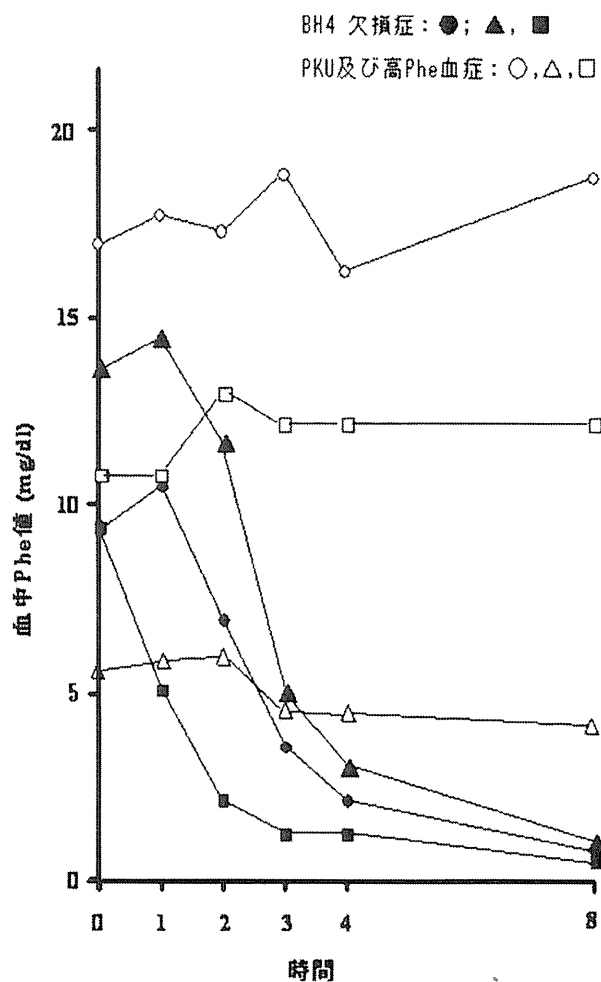


図3 BH4経口負荷試験

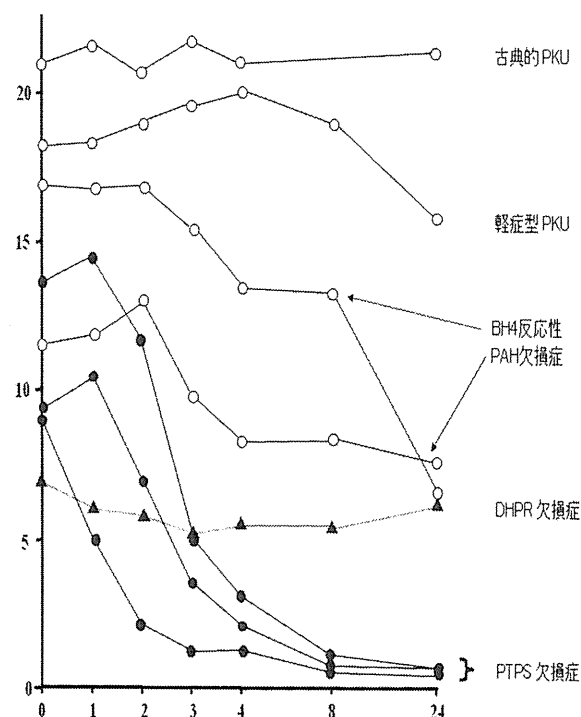


図4 BH4・1回負荷試験

して安定性や活性を上げることが報告されている。いずれにしても細胞内のBH4濃度を上げることで酵素活性が上昇するためには、ある程度の残存活性が認められなければならない。我が国におけるBH4反応性高Phe血症の遺伝子解析では、軽症型の遺伝子変異と考えられるR241CまたはP407S変異が少なくとも一方の対立遺伝子に認められた。このようにBH4反応性が遺伝子異常から推測されることもあるが、生理的な条件下でPAH活性に対するBH4の効果はPheの濃度に依存し複雑に制御されているためBH4反応性を診断するにはBH4の経口負荷試験が不可欠である。日本におけるBH4反応性高Phe血症の頻度は専門委員会が暫定診断基準を決めた2002年以後はPAHの異常が原因の高Phe血症の25%であった。米国で行われた8~49歳（平均20歳）のPKU患者87人に対する多施設間二重盲検法では、44%（18/41）、また欧米で行われた8~48歳（平均21.8歳）の高Phe血症患者490人に対するBH4投与の治験では、BH4反応性高Phe血症の頻度は治療前の血中Phe値により異なり、10mg/dl未満の54%、10~15mg/dlの24%、15~20mg/dlの10%、20mg/dl以上の10%であった。

2. 診断と治療

BH4反応性高Phe血症を診断するためには、高Phe血症の中でピオプテリン代謝に異常がなく、BH4経口負荷試験で血中Phe値が一定以上低下することを証明する必要がある。日本先天代謝異常学会の専門委員会では、通常の高Phe血症のBH4・1回負荷試験において血中Phe値が負荷前値に比べ20%以上低下した患者、あるいはBH4・1回負荷試験でBH4反応性が否定された患者にさらにBH4・1週間投与試験を実施し血中Phe値が負荷前値に比べ30%以上低下した患者をBH4反応性高Phe血症と診断

することとしている。これは診断の精度を高めると同時にBH4投与による治療効果を予測するために行うものである。

特殊ミルク共同安全開発委員会の専門委員会が定めた暫定治療基準によると「普通食下、BH4を原則として1日10mg/kg（分3）を投与し、臨床症状等の観察を行いながら、血中Phe値に応じて治療方法を検討し、1日20mg/kgのBH4投与によっても治療目標とする血中Phe値に到達しない場合は、Phe制限食を併用する」としているが、実際にはBH4の投与量は15~20mg/kgでかなりの症例で食事療法無しでコントロール可能であると考えられる。

安全性の面では、嘔吐がみられたためBH4投与量を減量した1例を除き、临床上特に問題となる症状や臨床検査値の異常な変動等の有害事象は認められなかったと報告されている。

2008年にBH4反応性高フェニルアラニン血症に対する治療薬としてBH4の適応拡大が認められたため、日本先天代謝異常学会では2009年にBH4の適正使用に関する提言を行っている。

