

図2.患者1と3 (oxysterol 7 α -hydroxylase 欠損症) で尿中に 27-hydroxycholesterol を検出した。血清中は残血清がなく評価できなかった。3 β -hydroxy- Δ^5 -C₂₇-steroid dehydrogenase/isomerase 欠損症では検出されなかった。

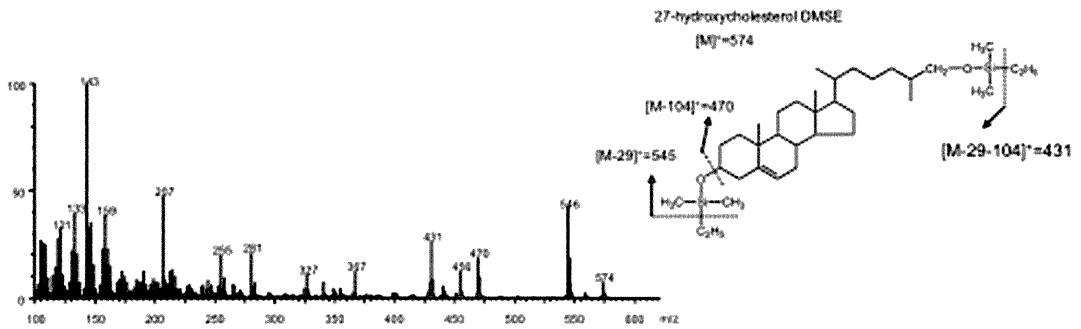


図 3. Me-DMES 化した時の 27-hydroxycholesterol の構造式とマススペクトラムを示す。

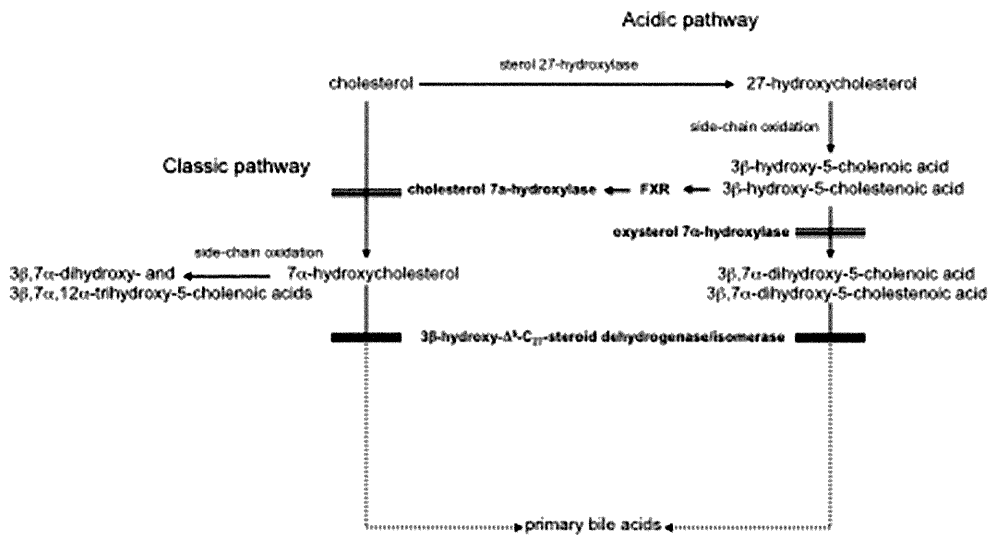


図 4. 患者 2 の胆汁酸代謝経路。病初期には oxysterol 7 α -hydroxylase 活性が低く、その後徐々に活性が高まり、今回のような胆汁酸分析結果となったと考えられた。したがって、新生時期には acidic pathway がまだ主代謝経路であるものが存在するとともに、本酵素の活性が低いものも存在すると考えられた。

呼吸鎖酵素解析を中心とした迅速かつ正確なミトコンドリア肝症の診断 および分子病理の解明

研究分担者 村山 圭 千葉県こども病院代謝科 医長

研究要旨

乳児の黄疸をきたす疾患の1つとして、ミトコンドリア肝症が挙げられる。昨年に引き続き本年も、酵素解析を中心としたミトコンドリア肝症の診断を迅速かつ正確に行った。また、その結果を踏まえ、セルイノベーションプロジェクトに参加し（症例のサンプリング）、核遺伝子の解明など、さらなる分子病理の解明を行った。

A. 研究対象

本研究で我々が対象とした症例は、Bernierらのミトコンドリア呼吸鎖異常症の診断基準において“可能性例(possible)”以上の基準を満たした、本邦の症例 601 例である。臨床症状は、新生児期致死性高乳酸血症から急性脳症、思春期の軽い筋緊張低下や食欲不振までにわたり非常に幅広い。大部分が原因不明の高乳酸血症症例であるが、一部は高乳酸血症を呈さずに多臓器にまたがる症状を呈したことからミトコンドリア呼吸鎖異常症(MRCD)を疑われた症例も含む。半数以上の症例が、新生児期から1歳までに発病していた。約4分の3の症例が、先天性高乳酸血症や何かのミトコンドリア異常症と臨床診断されていた。

B. 研究方法

試料は、組織については -80°C にて保存された肝や筋肉の一片をホモジナイズし、600Gにて遠心後の上清を用いた。また皮膚線維芽細胞については、ミトコンドリア分画を単離したあと、界面活性剤であるドデ

シルマルトシドまたはTriton Xによって可溶化し行った。酵素活性は分光光度計を用い、光化学的に呼吸鎖 I, II, III, IV 及び対象としてクエン酸合成酵素 (Citrate Synthase; CS) を測定した。呼吸鎖酵素活性は CS 及び Complex II との相対比で表し、対照 12 人の平均に対する%で示した。

