

図 先天性代謝異常症の鑑別フローチャート (高アンモニア血症を中心に) (文献2)3)より引用、一部改変)
 *：実際には代謝性アシドーシスを伴うことも多い
 HHH：高オルニチン・高アンモニア・ホモシトルリン尿症、OTC：オルニチントランスカルバミラーゼ、CPS：カルバミルリン酸合成酵素、NAGS：N-アセチルグルタミン酸合成酵素

表2 高アンモニア血症の治療の原則

1. 蛋白摂取を中止し、異化を減少させる
2. アンモニアを除去する (薬物, 体外解毒)
3. アルギニンまたはシトルリンによって尿素サイクル中間代謝物を補給する
4. 診断がつくまで表3のビタミン類を投与する
5. 大量の水分補給により、尿中へのアンモニアの排泄を促す

急性期の対応

高アンモニア血症が判明したら鑑別を進めていくのと同時に、その原因にかかわらず高アンモニア血症に対する治療を速やかに開始しなければならない。治療の原則を表2に、初期投与すべきビタミン類を表3に示す。高アンモニア血症に対してもっとも効果があるものは血液浄化法であり、それを念頭におきながら以下に述べる薬剤を用い

表3 初期投与すべきビタミン類

	投与の目安量	体重3kgの場合の例
ビタミンB ₁ (チアミン)	100~200 mg/日	100 mg
ビタミンB ₂ (リボフラビン)	100~300 mg/日	100 mg
ビタミンB ₁₂ * (シアノコバラミン)	1~2 mg/日 (静注または筋注)	1 mg
ビタミンC (アスコルビン酸)	100 mg/kg/日	300 mg
ビタミンH (ビオチン)	5~20 mg/日	5 mg
ビタミンE (トコフェロール)	100 mg/日	100 mg
カルニチン	100 mg/kg/日	300 mg
コエンザイムQ ₁₀	5 mg/kg/日	15 mg

*：ビタミンB₁₂はヒドロキシまたはシアノコバラミンを使う

て対応すべきである。血液浄化が可能な施設や適切な治療施設と連絡をとりながら行うとよい。ビタミン類の投与は、有機酸代謝異常症はもとよ

り、ミトコンドリア呼吸鎖異常症や各種代謝異常によっておこってくる二次的なミトコンドリア障害にも有用であると思われる。

具体的治療は成書を参考に行っていただきたい⁴⁾。十分なカロリーを確保し、体蛋白の崩壊を防ぐため糖濃度を十分保ちながら (7.5~12%)、L-アルギニン 200~300 mg/kg を 1~2 時間で loading し、同量を 24 時間持続投与する。尿素サイクル異常症の患児で、アミノ酸分析にてシトルリン高値が判明したら、L-アルギニンを 500 mg/kg/日 まで増量する。また、安息香酸ナトリウムを 200~300 mg/kg/日 分 3 で開始する。作製可能であれば、静注薬のほうが効果的である。安息香酸ナトリウムは試薬であり、グリシン抱合によって馬尿酸となり尿へと排泄され、効率よく窒素を除去できる。さらに、フェニル酪酸もグルタミンと結合し尿中へと窒素を排泄させる。これは安息香酸ナトリウムに比べ 2 倍の窒素を除去でき、より効率がよい (しかしフェニル酪酸は治験の段階であり、現在のところ使用できるのは全国で数施設に限られている)。さらに、大量輸液と利尿薬の投与はこれらの薬剤の効果をより高めるために非常に有効な手段である。

血中 NH₃ 値が 1,000 μg/dL 以上のときには血液浄化法の準備をただちに行い、それ以下でも、前述の治療で 6~12 時間以内に改善がみられない場合は積極的に考えるべきである。実際には、L-アルギニンの loading 中に次の手を考えるとよい。治療の次のステップとしては血液濾過、血液濾過透析、腹膜透析などがあるが、腹膜透析はもっとも効率が悪く、状態が severe なときにはすすめられない。交換輸血も効率が悪く、他の血液浄化法へつなぐ一時的なものと考えられるべきである。