おわりに

このように食事治療に代わってBH4の大量投与による薬物治療がPKUの新しい治療法として世界的に注目されている。従来唯一と考えられていた食事治療に対して薬物治療の選択肢が新たに加わることにより、Phe制限食を嫌って血中Phe値をコントロールすることが困難な患児もBH4を併用することにより改善できる可能性が示された。さらに普通食下でBH4単独治療、あるいはBH4の投与でPhe制限食を緩めることができれば、治療のコンプライアンスは著しく改善し、患児だけでなく保護者のQOLも向上することが期待され

る。世界に先駆けて日本で最初に始められた画期的な治療法であり、厳密なコントロールが要求される乳幼児期のBH4療法は必須の治療法と考えられるが、新生児期には慎重な使用が求められている。

シンポジウム：新しい治療法の適応とガイドライン

BH4 反応性 PAH 欠損症

新宅 治夫

大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学

要旨 テトラヒドロビオプテリン (BH4) 反応性高フェニルアラニン血症は、フェニルアラニン水酸化酵素 (PAH) の異状に基づく高フェニルアラニン血症であるが、PAH の補酵素 BH4 の経口投与により血中フェニルアラニン値 (血中 Phe 値) の低下する疾患で、BH4 反応性 PAH 欠損症または BH4 反応性軽症 PKU と呼ばれることもある。日本では 2008 年に BH4 反応性高 Phe 血症に対して BH4 療法の適応拡大が承認された。診断は新生児マススクリーニングでビオプテリン代謝に異常がなく BH4・1 回負荷試験で血中 Phe 値が負荷前値の 20% 以上の低下を認めた場合、また BH4・1 週間投与試験で血中 Phe 値が負荷前値の 30% 以上低下することが必要である。治療は BH4 の内服だけで食事治療の軽減または中止できることが特徴である。BH4 反応性高 Phe 血症の診断と BH4 療法は、事前に BH4 専門委員会の承認を得ることが必要である。

Key words: テトラヒドロビオプテリン, フェニルケトン尿症, BH4 反応性軽症 PKU, 高フェニルアラニン血症, フェニルアラニン水酸化酵素

序 言

テトラヒドロビオプテリン (以下 BH4) 反応性高フェニルアラニン血症 (以下 BH4 反応性高 Phe 血症) は、フェニルアラニン水酸化酵素 (PAH) の異状に基づく高フェニルアラニン血症 (以下高 Phe 血症) であるが、補酵素 BH4 の経口投与により血中フェニルアラニン値 (以下血中 Phe 値) の低下する疾患で、BH4 の代謝に異常のある BH4 欠損症¹⁾ と区別するため、BH4 反応性 PAH 欠損症または BH4 反応性軽症フェニルケトン尿症 (PKU) と呼ばれることもある²⁾ (図 1)。2002 年に特殊ミルク事務局に「BH4 反応性高フェニルアラニン血症に関する治療基準設定専門委員会」が設置され、暫定診断および治療基準が発表された³⁾。それまでに発見されていた日本人 12 人の患者の長期治療経過を詳細に検討した報告⁴⁾ を基に米国で臨床治験が始まり、2007 年 12 月に世界で初めて BH4 反応性高 Phe 血症の BH4 療法が承認され、この米国の治験データを基に日本でも 2008 年 7 月に世界で 2 番目に BH4 反応性高 Phe 血症に対し

て BH4 療法の適応拡大が承認された。さらにヨーロッパでも 2008 年 12 月に承認された。これで BH4 療法は BH4 欠損症だけでなく PAH 欠損症の治療にも全世界で使用されるようになった。BH4 の薬品名はサプロプテリン塩酸塩で日本ではビオプテン顆粒 2.5% (BIOPTEN®)、欧米ではクバン錠 (KUVAN®) の商品名で販売されている。これを踏まえて日本先天代謝異常学会では BH4 反応性高 Phe 血症の診断と治療に関する専門委員会 (以下 BH4 委員会) を設置し、BH4 の適正使用に関する提言を発表した⁵⁾。

診断と治療法

1. 診断

新生児マススクリーニングでビオプテリン代謝に異常がなく BH4・1 回負荷試験で血中 Phe 値が負荷前値の 20% 以上の低下を認めた場合、また BH4・1 回負荷試験で診断されなかった場合でも BH4・1 週間投与試験で血中 Phe 値が負荷前値の 30% 以上低下した場合は BH4 反応性高 Phe 血症と診断される。

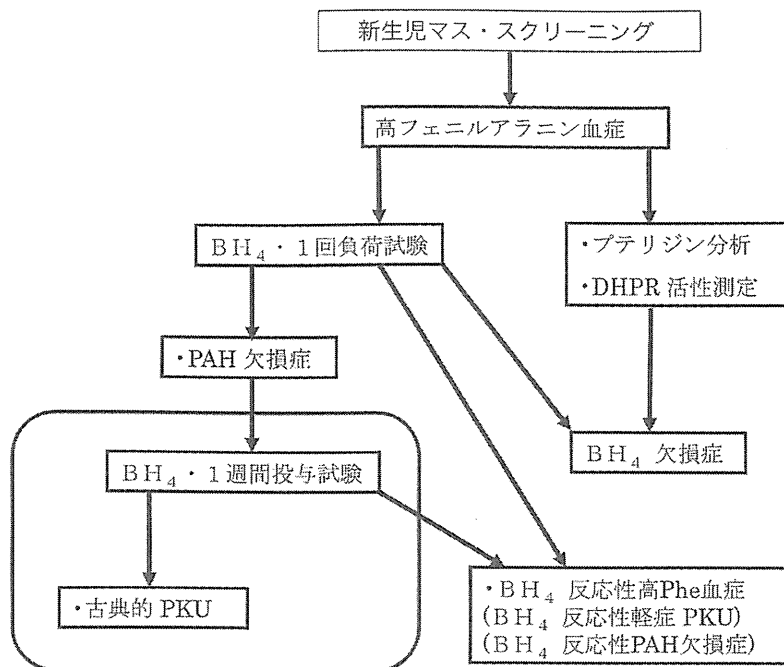


図1. 新生児・マススクリーニングにおける高フェニルアラニン血症の鑑別診断 (BH₄・1回負荷試験は乳児期以後に行う)