Blue-native PAGE 解析は 4~13%濃度勾配ゲルを用いて展開し、イムノブロット法を用いて呼吸鎖複合体の量と大きさを解析した。呼吸鎖複合体に対する各種モノクローナル抗体を用いて行った。さらに酵素活性にて有意な低下を示した症例に対しては、ミトコンドリア DNA(mtDNA) の枯渇があるか否か調べる目的で、mtDNA の比較定量 (Quantitative PCR ; qPCR) を施行した。精製 DNA を用いミトコンドリア (呼吸鎖 I-ND4 サブユニット) と核 (豚のう胞性線維症遺伝子エクソン 24) の DNA を real time PCR で増幅しその量比を正常コントロールに対する%で表した。qPCR にて mtDNA が正常コントロールの 35%以下

である ミトコンドリア DNA 枯渇症候群 ((MDS: mtDNA depletion syndrome)) と診断された症例に対し、肝型 MDS の責任遺伝子の解析を行った。

C. 研究結果

これまで年間 30 例近くの MRCD を診断してきたが、平成 23 年は 69 例と倍増した。診断した MRCD は総数で 200 例に及ぶ。ミトコンドリア肝症は 200 例中 27 例であり、MRCD 全体の 14% であった。特に肝不全を起こすタイプは、MDS として世界的に知られており、我々が診断した 27 例中に 13 症例含まれていた。そのうち 6 例は責任遺伝子の遺伝子確定まで終了しており (*POLG*; 1 例, *MPV17*; 2 例, *DGUOK*; 3 例)、各施設との共同論文という形で現在作成している (文献 1 は *MPV17* 遺伝子異常の症例報告である)。また今年もミトコンドリア肝症についての症例報告や総説をいくつか掲載することができた (文献 2-6)。

D. 考察及び今後の展望

ミトコンドリア肝症は MRCD において、14% 占める見過ごせない疾患である。また診断に至ったミトコンドリア肝症の 21 例中 13 例は、MDS であった。その多くは乳児期に発症しており、乳児胆汁うっ滞性肝障害の一因となることが明らかになった。MDS の症例の多くは幼児期までに死亡しており、本症の予後の悪さが明らかになった。遺伝子診断も 6 例確定できたが、そのうちの *DGUOK* の遺伝子欠失 (*DGUOK* c.143-308_169del335) は、地域の異なる 2 家系から認められており、日本人における common mutation の可能性が示唆された。今後のさらなる蓄積が重要である。

文献 1) のように、ミトコンドリア肝症に対して、酵素欠損に応じた治療を行っていくことは、重要な治療戦略である。MRCD の分子病理の解明こそ治療に直結してくるものと思われる。

現在、埼玉医科大学との共同プロジェクト (文科省セルイノベーションプロジェクト) で、次世代シーケンサーを用いた網羅的な MRCD 責任遺伝子解析を行っており、その結果が多いに期待される場所である。また、引き続き症例を正確かつ迅速に生化学診断していくことで、日本における MRCD の頻度や特徴、遺伝的背景にせまれる事はもとより、今後発展がさらなる治療への足がかりになっていくものと確信している。

文献

1. Kaji S, Murayama K, Nagata I, et al: Fluctuating liver functions in siblings with *MPV17* mutations and possible improvement associated with dietary and pharmaceutical treatments targeting respiratory chain complex I. *Mol Genet Metab* 97: 292-296, 2009
2. 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 [Epub ahead of print]
3. Iwama I, Baba Y, Kagimoto S, Kishimoto H, Kasahara M, Murayama K, Shimizu K. : Case

Report of a Successful Liver
Transplantation for Acute Liver
Failure Due to Mitochondrial
Respiratory Chain Complex III
Deficiency., *Transplant Proc.*
43(10):4025-8. 2011

4. Arakawa C, Endo A, Kohira R, Fujita Y, Fuchigami T, Mugishima H, Ohtake A, Murayama K, Mori M, Miyata R, Hatai Y.: Liver-specific mitochondrial respiratory chain complex I deficiency in fatal influenza encephalopathy., *Brain Dev.* 2011 [Epub ahead of print]
5. 藤浪綾子、村山 圭、鶴岡智子、山崎太郎、高柳正樹、大竹 明：ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症における肝疾患の現状. ,日本小児栄養消化器肝臓学会雑誌 25 (2) 63-68 2011
6. 村山 圭、藤浪綾子：胆汁うっ滞－診療の最先端 ミトコンドリア肝疾患と胆汁うっ滞, *小児内科*, 43: 1087－1091, 2011

E. 論文発表

1.論文発表

- (1) 松下博亮、村上潤、宮原直樹、村山圭、宮原史子、美野陽一、中川ふみ、堂本友恒、船田裕昭、梶俊策、長田郁夫、近藤章子、大野耕策、神崎晋：肝障害・難治性下痢を契機に発見されたミトコンドリア呼吸鎖 I 異常症. *日本小児科学会雑誌* 115 1773-1780, 2011
- (2) 菅沼広樹、鈴木光幸、吉川尚美、原聡、染谷朋之介、李翼、久田研、東海林宏道、村山圭、高柳正樹、大竹明、清水

俊明：劇症肝不全として発症したミトコンドリア DNA 枯渇症候群の新生児例. *日本小児科学会雑誌* 115 1067-1072, 2011

- (3) 藤浪綾子、村山圭、鶴岡智子、山崎太郎、高柳正樹、大竹明：ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症における肝疾患の現状.
(ア) *日本小児栄養消化器肝臓学会雑誌* 25 63-68 2011
- (4) 村山圭、藤浪綾子：胆汁うっ滞－診療の最先端 ミトコンドリア肝疾患と胆汁うっ滞. *小児内科* 43 1087－1091 2011
- (5) 村山圭：これが大切！1ヶ月以内の新生児疾患 OTC 欠損症, *小児科診療* 74 611-616 2011
- (6) 藤浪綾子、村山圭、高柳正樹：先天代謝異常による急性脳症. *日本臨牀* 69 477-482 2011
- (7) 村山圭：母子保健 先天性代謝異常のマス・スクリーニング. *周産期医学必修知識* 41 1021-1023 2011
- (8) 鶴岡智子、村山圭：高アンモニア血症. *周産期医学：周産期医学必修知識* 41 752-754 2011
- (9) Iwama I, Baba Y, Kagimoto S, Kishimoto H, Kasahara M, Murayama K, Shimizu K. : Case Report of a Successful Liver Transplantation for Acute Liver Failure Due to Mitochondrial Respiratory Chain Complex III. *Transplant Proc.* 43 4025-8 2011
- (10) Saito K, Kimura N, Oda N,