レボカルニチン (エルカルチン[®]) は効率よく脂肪をエネルギーに変換するために必要である。急性期は 50~100 mg/kg/日 分 2~3 で投与し、慢性期には 20~30 mg/kg/日 で使用するとよい。また、尿素サイクルで合成された尿素の約 30% は消

化管内に排泄される。この尿素は腸内細菌により再び NH₃ と炭酸ガスへ分解され、吸収される。ラクツロースは乳酸菌の成育を促し、消化管内の pH を下げて NH₃ の生成や吸収を抑制するので、50~100 mg/kg 経口投与する。浣腸などによって排便を積極的に促すこともよい。カナマイシンやメトロニダゾールなどの抗菌薬の投与も同じ目的で使用される。

最近、われわれの施設で、新生児発症の OTC 欠損症例 (男児例) において血液浄化を積極的に行い初回発作をしのいだ後、生体肝移植を行うケースを 3 例報告した⁵⁾。新生児期の高アンモニア血症に対しては、血液浄化法を含めた集中治療を速やかに進めていく重要性が改めて示された。

OTC 欠損症について

OTC は尿素サイクルの第 2 段階の酵素であり、その欠損は高アンモニア血症をきたす。尿素サイクル異常症の中で唯一、X 連鎖遺伝性疾患である。男児患者の多くは新生児期に発症し、生命予後は不良である。男児の遅発症患者も長期的な予後は決してよくない。

一方、女児のヘテロ接合体は、無症状の保因者となる場合と発症して患者となる場合がある。通常、女性の X 染色体は胎生期に二つのうち一つが不活化される (lyonization)。このため、女児のヘテロ接合体の肝臓は OTC を正常に発現している肝細胞と、欠損もしくは異常 OTC を発現している肝細胞が混在している。この欠損ないし異常 OTC 発現細胞の割合が高くなると発症してくるものと考えられている。同一家系内でも症状はさまざまであるが、予後は決してよいわけではない。

診断について

1. 化学診断

すでに前述したように、OTC 欠損症は血中シトルリンの低値および尿中オロト酸が高値であ

れば化学診断が可能である。

2. 酵素診断

前述の化学診断ののち、酵素学的検索を行うことが望ましいが、現在、わが国で酵素診断を行っているところはほとんどない。筆者らの施設では臨床的必要性が高いことから、OTC欠損症については酵素診断を行っている。針生検での凍結組織が1本あれば可能である。

3. 遺伝子診断

OTC欠損症の遺伝子解析については、三菱化学ピーシーエルへ委託されているが、事前に問い合わせが必要である。また、いくつかの施設で行われていることもあり、そうした情報は代謝専門医へ問い合わせたり、先天代謝異常学会のホームページ (<http://square.umin.ac.jp/JSIMD/>) などを参考にされるとよい。

4. OTC欠損症の保因者診断

前述したように、OTC欠損症はX連鎖遺伝性疾患であることから、しばしば母親の保因者診断が必要とされる。アロプリノール負荷試験は、アロプリノールを負荷投与して、尿中へのオロチン酸、オロチジンの排泄増多を評価するものであり、保因者診断として非常に優れた非侵襲的検査といえる。

おわりに

尿素サイクル異常症をはじめ、有機酸代謝異常

症、ミトコンドリア病などの代謝疾患は、新生児科とのかかわりが非常に深い。先天代謝異常のmindをしっかりとった若い新生児科医が増えてきている（と実感している）ことは非常によいことである。本稿が少しでも参考になれば幸いである。

文 献

- 1) Zschocke J, Hoffmann G: Vademecum Metabolicum: Manual of Metabolic Paediatrics. 2nd ed., Schattauer GmbH, 2004 (松原洋一・監訳: 小児代謝疾患マニュアル. 診断と治療社, 2006)
- 2) 村上 潤, 神崎 晋, 田沢雄作: 血清・尿アミノ酸分画, 血中アンモニア. 小児内科 37:196-202, 2005
- 3) Rezvani I: Urea cycle and Hyperammonemia. Nelson Textbook of Pediatrics. 18th ed., Behrman RE et al. eds., Elsevier, 555-561, 2005
- 4) The Urea cycle disorders conference group: Proceedings of a consensus conference for the management of patients with urea cycle disorders. J Pediatr 138 (1 Suppl.):S1-S80, 2001
- 5) 眞山義民, 村山 圭, 鶴岡智子・他: 新生児期発症オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症の3例. 日児誌 113:1830-1834
- 6) 廣瀬伸一: アロプリノール負荷試験. 小児内科 32:716-718, 2000