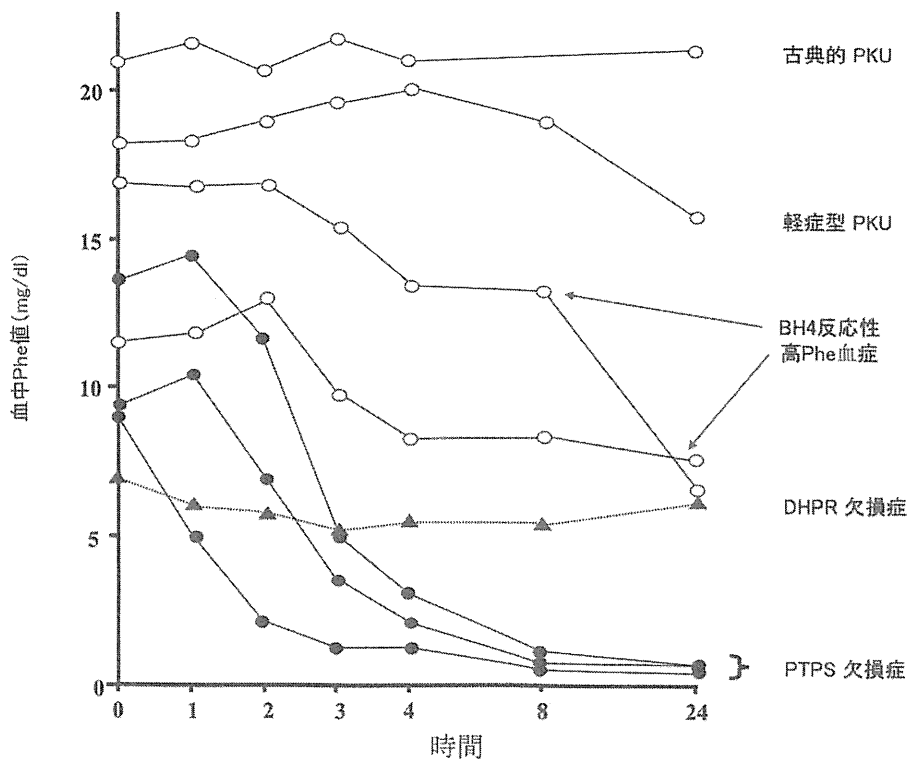


図2. BH₄・1回負荷試験におけるBH₄欠損症、PAH欠損症、BH₄反応性高Phe血症の血中Phe値の変化

(1) BH₄・1回負荷試験

新生児・マススクリーニングでは生後5日目にガスリーろ紙血を採取しPhe値が2mg/dl以上を高Phe血症として再検査を行い再び乾燥濾紙血で

Phe値が2mg/dlを越えた場合、精密検査のため医療機関に紹介される。精密検査では全例に血漿アミノ酸分析とプテリジン分析さらに乾燥濾紙血でジヒドロプテリジン還元酵素 (DHPR) 活性の測

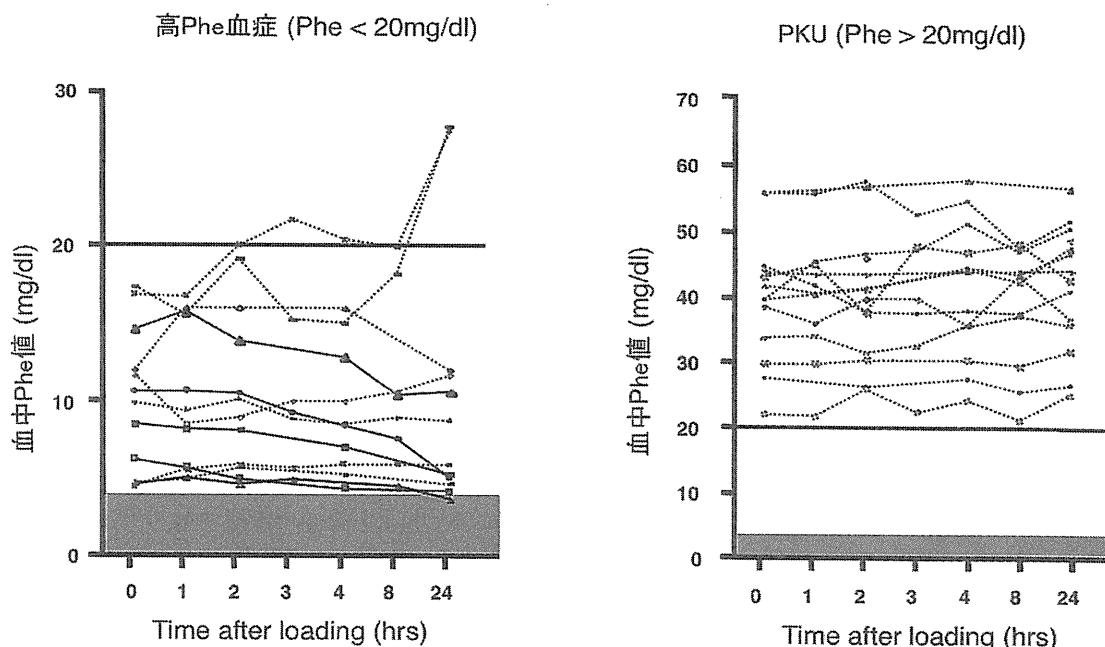


図3. BH4・1回負荷試験における古典的フェニルケトン尿症 (PKU: 右図) と高フェニルアラニン血症 (高Phe血症: 左図) の血中Phe値の変化

定を行い、BH4欠損症とPAH欠損症の鑑別が行われている。この新生児・マススクリーニングの鑑別検査において、負荷前の血中Phe値が6mg/dl以上の場合、BH4・1回負荷試験 (BH4: 10mg/kg) を行う。BH4欠損症 (DHPR欠損症以外) では負荷後数時間で血中Phe値は2mg/dl未満となるが、PAH欠損症ではほとんど変化しない (図2)。しかし、24時間以内に負荷前値から血中Phe値が20%以上低下する場合、2002年の暫定診断基準ではBH4反応性高Phe血症と診断している (図2)。これまで新生児・マススクリーニングで発見された高Phe血症におけるBH4・1回負荷試験では負荷前の血中Phe値が20mg/dl以上の古典的PKUではほとんど低下が認められなかったが (図3右)、負荷前の血中Phe値が5~20mg/dlの高Phe血症では2002年の暫定診断基準である20%以上の低下が認められた (図3左: 実線)。