- Shimomura H, Kumada T, Miyajima T, Murayama K, Tanaka M, Fujii T. : Pyruvate therapy for mitochondrial DNA depletion syndrome. *Biochim Biophys Acta*. [Epub ahead of print] 2011
- (11) 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*. [Epub ahead of print] 2011
- (12) Wakiya T, Sanada Y, Mizuta K, Umehara M, Urahasi T, Egami S, Hishikawa S, Fujiwara T, Sakuma Y, Hyodo M, Murayama K, Hakamada K, Yasuda Y, Kawarasaki H. : Living donor liver transplantation for ornithine transcarbamylase deficiency. *Pediatr Transplant*. 15 390-395 2011
- (13) Nakano Y, Murayama K, Tsuruoka T, Aizawa M, Nagasaka H, Horie H, Ohtake A, Saitou K. : Fatal case of mitochondrial DNA depletion with severe asphyxia in a newborn. *Pediatr Int*. 53(2) 240-242 2011
- (14) Arakawa C, Endo A, Kohira R, Fujita Y, Fuchigami T, Mugishima H, Ohtake A, Murayama K, Mori M, Miyata R, Hatai Y. : Liver-specific mitochondrial respiratory chain complex I deficiency in fatal influenza encephalopathy. *Brain Dev*. [Epub ahead of print] 2011
- (15) 村山圭 : 高乳酸血症・ミトコンドリア病 症例 31. 先天代謝異常症 *Diagnosis at a glance 診断と治療社* 92-95 2011
- F. 知的財産権の出願・登録状況**
- 1.特許取得
なし
- 2.実用新案登録
なし
- 3.その他
なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
村山 圭	高乳酸血症・ミトコンドリア病症例31	日本先天代謝異常学会編集集：遠藤文夫、山口清次、高柳正樹、深尾敏幸、酒井則夫	先天代謝異常症 Diagnosis at a glance	診断と治療社	東京	2011	92-95

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
須磨崎亮,和田宏来,工藤豊一郎	Alagille症候群 腎臓症候群(第2版)その他の腎臓疾患を含めて	別冊日本臨床 新領域別症候群	17	399-402	2012
須磨崎亮	胆道系の発生とNotchシグナル(解説/特集)	小児内科	43(6)	981-986	2011
和田宏来,工藤豊一郎,須磨崎亮	症候からみる臨床検査の進めかた 肝機能障害(解説/特集)	小児科診療	74巻増刊	119-125	2011
須磨崎亮	肝内胆管、胆道、膵 共通の視点に立った腫瘍発生発生の観点から(解説/特集)	肝・胆・膵	62(1)	7-15	2011
田澤雄作	新生児胆汁うっ滞-新生児肝炎およびシトリン欠損症による新生児肝内胆汁うっ滞(NICCD)を中心として.	小児科診療	74	638-644	2011
入野博ほか	PFIC 1型および2型における肝機能検査値と尿中胆汁酸分析.	日本小児栄養消化器肝臓学会雑誌	25	6-12	2011
虻川大樹	新生児肝炎は今どこへ?	小児内科	43	1018-1021	2011
虻川大樹	新生児肝炎	小児科	52	3-9	2011

Asakawa T,Yagi M, Tanaka Y,Asagiri K, Kobayashi H,Egami H,Tanikawa K,Kage M.	The herbal medicine Inchinko-to reduces hepatic fibrosis in cholestatic rats.	Pediatric Surgery Internationa l	in press		2011
谷川健、鹿毛政義、 八木実	【胆汁うっ滞・診療の最先 端】胆汁うっ滞の病理	小児内科	43(6)	992-999	2011
十河剛、村山昌俊、 小松陽樹、乾あやの、 藤澤知雄	肝性昏睡（肝性脳症）	小児内科	43(3)	598-602	2011
藤澤知雄	劇症肝炎（急性肝不全）	小児内科	43(1)	89-92	2011
藤澤知雄	小児肝外胆汁うっ滞症候群	日本臨床 別冊肝・胆道 系症候群Ⅲ		176-179	2011
十河剛、村山昌俊、 小松陽樹、乾あやの、 藤澤知雄	胆汁うっ滞に対する内視鏡 的逆行性胆管造影法	小児内科	43(6)	1064-1068	2011
乾あやの	小児の黄疸	日本医師会 雑誌	140 特別号(2)	S316-S319	2011
日衛嶋栄太郎、十河剛、 小松陽樹、乾あやの、 藤澤知雄	良性反復性肝内胆汁うっ滞	小児内科	43(6)	1038-1041	2011
角田知之、乾あやの	皮膚が黄色い	小児内科	43(10)	1646-1649	2011
藤澤知雄	序：胆汁うっ滞 －診療の最先端－	小児内科	43(6)	965-966	2011
小松陽樹	便の色の異常	小児内科	43(10)	1643-1645	2011
藤澤知雄	1か月健診での黄疸の対応 について教えてください	小児内科	43 増刊号	226-228	2011