著者連絡先

〒266-0007 千葉県緑区辺田町579-1
千葉県こども病院代謝科
村山 圭

II. 急性脳炎・脳症の病因・病態

先天代謝異常による急性脳症

藤浪綾子 村山 圭 高柳正樹

Acute encephalopathy in inherited metabolic diseases

Ayako Fujinami, Kei Murayama, Masaki Takayanagi
Department of Metabolism, Chiba Children's Hospital

Abstract

Acute encephalopathy, regardless of the cause, is a medical emergency. In addition to being a common manifestation of a variety of acquired medical or surgical conditions, it is a presenting feature of number of inherited metabolic diseases, particularly in young children.

Because of the importance of identifying treatable inherited metabolic diseases early, initial investigation must not be delayed. In addition, it is important to keep their serum and urine for investigation later.

Key words: acute encephalopathy, inherited metabolic disease, initial investigation, hyperammonemia

はじめに

急性脳症は様々な原因により引き起こされる(図1)¹⁾。その中でも、小児においては先天代謝異常症が関与していることもよく経験する。先天代謝異常症による急性脳症は以下のような特徴を示すことがある。

- ・新生児期や小児期に健康と考えられていた児の場合、前兆がないことが多い。
- ・脳症早期のサインは軽度の行動変化のみで、気づかれないことも多い。
- ・しばしば急速に進行し、変動することが多い。
- ・限局した神経症状は呈さないことが多い。

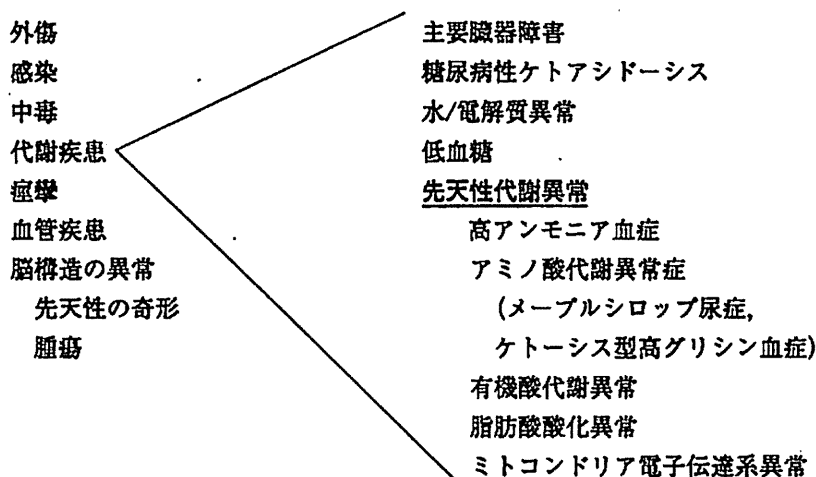
先天代謝異常症による急性脳症の早期の兆候は、傾眠傾向のみならず行動異常や歩行障害として現れることがある。急性や断続的な歩行障

害は、年長の小児における先天代謝異常症による急性脳症の重要な兆候の一つである。嘔吐や意識の悪化を伴う場合は先天代謝異常症の関与を強く示唆する。家族歴をはじめとする病歴を詳細に聴取することが重要になってくる。

1. 初期評価

早期に治療できる先天代謝異常症をきちんと診断することは重要である。昏睡や意識障害のある患者には initial laboratory investigations として表1²⁾に示す検査を行うべきである。

initial laboratory investigations で最も重要な項目は電解質とアンモニアと血糖である³⁾。具合の悪い患児では血液ガス分析が早くに得られ、診断の手がかりとなる情報になることが多い。血液ガス分析により代謝性アシドーシスの有無、