しかし、新生児期にBH4欠乏症を鑑別するために行っているBH4・1回負荷試験ではすべての反応性患児を拾い上げることは不可能であるため、2009年の暫定指針の中では「BH4・1週間投与試験 (BH4: 20mg/kg/day) を行い血中Phe値が負荷前値の30%以上低下することで反応性を診断す

る必要がある」としている。

(2) BH4・1週間投与試験

新生児・マススクリーニングで行われたBH4・1回負荷試験で血中Phe値の低下が認められなかった高Phe血症だけでなく古典的PKUでもBH4反応性高Phe血症の診断のためのBH4・1週間投与試験を受けることができる。BH4・1週間投与試験ではBH4の投与法は1日量を1回~3回に分けて投与しても結果は同様であるが、2回に分けて投与することが一般的である。またBH4の投与は食事との関係はなく食前でも食後でも問題無く投与できるが乳幼児の場合食前に投与されることが多い。採血も原則早朝空腹時としているが、乳幼児の場合食後の採血でも結果に大きな影響はない。BH4・1週間投与試験では投与前と投与4日目と7日目の血中Phe値を測定し判定するが、BH4反応性高Phe血症ではすでに4日目で有意な血中Phe値の低下が認められることが多い (図4)。

II. 治療

BH4反応性高Phe血症は、BH4欠損症と異なり神経伝達物質補充療法は必要なく、また古典的フェニルケトン尿症と異なり、BH4の内服で食事療法の軽減や、普通食でも血中Phe値がコントロール

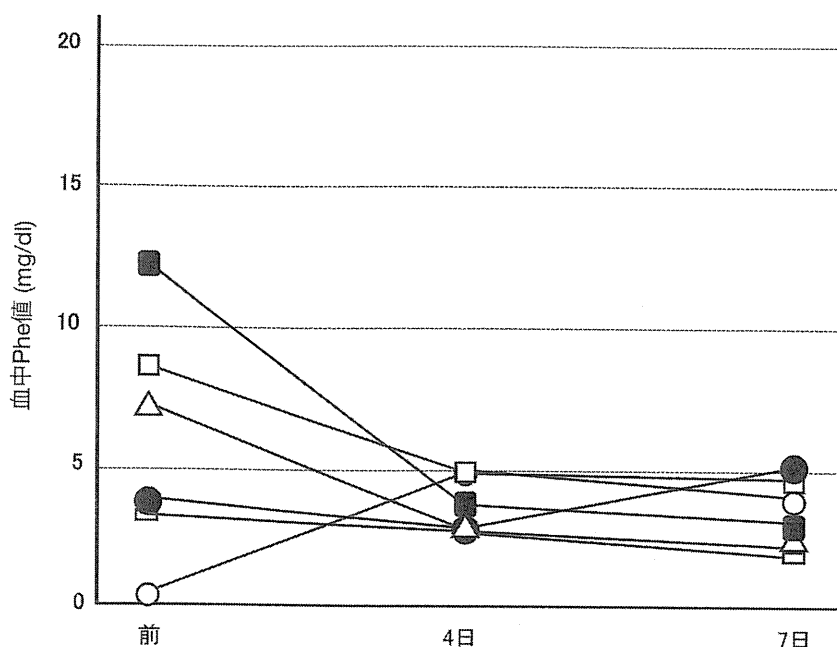


図 4. BH4・1週間投与試験におけるBH4反応性高Phe血症の血中Phe値の変化

できることが特徴である。2002年の暫定治療指針では、「普通食でBH4を10mg/kgで開始し、血中Phe値を治療指針の範囲にコントロールできるようにBH4投与量を適宜増減する。ただし、20mg/kgを上限としそれ以上必要な場合はBH4を増量せずにPhe制限食を併用する。」としている。しかしBH4・1週間投与試験の4日目の血中Phe値でBH4反応性高Phe血症の診断基準を満たしている場合、7日目以後もBH4を投与し徐々に減量して至適量を決定することが勧められる。BH4反応性高Phe血症と診断された場合十分量のBH4を投与すればほとんどの症例は食事治療なしで血中Phe値のコントロールが可能である。

考 察

BH4反応性高Phe血症に対するBH4療法は4歳未満の治療経験が少ないため、4歳未満の治療には家族への十分な説明と同意が必要である。このため日本先天代謝異常学会では、新生児期を過ぎれば4歳未満でも十分な説明を行い家族の同意を得た上でBH4・1週間投与試験を行なうことは可能であるが、事前にBH4専門委員会の承認を得ることが必要であるとしている。またBH4反応性

高Phe血症の診断にはBH4・1週間投与試験が必要であるとされているが、BH4・1回負荷試験で負荷後24時間以内に血中Phe値が4mg/dl以下に低下しているか、あるいは低下率が30%以上の場合、その結果を添えて申請すればBH4専門委員会の判定でBH4・1週間投与試験なしでもBH4反応性高Phe血症と診断されることもある。

BH4反応性高Phe血症のBH4療法について、BH4専門委員会は2009年の暫定指針で、「新生児スクリーニングで発見された新規患者にはPhe除去ミルクを用いた食事療法を優先させるべきである。またBH4反応性高フェニルアラニン血症患者であってもサプロプロテリン塩酸塩単独で血中フェニルアラニン濃度を基準値以下に下げることが困難な場合には、食事療法と併用するのが原則である。」としている。このため、BH4療法は離乳食を開始し自然蛋白の制限が必要となる乳児期後半に家族の希望があればBH4・1週間投与試験を行ってから始めることが望ましいと考えられる。そして投与試験4日目の血中Phe値がBH4反応性高Phe血症の診断基準を満たしている場合、BH4・1週間投与試験終了後もBH4の投与量を中止せずに20mg/kgで継続し目的とする血中Phe値の