Tahara M, Sakai H, Nishikomori R, Yasumi T, Heike T, Nagata I, Inui A, Fijisawa T, Shigematsu Y, Nishijima K, Kuwakado K, Watabe S, Kameyama J.	Patient with neonatal-onset chronic hepatitis presenting with mevalonate kinase deficiency with a novel MVK gene mutation.	Mod Rheumatol.	21	641-645	2011
Hiejima E, Komatsu H, Takeda Y, Sogo T, Inui A, Okafuji I, Nishikomori R, Nakahata T, Fujisawa T.	Acute liver failure young children with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis without macrophage activation syndrome: Report of two cases.	J Pediatr Child Health.	Epub ahead of print		2011
水落建輝, 木村昭彦	先天性胆汁酸代謝異常症	小児内科	43	1042-1045	2011
木村昭彦	胆汁酸, ビリルビンの肝細胞内輸送	小児内科	43	987-991	2011
Mizuochi T, Kimura A, et al.	Successful heterozygous living donor liver transplantation for an oxysterol 7 α -hydroxy deficiency in a Japanese patient	Liver Transplantation	17	1059-1065	2011
Seki Y, Matsushita M, Kimura A, et al.	Maternal and fetal circulation of unusual bile acids: a pilot study	Pediatrics International	53	1028-1033	2011
松下博亮, 村上潤, 宮原直樹, 村山圭, 宮原史子, 美野陽一, 中川ふみ, 堂本友恒, 船田裕昭, 梶俊策, 長田郁夫, 近藤章子, 大野耕策, 神崎 晋	肝障害・難治性下痢を契機に発見されたミトコンドリア呼吸鎖I異常症	日本小児科学会雑誌	115	1773-1780	2011
菅沼広樹, 鈴木光幸, 吉川尚美, 原聡, 染谷朋之介, 李翼, 久田研, 東海林宏道, 村山圭, 高柳正樹, 大竹明, 清水俊明	劇症肝不全として発症したミトコンドリアDNA枯渇症候群の新生児例	日本小児科学会雑誌	115	1067-1072	2011
藤浪綾子, 村山圭, 鶴岡智子, 山崎太郎, 高柳正樹, 大竹明	ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症における肝疾患の現状	日本小児栄養消化器肝臓学会雑誌	25	69-74	2011
村山圭, 藤浪綾子	胆汁うっ滞—診療の最先端ミトコンドリア肝疾患と胆汁うっ滞	小児内科	43	1087-1091	2011

村山 圭	これが大切！1ヶ月以内の 新生児疾患 OTC欠損症	小児科診療	74	611-616	2011
藤浪綾子、村山 圭、 高柳正樹	先天代謝異常による急性脳 症	日本臨牀	69	477-482	2011
村山 圭	母子保健 先天性代謝異常 のマス・スクリーニング	周産期医学 必修知識	41	1021-1023	2011
鶴岡智子、村山 圭	高アンモニア血症	周産期医学 必修知識	41	752-754	2011
Iwama I, Baba Y, Kagimoto S, Kishimoto H, Kasahara M, Murayama K, Shimizu K.	Case Report of a Successful Liver Transplantation for Acute Liver Failure Due to Mitochondrial Respiratory Chain Complex III Deficiency.	Transplant Proc.	43	4025-8	2011
Saito K, Kimura N, Oda N, Shimomura H, Kumada T, Miyajima T, Murayama K, Tanaka M, Fujii T.	Pyruvate therapy for mitochondrial DNA depletion syndrome.	Biochim Bio phys Acta.		Epub ahead of print	2011
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.		Epub ahead of print	2011
Wakiya T, Sanada Y, Mizuta K, Umehara M, Urahasi T, Egami S, Hishikawa S, Fujiwara T, Sakuma Y, Hyodo M, Murayama K, Hakamada K, Yasuda Y, Kawarasaki H.	Living donor liver transplantation for ornithine transcarbamylase deficiency.	Pediatr Transplant.	15	390-395	2011
Nakano Y, Murayama K, Tsuruoka T, Aizawa M, Nagasaka H, Horie H, Ohtake A, Saitou K.	Fatal case of mitochondrial DNA depletion with severe asphyxia in a newborn.	Pediatr Int.	53(2)	240-242	2011
Arakawa C, Endo A, Kohira R, Fujita Y, Fuchigami T, Mugishima H, Ohtake A, Murayama K, Mori M, Miyata R, Hatai Y.	Liver-specific mitochondrial respiratory chain complex I deficiency in fatal influenza encephalopathy.	Brain Dev.		Epub ahead of print	2011

IV. 研究成果の刊行物・別刷

症例
31

女児，在胎37週6日，出生体重2,970g，Apgarスコア8点/9点で出生。日齢1から軽度筋緊張低下と哺乳不良が続くため，日齢5に新生児科入院となった。その後換気不全，呼吸性アシドーシスの進行のため，日齢10に人工呼吸器管理を開始され，現在も継続している。筋緊張の低下も顕在化した。

特徴的所見

①全身所見・胸部X線所見(図1)

血中乳酸174.2 mg/dL，ピルビン酸5.3 mg/dL，L/P比32.6(>20)，3-ヒドロキシ酪酸(3-OHBA)50 μmol/L，アセト酢酸(AcAc)17 μmol/L，3-OHBA/AcAc 2.9，その後もL/P比高値の高乳酸血症が持続した。甲上腺機能正常。染色体は46, XX，血中アミノ酸分析，尿中有機酸分析，タンデムマスにて異常を認めず。ABRにて両側80 dB反応不良を呈した。