維持範囲にコントロールできる状態を保ちながらゆっくりと減量していくことが重要である。BH4・1週間投与試験でBH4反応性高Phe血症と診断された症例では、このような手順を踏めば原則として普通食でもBH4単独で治療できるはずである。これは欧米との診断法の違いによるもので、欧米では食事治療を行いながらBH4を併用し、1日のBH4投与量を10mg/kgとし1ヶ月間継続投与して血中Phe値の安定性により治療効果を判定し、十分でない場合は20mg/kgに増量した上でさらに1ヶ月間継続投与して治療効果を判定することになっている⁶⁾。しかし日本ではまず治療食を中止し、普通食でBH4投与試験を行いBH4反応性高Phe血症と診断された患者にのみBH4療法が認められることになっているからである。

このように欧米に比べて日本でのBH4反応性高Phe血症の診断基準は厳しいため古典的PKUの患者にBH4療法が適応されることは当面少ないと思われるが、今後欧米の治療実績を踏まえて現在の暫定的な診断と治療の基準を見直すことも必要と考えられる。また小児慢性特定疾患の適応がなくなる成人以後の治療費について高額医療費補助だけでは患者負担が大きすぎるため難病の指定を受けるなどの経済的・社会的な支援の問題も早急に対応することが望まれる。

結 論

サプロプテリン塩酸塩がBH4反応性高Phe血症に適応追加されたことにより、今後は血中Phe濃度のコントロールの改善、食事療法の緩和などが期待される。PKUに対する食事療法はPhe除去のため自然蛋白を制限し不足する蛋白質を人工的なアミノ酸で補うという、普通食に比べてきわめて不自然な栄養法であり、この従来からのPhe制限食からの開放は、患者・家族にとって普通食が食べられるという心理的な利点だけでなく、BH4併用により多くの自然蛋白摂取が可能となり、栄養学的な面からも制限食療法に比べて大きな利点があ

ると考えられる。

文 献

- 1) Shintaku H.: Disorders of tetrahydrobiopterin metabolism and their treatment. *Curr. Drug. Metab.* 3:123-31, 2002
- 2) Kure S., Hou D.C., Ohura T., Iwamoto H., Suzuki S., Sugiyama N., Sakamoto O., Fujii K., Matsubara Y. and Narisawa K.: Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *J. Pediatr.* 135:375-378, 1999
- 3) 松原洋一、呉 繁夫、大浦敏博、大和田操、鈴木健、杉山成司、新宅治夫、岡野善行、佐倉伸夫、芳野信、吉田一郎、北川照男、多田啓也、大浦敏明、青木菊麿：テトラヒドロビオプテリン（BH4）反応性高フェニルアラニン血症に関する治療基準設定専門委員会の研究報告2、特殊ミルク情報 38：44-59, 2002
- 4) Shintaku H., Kure S., Ohura T., Okano Y., Ohwada M., Sugiyama N., Sakura N., Yoshida I., Yoshino M., Matsubara Y., Suzuki K., Aoki K. and Kitagawa T.: Long-Term Treatment and Diagnosis of Tetrahydrobiopterin-Responsive Hyperphenylalaninemia with a Mutant Phenylalanine Hydroxylase Gene. *Pediatr. Res.* 55:425-430, 2004
- 5) 大浦敏博、新宅治夫、高柳正樹、呉繁夫、大和田操、松原洋一、芳野信、岡野善行、伊藤哲哉、奥山虎之、中村公俊、松尾雅文、遠藤文夫：テトラヒドロビオプテリン（BH4）反応性高フェニルアラニン血症に対する天然型BH4製剤塩酸サプロプテリンの適正使用に関する暫定指針、日小児会誌 113：649-653, 2009
- 6) Nenad Blau: Sapropterin dihydrochloride for phenylketonuria and tetrahydrobiopterin deficiency. *Expert Rev. Endocrinol. Metab.* 5: 483-494, 2010

検体検査の選択と解釈

夏目 淳*

けいれん重積を起こした患者が搬送された際には、救急処置，問診，診察を行い鑑別診断を考えたうえで画像検査と合わせて検体検査を行う。けいれん重積後の急性期における検体検査の目的は患者の状態把握と原因検索である。疑われる原因によって必要な検査も異なってくる。後に必要となる検査がある場合もあるので、けいれん発作の原因がはっきりしない場合には、急性期に採取した血液，尿，髄液などの保存をしておくことも重要である。

表 1 けいれん重積における検体検査

・血液スクリーニング検査 末梢血，生化学 (AST, ALT, LDH, CK など)，電解質 (Na, K, Cl, Ca, Mg)，血糖，CRP
・代謝異常症が疑われる場合 アンモニア，ガス分析，乳酸，ピルビン酸，アミノ酸分析，尿中有機酸分析
・中枢神経感染症が疑われる場合 髄液検査
・出血傾向や頭蓋内出血がある場合 PT, APTT, フィブリノーゲン, FDP, D ダイマー
・薬物血中濃度 抗てんかん薬，テオフィリンなど

I 救急におけるスクリーニング検査

最初のスクリーニング検査として，末梢血で血算，生化学検査が行われる (表 1)。

1. 血算

白血球の上昇は細菌感染を疑わせる。ただし，けいれん重積によるストレスでも白血球は上昇する場合があるため，けいれん発症前からの発熱や感染症状の有無，および CRP など他の炎症反応も参考にすることがある。貧血や血小板減少がある場合は頭蓋内出血，DIC などの可能性も考慮される。

2. 血液生化学，電解質，血糖，炎症反応

低 Na，高 Na，低 Ca，低血糖などはけいれん発作の原因となる。また，急性脳症に伴う抗利尿

ホルモン不適合分泌症候群 (SIADH) や cerebral salt wasting syndrome (CSWS) により低 Na 血症が起こる場合もある。可逆性脳梁膨大部病変を有する脳炎脳症 (MERS) では低 Na 血症が多いことが報告されている¹⁾。ウイルス性脳症においては AST, ALT, LDH や血糖の上昇がみられる場合がある。細菌感染では CRP の上昇がみられるが，細菌性髄膜炎が発熱時けいれんで発症した場合に初回検査ではまだ CRP は上昇していないことも多いので CRP が陰性でも注意を要する。

3. 血液ガス分析

血液ガス分析は呼吸状態や代謝性アシドーシスの評価に用いられる。先天代謝異常症が疑われる場合にはとくに必要である。血液ガス分析器には同時に乳酸を計測できるものがあり，可能ならそれをを用いると有用である。

4. アンモニア

高アンモニア血症はアミノ酸代謝異常症，有機酸代謝異常症，Reye 症候群などで認められる。ただし，抗てんかん薬のバルプロ酸を内服してい

Natsume Jun

* 名古屋大学医学部小児科

[〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65]

TEL 052-744-2294 FAX 052-744-2974

E-mail: junnatsu@med.nagoya-u.ac.jp

る場合は日頃から血中アンモニアが上昇している場合があるので、急性の所見なのか判断には注意がある。

5. 凝固機能

出血傾向、頭蓋内出血などがみられれば検査が必要である。細菌性髄膜炎など重症細菌感染では DIC を合併している場合がある。また、血友病、胆道閉鎖症など出血素因がある患者が頭蓋内出血によるけいれん発作で発見される場合がある。

6. 髄液検査

発熱や感染を疑う症状があり、中枢神経感染症の可能性があれば緊急で行う必要がある。細胞数、蛋白、糖、細菌培養などの評価を行う。ただし、脳腫瘍や脳出血、高度脳浮腫がある場合は腰椎穿刺によって脳ヘルニアが起こることがあるため、まえもって画像検査を行わなくてはならない。血液検査で乳酸の上昇が認められミトコンドリア異常症などが疑われる場合は、血中の乳酸は駆血などで容易に上昇するが髄液の乳酸は比較的安定しているので髄液中の乳酸、ピルビン酸を測定することが有用である。

7. 尿検査

尿ケトンの確認や、尿路感染症の確認をする場合には一般尿、培養検査が行われる。有機酸代謝異常症の鑑別のためには、急性期に採取し保存しておいた尿を用いての有機酸分析も必要な場合がある。

8. 薬物血中濃度

てんかんで抗てんかん薬を内服している患者では、薬物血中濃度を計測しておくとうまくある場合がある。以前と比べて血中濃度が高度に低下している場合は、内服をしていなかった可能性も考えられる。また、テオフィリンなどけいれんを誘発する可能性がある薬を内服している場合には血中濃度を計測すると参考になる。

表 2 治療可能な代謝性疾患によるてんかん：10 の疾患

- 1) GLUT1 異常症
- 2) DEND 症候群
- 3) ピリドキシン (ビタミン B₆) 依存性けいれん
- 4) 先天性高インスリン・高アンモニア血症 (congenital hyperinsulinism with hyperammonemia : HI/HA)
- 5) 脳葉酸欠乏症 (cerebral folate deficiency)
- 6) セリン合成異常症
- 7) クレアチン合成異常症
- 8) BH₄ 欠損症
- 9) ビオチニダーゼ欠損症
- 10) hyperekplexia (startle disease, びっくり病)
←てんかんと鑑別が必要

(Pearl²⁾, 2009)

II さるなる鑑別診断のための検体検査

けいれんなどの神経症状がみられ、画像や前述の検査などで診断がつかない場合、代謝性疾患などまれな疾患の鑑別のための検体検査が必要になる。前項で述べた血液ガス分析、血糖、アンモニア以外に、乳酸、ピルビン酸、血漿・尿中アミノ酸分析、尿中有機酸などを行い鑑別を進める。

Pearl は 2009 年のアメリカてんかん学会および 2010 年の乳幼児けいれん研究会において、「治療可能な代謝性疾患によるてんかん」として 10 の疾患をあげている²⁾(表 2)。いずれも重要な疾患であり、以下に列記する。

1. GLUT1 異常症

血中から中枢神経系へのブドウ糖の輸送に関わるグルコース輸送体 GLUT1 の欠乏により、てんかん、失調、発達遅滞などの神経症状を呈する。運動後や空腹時に神経症状が悪化するのが特徴である。ケトン体が中枢神経系のエネルギー源となるためケトン食療法が有効である。空腹時の検査で血中と髄液の糖を比較し、髄液/血中の糖比が 0.4 以下であればその可能性が高くなる。赤血球の糖とり込み能の測定、*SLC2A1* 遺伝子の異常などから確定診断がされる。ただし、最近では赤血球糖とり込み能正常例³⁾や髄液糖正常の軽症例⁴⁾などが報告されており、その疾患スペクトラムは広がりを見せている。

2. DEND 症候群

DEND (developmental delay, epilepsy, neonatal diabetes) 症候群は、新生児期発症の糖尿病と早期発症のてんかん、発達遅滞などの神経症状を呈する。早期発症のてんかん患者で高血糖、HbA_{1c}の上昇など糖尿病を示唆する所見があった場合には本疾患が疑われる。糖尿病はインスリンよりも経口血糖降下薬であるスルホニルウレア剤が有効であり、早期からの治療により神経系への効果も期待される。

3. ピリドキシン (ビタミン B₆) 依存性

けいれん

ピリドキシンの投与が特異的に有効である。新生児期から乳児期発症の原因不明の難治性てんかんにおいてはピリドキシンの投与が試みられるべきである。本疾患は最近、リジン分解に関わる antiquitin をエンコードする *ALDH7A1* 遺伝子の異常によることがわかってきた。ピリドキシン投与の効果がない場合でも、ピリドキサルリン酸依存性けいれんもありピリドキサルリン酸の投与も試みられるべきである。

4. 先天性高インスリン・高アンモニア血症 (HI/HA)

HI/HA はグルタミン酸脱水素酵素の遺伝子異常で、全般てんかん、学習障害などの症状を示す。高インスリン性の低血糖、高アンモニア血症がみられた場合には疑う必要がある。治療としてジアゾキサイドの投与および蛋白摂取制限が用いられる。

5. 脳葉酸欠乏症 (cerebral folate deficiency)

髄液中の 5-methyltetrahydrofolate (5-MTHF) が低下しており、血中の葉酸は正常範囲である。けいれん、発達遅滞などがみられ、フォリン酸 (folinic acid) による治療が行われる。