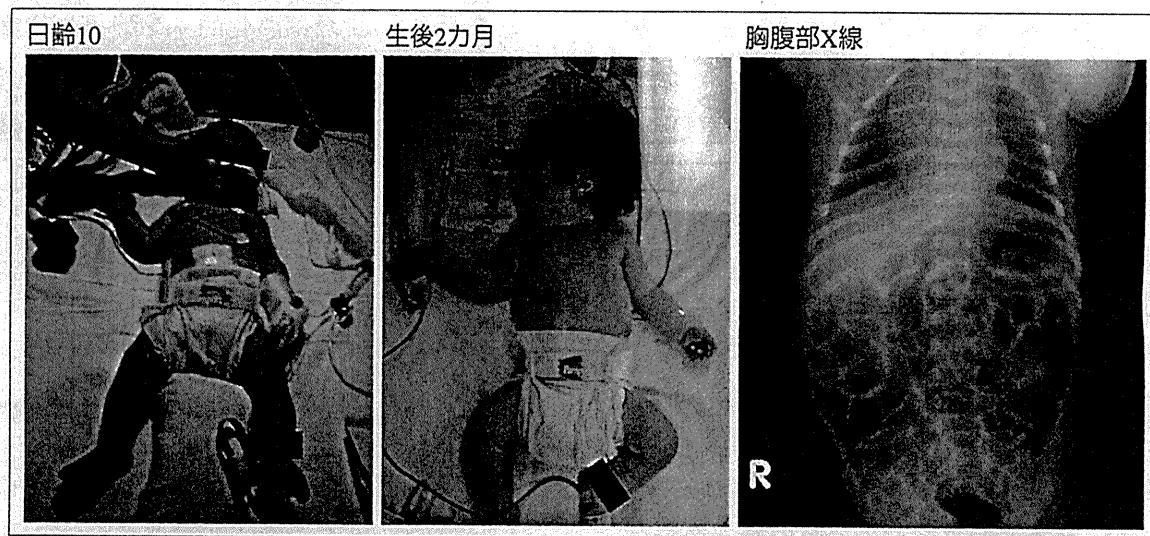


図1 症例写真・X線所見

患者の写真(左・中)：患児は仰臥位にすると，いわゆるカエルの姿勢(frog leg posture)をとる。2カ月後にはより明らかになっている。胸腹部X線検査(右)：腸管ガス像が充満している。その他特異的所見はない。

さて，診断は何を考えるか？

特徴的所見の解説

患児の写真から，筋緊張の低下がわかるだろうか。新生児期はあまり目立たないものの，2カ月後には明らかに低下している。また腹部X線写真では腸管ガスが多いことが目に付く。これ自体は非特異的所見ではあるが，腸管の不活発(intestinal dysmotility)とそれによる嘔吐，哺乳不良は新生児ミトコンドリア病の大切な所見であることを認識されたい¹⁾。

一般代謝スクリーニングでは異常を認めないこと，筋緊張低下に加え，難聴，哺乳不良など多臓器にわたり問題があることからミトコンドリア呼吸鎖異常症(MRCD)を頭に浮かべたい。乳酸異常高値であり，乳酸ピルビン酸比が20以上であることは，呼吸鎖異常症を強く示唆する所見であるが，正常なこともあるので(10～20%)注意したい。MRCDを疑いながら診断を進めていくべきであるが，真っ先にミトコンドリアDNA(mtDNA)の遺伝子解析を提出することはまったくもって賢明ではない。新生児発症のMRCDは多くが核DNAの異常に基づくため，皮膚生検，筋・肝生検等を行うこ

とにより酵素診断を行っていく必要がある。mtDNA の遺伝子解析は、母系遺伝が明らかであったり、Pearson 病など特有の症状を認める場合に限り、優先して行うべきである。

診断のプロセス

筋緊張低下 (floppy infant) を認める疾患の鑑別を表 1 に示す²⁾。非常に多岐にわたっており、その他の所見も合わせながら鑑別を進めていくことが重要である。本症例では筋緊張低下、L/P 比高値を伴う高乳酸血症等から MRCD を疑い、生後 3 カ月時に皮膚生検を施行した。またこの時点でミトコンドリアレスキュー薬³⁾を開始している。皮膚線維芽細胞を培養し、呼吸鎖酵素活性を測定したが正常であった。その後筋緊張低下がより明らかになってきたため、生後 10 カ月時に骨格筋生検を行った。骨格筋を用いた呼吸鎖酵素活性で、呼吸鎖複合体 I, III, IV の有意な低下を認めた(表 2)。Bernier らの診断基準を用いると³⁾酵素活性はクエン酸合成酵素(CS)および Complex II との比で評価し、組織では 30% 以下であれば小基準を、20% 以下であれば大基準を満たすことになる。本基準に基づき、MRCD definite (確定例)となった。さらに酵素活性の検体の残液を用いた BN-PAGE 解析でも、酵素活性と同様の結果を認めた(図 2)。筋病理では ragged-red fiber および COX(cytochrome c oxidase ; Complex IV)シグナルの低下を認めた(図 3)。これらの結果か

ら本症例はミトコンドリア呼吸鎖異常症 (MRCD) であり、mtDNA 比較定量(qPCR) 検査にて mtDNA 量の有意な低下を認めたことから、mtDNA 枯渇症候群(MDS)であると診断された。

〔診断名〕筋型ミトコンドリア病、mtDNA 枯渇症候群

疾患説明

MRCD(いわゆるミトコンドリア病)は呼吸鎖(電子伝達系)または酸化的リン酸化の障害であ

表 1 乳幼児で筋緊張低下を認める場合の鑑別疾患

- ・中枢神経原生
 - 染色体異常症
 - 脳性麻痺
 - 先天性代謝異常
 - ペルオキシソーム病
 - Pompe 病
 - 乳児型 GM1 ガングリオシドーシス
 - ミトコンドリア病
- ・脊髄疾患
 - 脊髄性筋萎縮症
 - 末梢神経疾患
 - 神経・筋接合部疾患
 - 筋疾患
 - 先天性筋ミオパチー
 - 先天性ジストロフィー
 - 先天性筋強直性ジストロフィー

表 2 ミトコンドリア呼吸鎖酵素活性

	Co I	Co II	Co II + III	Co III	Co IV	CS	mtDNA/nDNA (%)
皮膚線維芽細胞							
% of normal	35	35	45	36	38	46	
CS ratio (%)	75	74	94	75	83	—	
Co II ratio (%)	100	—	126	104	113	—	
骨格筋							
	35 (%)						
% of normal	19	290	257	48	26	179	
CS ratio (%)	11	159	141	27	14	—	
Co II ratio (%)	7	—	87	16	9	—	

Co I : complex I, Co II : complex II, Co III : complex III, Co IV : complex IV, CS : citrate synthase.