6. セリン合成異常症

小頭症やてんかんを呈する。L-セリンやグリシンによる治療が行われる。

7. クレアチン合成異常症

クレアチン生合成や輸送の異常は、知的障害やてんかん発作をひき起こす。尿中、血中でグアニノ酢酸の異常がみられる。また、MRS で脳内クレアチンの低下が確認される。治療としてクレアチンの摂取などが行われる。

8. BH₄ 欠損症

フェニルアラニン水酸化酵素の補酵素であるテトラヒドロビオプテリン (BH₄) の代謝異常による疾患である。新生児マススクリーニングで高フェニルアラニン血症として発見される。体液中プテリジン分析や BH₄経口負荷試験、赤血球酵素活性の測定などでフェニルケトン尿症と鑑別される。食事による血中 Phe のコントロールと併せて BH₄、L-ドーパ、5-ヒドロキシトリプトファンの投与などが行われる。

9. ビオチンダーゼ欠損症

ビオチンダーゼ欠損症はビオチンの再利用の障害をきたし、けいれんなどの神経症状や湿疹性の皮疹などの皮膚症状がみられる。日本ではまれだが、欧米では新生児スクリーニングの対象になる。代謝性アシドーシス、高アンモニア血症、高乳酸血症などがみられる。尿中有機酸分析が行われる。ビオチンの投与が有効である。

10. hyperekplexia (startle disease, びっくり病)

けいれん発作ではないが、けいれん発作と鑑別が必要な疾患として知っておく必要がある。予期しない刺激で過剰な驚愕反応が起こる。グリシン受容体 α_1 サブユニットをコードする *GLRA1* 遺伝子の異常によるものが多い。ベンゾジアゼピン系の薬剤が有効とされる。

文 献

- 1) Takanashi J, Tada H, Maeda M, et al : Encephalopathy with a reversible splenic lesion is associated with hyponatremia. *Brain Dev* **31** : 217-220, 2009
- 2) Pearl PL : Treatable inherited metabolic epilepsies : The top ten diagnoses you can't afford to

Key Points

- ① けいれん発作の原因がはっきりしない場合には、急性期に採取した血液、尿、髄液などを保存しておく。
- ② バルプロ酸を内服していると、日頃から血中アンモニアが上昇している場合がある。
- ③ 抗てんかん薬を内服している患者では、薬物血中濃度を計測すると有用な場合がある。
- ④ GLUT1 異常症など、まれな疾患でも診断により治療が可能になるものもある。

miss. Epilepsia **50** (Suppl 11) : 501, 2009

- 3) Wang D, Yang H, Shi L, et al : Functional studies of the T295M mutation causing Glut1 deficiency : glucose efflux preferentially affected by T295M. *Pediatr Res* **64** : 538-543, 2008
- 4) Mullen SA, Suls A, De Jonghe P, et al : Absence epilepsies with widely variable onset are a key feature of familial GLUT1 deficiency. *Neurology* **75** : 432-440, 2010

お知らせ (2)

■第 15 回ウイルソン病研究会

会 期：2011 年 5 月 14 日 (土) 14:00~18:00

会 場：東邦大学医療センター大森病院 臨床講堂
(東京都大田区)

代表幹事：青木継稔 (東邦大学)

参加費：2,000 円

特別講演：Wilson 病全国調査成績 (清水教一：東邦大学大橋病院小児科)

一般演題：Wilson 病をはじめ Menkes 病など銅代謝異常症に関する症例・研究報告など。

事務局：〒 153-8515 東京都目黒区大橋 2-17-6
東邦大学医療センター大橋病院小児科 内
ウイルソン病研究会事務局 清水教一
TEL 03-3468-1251 (内線 3354, 3355)
FAX 03-3468-2927
E-mail : norikazu@med.toho-u.ac.jp

■第 36 回日本医用マススペクトル学会

会 期：2011 年 9 月 15 日 (木)・16 日 (金)

会 場：ホテル阪急エキスポパーク 星雲の間
(大阪府吹田市 TEL 06-6878-5151)

年会長：中西豊文 (大阪医大臨床検査医学)

構 成：招待講演，シンポジウム，ワークショップ，
松本勇賞受賞講演，奨励賞受賞講演，ポスター
賞受賞講演，一般口演・ポスター発表など

演題募集：2011 年 4 月 1 日 (金) ~6 月 30 日 (木)

事務局：〒 569-8686 大阪府高槻市大学町 2-7

大阪医科大学総合医学講座臨床検査医学
中西豊文

TEL 072-683-1221 (内線 2658)

FAX 072-684-6548

E-mail : jsbms36@art.osaka-med.ac.jp

学会ホームページ <http://www.jsbms.jp/>

■第 17 回日本保育園保健学会

日 時：2011 年 11 月 12 日 (土)，13 日 (日)

会 場：岡山コンベンションセンター

会 頭：小田 慈 (岡山大学大学院保健学研究科)

メインテーマ：はぐくみ，いつくしむ～子どもたちは
世界の宝

会長講演：保育園保健の現状とこれから (鴨下重彦：
日本保育園保健協議会会長)

会頭講演：小児科医は地域に飛び出そう～はあとふる
サロンの試み (小田 慈：岡山大学小児科)

基調講演：こどもの権利を考える (石井栄一：愛媛大学
小児医学)

生涯研修取得単位：日本保育園保健協議会生涯研修シ
ステム登録者：15 単位，日本小児科学会専門
医制度：8 単位

参加費：一般：7000 円 (前登録：6000 円)，学生：
1000 円，交流会費：6000 円

申込法：学会ホームページより

けいれん重積の治療ガイドライン

服部英司*

けいれん重積 (SE) は，生命の危機をもたらす重篤な病態であり，すみやかな診断，治療を要する。小児における SE の頻度は成人より高く，小児科医は日常診療において遭遇する機会も多いので，小児のけいれん重積の治療ガイドラインの必要性は高い。しかしながら，ガイドライン作成の基礎となるエビデンスレベルの高いランダム化比較試験 (RCT) は少なく，とくに日本では小児を対象とした RCT は現在までなされていない。一方で，諸外国で公表されているガイドラインは，ドラッグ・ラグなどの要因のため日本で使用できない薬剤が用いられており，そのままわが国に適用することはできない。