り、多彩な臓器症状を呈する先天代謝異常症である。その有病率は少なくとも5,000人に1人と言われ、先天代謝異常症のなかでもっとも頻度が高いことになる。なかでも新生児期発症MRCDは、筆者らが診断したMRCD全体の約半数を占めている。本症例ではフロッピーインファントに加えL/P比高値を伴う高乳酸血症が診断の手がかりとなったが、先述のように乳酸値ばかりに気をとられると診断に至らないこともある。多臓器にわたる障害(筋緊張低下、難聴、哺乳不良など)であることや、ほかの疾患(代謝性疾患やその他の神経・筋疾患)が否定的であるという評価もまた、MRCDを疑う大きな理由になる。MRCDの診断は、いわば小児科医としての総合的的力量が必要になってくる。

MDSは筆者らが診断したMRCD全体の約

13%を占めており、予想以上に頻度が高いことがわかってきた。どのMDS症例にも共通しているが、MRCDのなかでも非常に重篤になる。一方で呼吸鎖酵素活性とqPCRで容易に判定でき、責任遺伝子の解明も進んできている。後の章でも述べられる肝型MDSも含めたMDSの責任遺伝子ごとの概要を示す⁴⁾。MDSは筋型・脳筋型と肝型・脳肝型の2つに大別されている。Myopathic/Encephalomyopathic typeのMDSとして、TK2, RRM2B, SUCLG1, SUCLA2遺伝子異常が⁵⁾、Hepatic/Hepatocerebral typeとしてPOLG1, DGUOK, MPV17, TWINKLE(C10 or f2)遺伝子異常がOMIM[®]に登録されているが、表3のように筋症状はいずれのタイプにも出現しており、肝症状、筋症状、脳症状(神経症状)がオーバーラップしてくることもよくある。

酵素診断に関して1つ付け加えたい。MRCDの特徴として組織特異性があり、診断の際には何を検体として採るか迷うことがある。私たちの診断したMRCDにおける組織特異性の統計では、ライ脳症や神経変性疾患は、筋肉と皮膚線維芽細胞のどちらかが異常になることが多い。したがって、可能であれば筋生検と同時に皮膚生検も行うことが望ましい。筋症、心筋症、肝症においてはやはり罹患臓器(骨格筋、心筋、肝)の検索が望ましいが、心筋生検については手技が高度であるだけでなく採取量も少なく、難しいところである。それでもせめて、侵襲の低い皮膚生検は優先して行っておきたい。

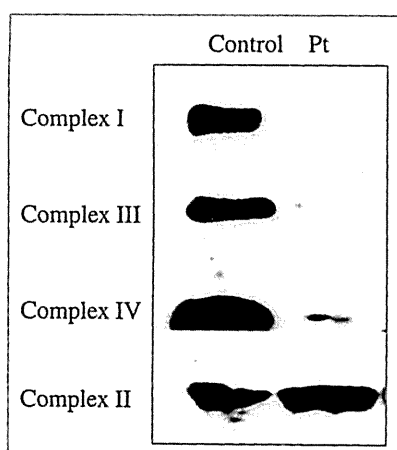


図2 筋肉を用いたイムノブロット解析(BN-PAGE解析)

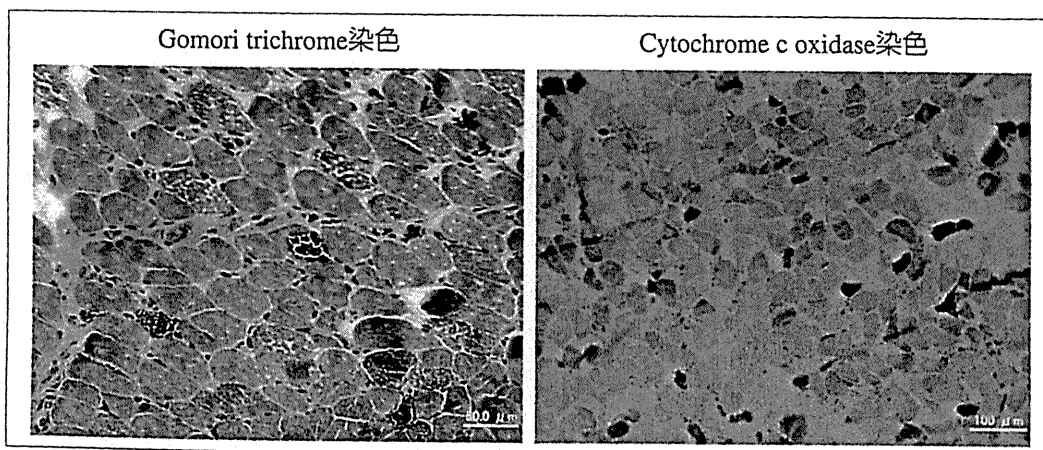


図3 筋病理

表3 mtDNA 枯渇症候群の概要

(文献³⁾より引用)

	POLGI	DGUOK	MPV17	TWINKLE	TK2	RRM2B	SUCLG1	SUCLA2
Age of onset	Variable	Neonatal	Neonatal	Neonatal	Infancy, childhood	Neonatal, infancy	Neonatal	Infancy
Liver disease	Hepatic failure	Hypoglycaemia, hepatic failure,	Hypoglycaemia, hepatic failure,	Hepatic failure	None	None	Hepatomegaly	None
Muscular features	Myopathy, external ophthalmoplegia	Hypotonia	Hypotonia	Myopathy, hypotonia, ophthalmoplegia	Myopathy, elevated CK	Trunk hypotonia	Hypotonia, lactic acidosis	Hypotonia, lactic acidosis
CNS features	Poliodystrophy, ataxia, epilepsy partialis continua	Nystagmus, dystonic movements	Ataxia, neuropathy, dystonic movements	Athetosis, sensory neuropathy, ataxia, epilepsy	Occasionally PEO, seizures	Microcephaly and global developmental delay hearing loss	Connatal encephalopathy	Leigh-like syndrome, dystonia
mtDNA depletion	Liver, muscle	Liver	Liver	Liver	Muscle	Muscle, kidney	Muscle, liver	Muscle
Inheritance	AR	AR	AR	AR	AR	AR	AR	AR
Other features	Valproate hepatotoxicity	-	Corneal scarring mental retardation scoliosis	Infantile-onset spinocerebellar ataxia (IOSCA)	SMA1-like, SMA3-like, muscular dystrophy	Tubulopathy nephrocalcinosis	Dysmorphisms, methylmalonic aciduria	Deafness methylmalonic aciduria

ミトコンドリア呼吸鎖異常症の日本語の概説に関しては、文献³⁾を参考にさせていただきたい。また、本稿は筋型ミトコンドリア病であるにもかかわらず、ミトコンドリア心筋症については触れなかった。心筋症については『症例から学ぶ先天代謝異常症』(2009)のミトコンドリア、高乳酸血症の項⁵⁾に症例が詳しく載っているのでぜひ参考にさせていただきたい。

One Point Advice

MRCD はごくありふれた疾患であり、専門が何であれ小児科医であれば誰もが必ず、それも何回か遭遇しているはずの疾患である。筆者らは酵素診断を始めてから、多くの症例が診断されその多彩な病像が次々と明らかになってきており、いわば現在進行形の疾患である。MRCD を疑った際には、筆者が埼玉医大小児科の大竹明まで遠慮なく相談していただきたい。特に筆者の施設は有機酸分析等の代謝スクリーニングも可能であり、MRCD を含む代謝疾患全体の相談を受け付けている。

〈文献〉

- 1) Gibson K, et al : Mitochondrial oxidative phosphorylation disorders presenting in neonates : clinical manifestations and enzymatic and molecular diagnoses. *Pediat Int* 122(5) : 1003-1008, 2008.
- 2) 小牧宏文 : 乳幼児診療 A to Z, 34. 筋緊張低下. *小児科* 52 : 697-700, 2011.
- 3) 村山 圭, ほか : 先天代謝異常の診断と治療 Update ミトコンドリア病(ミトコンドリア呼吸鎖異常症) - 最も頻度の高い先天代謝異常症 -. *小児臨* 63 : 2071-2079, 2010.
- 4) Spinazzola A, et al : Clinical and molecular features of mitochondrial DNA depletion syndromes. *J Inherit Metab Dis* 32(2) : 143-158, 2009.
- 5) 内藤幸恵, ほか : 34. 新生児期早期に心拡大, 心不全を呈し死亡した症例 : 日本先天代謝異常学会, 編, 症例から学ぶ先天代謝異常症. 診断と治療社, 2009.

〈謝辞〉

症例を御紹介いただいた、滋賀県立小児保健医療センターの齊藤景子先生および大津赤十字病院新生児科の内山 環先生に深謝いたします。

千葉県こども病院代謝科 / 村山 圭 (kmuraya@mri.biglobe.ne.jp)

腎臓症候群(第2版) 上

—その他の腎臓疾患を含めて—

V 先天性・遺伝性腎疾患
先天奇形症候群

Alagille 症候群

須磨崎 亮
和田宏来
工藤豊一郎

V 先天性・遺伝性腎疾患

先天奇形症候群

Alagille 症候群

Alagille syndrome

Key words : Alagille 症候群, 腎血管性高血圧, 腎不全, 腎低形成, 尿細管性アシドーシス

須磨崎 亮
和田宏来
工藤豊一郎

1. 概念・定義

Alagille 症候群 (ALGS) は肝内胆管の低形成という肝病理所見に, 胆汁うっ滞, 特徴的な顔貌 (図 1), 肺動脈狭窄などの心奇形, 椎骨異常, 後部胎生環などの眼球異常の 5 症状を伴う常染色体優性の遺伝性疾患である¹⁾. 動脈肝異形成 (arteriohepatic dysplasia) は ALGS と同義である²⁾. ALGS を記載した Alagille はフランスの小児肝臓医であり, 腎病変は ALGS 診断に必須の徴候ではない. しかし ALGS にしばしば腎病変を伴うことは, 彼およびその共同研究者によって報告され³⁾, 糸球体メサンギウム領域に脂肪沈着を伴う mesangiolipidosis が特徴的な所見として記載されている.

ALGS の原因遺伝子として *JAG1*^{4,5)} と *NOTCH2*⁶⁾ が同定され, 現在では前者の遺伝子変異を有する症例が ALGS 1 型 (OMIM118450), 後者は 2 型 (OMIM610205) と分類される. ALGS の 94% 以上は 1 型であり⁷⁾, 我が国では現時点で 2 型は発見されていない. 腎合併症は, 1 型では 23–74% に対して, 2 型では全例で見られる^{8,9)}.

ALGS は原因遺伝子が発見されてから疾患概念が大きく拡大された. 遺伝学的診断方法が導入されるようになってから, 腎障害が前景に立ち, 古典的な臨床症状を完全には満たさない ALGS が多数報告されるようになってきた¹⁰⁾. また ALGS は先天性の疾患であるが, 近年は成人内科領域からも ALGS による腎症の報告が増

加している^{9,11)}.

2. 疫学

ALGS の頻度は Caucasian では出生 7 万対 1 程度とされている. 2010 年に行われた我が国の小児診療施設を対象にした全国調査では, 国内の ALGS 患者数は 200 人弱と推測された¹²⁾. 合併症の調査では, ALGS 74 例中 4 例で腎症が報告された¹³⁾. 後述のように腎合併症の診断は難しいので, 未診断例は多い可能性がある.

3. 病因

ALGS 1 型の *JAG1* は Notch 受容体のリガンドであり, 2 型の *NOTCH2* は Notch 受容体そのものであることから, ALGS の多彩な症状は各臓器における Notch シグナルの障害によって起こると想定される. 実際, ヒトの胎児発生で検討すると, *JAG1* 発現部位と罹患臓器はよく一致している¹⁴⁾. 腎臓の発生過程では (腎) 血管, 糸球体や尿細管, 尿管で, 胎生 4–20 週頃に *JAG1* の発現がみられる. 一方マウスでは, *Jag1* 欠損では血管異常により胎生致死となるが, *Notch2* の欠損で ALGS の症状が再現される¹⁵⁾. Notch シグナルは主として胎生期に働き, 細胞間の情報伝達を担うが, 多数の因子がシグナルの強さを調節しているため, これらが修飾遺伝子となって同一家系内の症状の違いをもたらしている可能性がある. 優性遺伝形式で発症する機序としては, 変異タンパクによってシグナル伝達が阻害される dominant negative よりも, 一方の

Ryo Sumazaki, Hiroki Wada, Toyochiro Kudo: Department of Child Health, Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba 筑波大学大学院人間総合科学研究科 小児科学