そこで，日本の小児科医が SE の診断・治療を行う際の参考とするために，「小児のけいれん重積に対する薬物療法のエビデンスに関する臨床研究」班 (主任研究者：大澤真木子 東京女子医科大学教授) において「小児のけいれん重積状態の診断・治療ガイドライン (案)」¹⁾ が提案され，臨床現場で広く用いられている。さらに，日本神経学会のてんかんの治療ガイドライン 2010 には，新たにてんかん重積状態の治療フローチャートが示された²⁾。

I けいれん重積の定義と分類

いわゆるてんかん重積 (status epilepticus : SE) は，運動徴候としてのけいれんを伴うけいれん性

てんかん重積 (convulsive status epilepticus : CSE) と意識減損の重延状態である非けいれん性てんかん重積 (non convulsive status epilepticus : NCSE) に分類される。通常，けいれん重積は CSE のことを指し，本稿で扱うガイドラインも CSE を中心に考えられている。国際てんかん連盟 (ILAE) の定義 (1981) では，SE は「発作がある程度の長さ以上に続くか，または短い発作でも反復しその間意識の回復がないもの」とされている。持続時間は 30 分以上とすることが多いが，5 分や 10 分以上とする考えもある。実際，臨床的には 30 分間待たずしてガイドラインに従った SE の治療を開始する。けいれんが長時間持続する場合 (連続型) に加えて，短いけいれんがくり返し起こり，その間，意識の回復しない場合もけいれん重積 (群発型) として扱う。

SE の治療は，初期治療と refractory SE (最初の 1~2 剤でけいれんを抑制できなかった SE) の治療に分けて考える。動物を使った生理学的実験では，けいれんが持続すると，最初の 30 分までは脳内における代謝は血流の増加などで代償されるが，30 分をこえると代償が不十分となり，60 分をこえると完全に破綻することが示されている。けいれんの時間経過の早期 (30 分以内) が early SE, 30~60 分は established SE, 60 分以上が refractory SE に相当する³⁾。

II けいれん重積の薬物治療のエビデンス

SE の治療に使用する薬剤は，早く効く (速効性)，けいれん抑制作用が強い (効力)，けいれん抑制作用が長い (持続性) ことが求められる。当然，呼吸循環系の抑制などの副作用は少ないこと

Hattori Hideji

* 西宮すなご医療福祉センター神経小児科
〔〒663-8131 西宮市武庫川町 2-9〕
TEL 0798-47-4477 FAX 0798-43-1022
E-mail : h.hattori@sunago.or.jp

が望ましい。海外では、early SE には、ジアゼパム (DZP), クロナゼパム (CZP), ロラゼパム (LZP), ミダゾラム (MDL), established SE には、フェニトイン (PHT), フォスフェニトイン, レベチラセタム (LEV), フェノバルビタール (PB), バルプロ酸 (VPA), refractory SE には、MDL, チオペンタールやペントバルビタールなどのバルビツレート, プロポフォールなどが用いられている³⁾。残念ながら日本では、入手できない薬剤あるいは SE 治療に必要な剤型 (静注薬など) のない薬剤, SE に対する適応を認められていない薬剤 (適応外使用医薬品) が多い。

1. SE の初期治療

384 人の CSE を対象として、LZP 0.1 mg/kg, PB 15 mg/kg, DZP 0.15 mg/kg+PHT 18 mg/kg, PHT 18 mg/kg による 20 分以内の発作消失率を比較した RCT がある。LZP の発作消失率が最も良かったが、LZP, PB, DZP+PHT の間には有意差はなく、PHT 単独は LZP に比べて有意に劣った。使いやすさの点を考慮して LZP を勧めている。

LZP, DZP とプラセボを静注し、4 分間持続する場合にはくり返し使用する方法で比較した RCT では、LZP と DZP の発作消失率に有意差はなく、プラセボとの間に明らかな差を認めた。LZP 4 mg と DZP 10 mg を静注し、10 分後にけいれんの持続する場合には再度静注する方法でも、両者の効果に差はなかった。

また、MDL の頬粘膜投与は DZP の注腸に比べて、5 分以上持続するけいれん発作消失に有効 (75% vs 59%) であった。MDL の鼻腔内投与は DZP の注腸に比較して発作の抑制に、より有効 (87% vs 60%) との報告もある。いずれも呼吸抑制などの副反応はまれであった。

2. refractory SE の治療

初期治療が失敗したときに、すみやかに全身麻酔薬を使った治療に進むべきかどうかについては明白なエビデンスはない。エキスパートオピニオンでは、アメリカの神経科医の 80% は非麻酔薬を使用し、すぐに麻酔薬を使用したのは 19% で

あった。薬剤としては PB が 43%, VPA が 19% であった。ヨーロッパでは 2/3 が非麻酔薬を使用し、多くは PB であった。PB は 20 mg/kg の量で 30~50 mg/分の速さで静注されていた⁴⁾。

麻酔薬は、バルビツレート, MDL, プロポフォールが通常使用されている。このうち、どの薬剤が最も良いかを比較した RCT はない。ペントバルビタール, MDL, プロポフォールを比較した後方視的な研究では、ペントバルビタールが最も効果があるとされた。しかし、血圧低下のような副作用も多かった。

III 海外のけいれん重積の治療ガイドライン

エビデンスを踏まえて、いくつかのガイドラインが提示されている。基本的には、初期治療は LZP の静注を行い、無効な場合には PHT もしくはフォスフェニトインの静注を試み、refractory SE には ICU 管理下で全身麻酔を行うという戦略である。

1. European Federation of Neurological Society (EFNS) の成人の SE 治療ガイドライン⁴⁾

初期治療は LZP 4 mg を静注する。10 分後にけいれんが持続するなら同量をくり返す。もしくは、DZP 10 mg と PHT 15~18 mg/kg か同等のフォスフェニトインを静注する。

refractory SE に関しては、速やかに麻酔量のバルビツレート, MDL, プロポフォールを使用し、脳波をバーストサプレッションパターンになるまで増量し、その状態で 24 時間維持する。

2. The Status Epilepticus Working Party の小児のけいれん重積の治療ガイドライン⁵⁾

ステップ 1

酸素投与, 血糖測定, てんかん発作か否かの確認をする。LZP 0.1 mg/kg を静注する。もし静脈路を確保できていなければ、DZP 0.5 mg/kg を注腸する。