0047-1852/12/¥60/頁/JCOPY

遺伝子変異によってタンパク量が低下する haploinsufficiency によると考えられる¹⁵⁾。

4. 病 態

ALGSの腎症としては、腎血管性高血圧、片腎または腎低形成、嚢胞性腎疾患、mesangiolipidosis、尿細管性アシドーシスや tubulointerstitial nephritis、腎不全など多様な病型が報告されている⁹⁾。同一家系内のALGS患者であっても、腎障害の有無、病型、重症度は全く異なる場合がある。例えば、62歳の腎血管性高血圧、50歳のタンパク尿・腎機能低下・萎縮腎を伴う症例、逆流性腎症・高血圧・腎不全により17歳時に腎移植を受けた例、乳児期から高度の黄疸があり肝硬変と静脈瘤出血により20歳時に死亡したが腎病変は全くみられなかった症例が家系内にいて、4人とも同じJAG1遺伝子変異を有していたという報告がある⁹⁾。腎病変の病態は症例ごとに異なり、このため病型や発症年齢に多様性が生じるのであろう。腎動脈の狭窄や腎臓・尿細管の発生期の異常、高血圧や逆流性腎症など発生異常に続発する生後の腎障害の進行、胆汁うっ滞による高コレステロール血症に続発する mesangiolipidosis³⁾など、多彩な病態がありうる。

5. 診断と鑑別診断

典型的なALGSは、乳児期早期の胆汁うっ滞(黄疸)によって診断されるが、腎合併症は幼児期から成人期まで幅広い時期に出現し、また、上記のように多様な病型がありうるため診断は困難である。胆汁うっ滞は幼児期以降に消退する例が多く、腎臓病で受診するときには肝障害があるとは限らない。ALGSによる腎病変を診断するポイントは、ALGSを疑って顔貌(図1)に注目すること、詳細な既往例や家族歴を聴取すること、軽度の肺動脈狭窄を含む心血管の異常、眼科検診、椎体のX線写真など目立たない合併奇形の有無を積極的に検索することの3点である。ALGSの腎合併症の診断アルゴリズムを表1に示す⁹⁾。また、家族歴を含めた遺伝学的検査によるALGSの診断基準を表2に示す¹²⁾。



図1 Alagille症候群の顔貌

幅広く突出した前額部、ストレートな鼻筋、彫りの深く落ちくぼんだ眼、小さく尖った顎が特徴的な顔貌である。

腎障害が前景に立つ非典型的なALGSの診断を確定するためには、遺伝子検索が重要である。検査情報などの詳細は、インターネット上に公開されているWebサイト‘乳児黄疸ネット’を参照されたい。

6. 治療と予後

ALGSの生命予後は、胆汁うっ滞の程度、心奇形、頭蓋内の血管奇形に左右されることが多い。肝移植は一般的には1/3程度の症例で必要とされるが、我が国の全国調査では19%で実施されていた¹³⁾。胆汁うっ滞や重篤な心奇形は、ほとんどが乳幼児期に診療されている。無症候性の脳血管奇形が偶然の機会に見いだされることがあるので、積極的な検索が望まれる。成長障害や発達遅延など長期にわたって包括的な治療・支援が必要な場合も多い¹³⁾。

腎合併症は病型にもよるが、高血圧、高コレステロール血症、腎機能障害などが治療対象で

表1 Alagille 症候群における腎合併症診断のアルゴリズム
(文献⁹⁾より改変)

臨床症状

- ・ 高血圧, 腎血管の異常
- ・ 動脈硬化のリスクが低いにもかかわらず広範な動脈閉塞が存在する
- ・ 腎臓の無形成, 低形成, 嚢胞性腎疾患, 尿細管障害, 逆流性腎症の既往
- ・ 特徴的な顔貌
- ・ 乳幼児期の胆汁うっ滞性肝疾患や黄疸, 腎疾患, 心雑音の家族歴



一般検査所見

- ・ 画像診断により, 頸動脈, 鎖骨下動脈, 腹腔動脈, 上腸間膜動脈, 腎動脈などの狭窄が示される。
- ・ 眼科検診により後部胎生環などの眼球異常が見いだされる。
- ・ 椎体の X 線撮影で二分脊椎などの椎体異常が見いだされる。
- ・ 肺動脈駆出性収縮期雑音や心電図の右心負荷がみられるが, 心臓超音波検査で心内奇形はみられない(末梢性肺動脈狭窄の所見)
- ・ 肝機能異常や高コレステロール血症



遺伝学的検査

- ・ *JAG1*, *NOTCH2* の遺伝子変異を検索

表2 Alagille 症候群診断基準(案)(文献¹²⁾より引用)

1. 主要な症候

- (1) 肝病理所見による小葉間胆管の減少
- (2) 臨床所見
 - ① 胆汁うっ滞
 - ② 心臓血管奇形(末梢性肺動脈狭窄が最も特徴的な所見である)
 - ③ 骨格の奇形(蝶形椎体が特徴的な所見である)
 - ④ 眼球の異常(後部胎生環が特徴的な所見である)
 - ⑤ 特徴的な顔貌

2. その他の症候

腎臓, 神経血管, 脾臓などに Alagille 症候群に特徴的な異常の認められる場合も本症の診断に重要な所見である。

3. 参考事項

- (1) 常染色体優性遺伝形式の家族歴
血族内に Alagille 症候群と診断された者がおり, その遺伝形式が常染色体優性遺伝に矛盾しない。
- (2) 遺伝子診断
JAG1 遺伝子, または *NOTCH2* 遺伝子に変異を認める。

4. 診断の判定基準

以下に挙げた 2 つの場合のいずれかを満たす場合を, Alagille 症候群と診断する。

○ 典型例

1 の (1) を満たし, かつ, (2) の ① から ⑤ のうち, 3 項目以上を満たすもの。

○ 非典型例, または変異アリルを有するが症状の乏しい不完全浸透例

- ・ 1 または 2 に挙げた Alagille 症候群に特徴的な症候が, 1 項目以上みられる。
- ・ 常染色体優性遺伝に矛盾しない家族歴がある。
- ・ 遺伝子診断で上記の所見が認められる。

上記の 3 項目のうち, 2 項目以上を満たすもの。