図 1 急性脳症をきたす疾患(文献²⁾より引用)表 1 Initial laboratory investigations
(文献²⁾より引用)

血液：電解質— HCO_3^- , アニオンギャップ
血液ガス—pH, pCO_2 , HCO_3^- , pO_2
アンモニア
血糖
乳酸, ビルビン酸
カルシウム
3-ヒドロキシ酪酸(ケトン体)
尿酸
CK
末梢血一般
尿：ケトン体(アセト酢酸)

表 2 保存すべき検体と保存方法

・血漿または血清
最低 0.5 mL, できればより多く
-20°C 以下に保存
・尿
最低 0.5 mL, できれば 3-10 mL
-20°C 以下に保存
・髄液
できるだけ保存
-20°C 以下に
・ガスリー濾紙
少なくとも 1 スポット
-20°C 以下に保存
・ヘパリン加全血
DNA 抽出用
4°C で保存

電解質異常の有無などの情報を得ることができる。著者らの施設では同時に血糖と乳酸が測定可能である。一般的に代謝緊急症 (metabolic emergency) が少しでも疑われる患者にはこのリストのすべての検査を行うべきである。

尿ケトン体も診断の重要な指標となる。血中 3-ヒドロキシ酪酸がケトン産生の指標としては重要である。ケトン体は尿ではアセト酢酸を、血中では 3-ヒドロキシ酪酸を測定しており、病態によっては乖離することがある。血液中のケトン体を測定すべきであるが、不可能なときは最低でも尿中ケトン体を測定すべきである。

乳酸の上昇は心臓の病気、ショック、低酸素などの存在を示唆するが、有機酸血症やアミノ酸代謝異常症でもミトコンドリア病と同じように乳酸は増加する。血中での pH が正常なこと

で乳酸アシドーシスを除外はできない。乳酸濃度が 5 mM (45 mg/dL) までは、pH はしばしば正常である。

initial laboratory investigations で異常を認めただけには引き続き secondary laboratory investigations を行い、鑑別を進めていく。先天代謝異常症の診断の助けとなる検査には血中・尿中アミノ酸分析、尿中有機酸分析、血中カルニチン 2 分画、血中アシルカルニチンプロファイル (タンデムマス分析) などがある。これらの検査を即時に行える施設は限られている。検査をもれなく行うために可能であれば急性期の血液、尿の検体を適切な保存方法で保存しておくことが重要である (表 2)。

表3 急性脳症における先天代謝異常症の鑑別(文献⁴⁾より引用)

	尿素サイクル異常症	メープルシロップ尿症	有機酸血症	脂肪酸酸化異常症	ミトコンドリア電子伝達系異常
代謝性アシドーシス	なし	±	+++	±	++
血糖	正常	正常または↓	↓↓	↓↓↓	正常
尿ケトン	正常	↑↑	↑↑	なし	なし
アンモニア	↑↑↑	正常	↑↑	↑	正常
乳酸	正常	正常	↑	±	↑↑↑
肝機能異常	正常	正常	正常	↑↑	正常
血中カルニチン	正常	正常	↓↓↓	↓↓	正常
アミノ酸分析	異常	↑BCAA	↑グリシン		↑アラニン
有機酸分析	正常	異常	異常	異常	正常

±: 様々, +: あり, ↑: 上昇, ↓: 低下, BCAA: 分枝鎖アミノ酸.

急性脳症における先天代謝異常症の初期検査の結果についてまとめを表3に示す⁴⁾.

以下に、幾つかの代表的な脳症を起こす先天代謝異常症をあげて概説する.

2. 高アンモニア血症

急性、亜急性の原因不明の脳症のときは血糖、電解質とともにアンモニアもすぐに測定すべきである。しかし、アンモニアはウイルス感染症、毒物摂取、幾つかの先天代謝異常症などを含めた肝障害で上昇するため、結果の解釈には注意を要する。先天代謝異常症の場合はアンモニアの上昇に比べて肝機能異常は軽度であることが多い。

高アンモニア血症の鑑別を図2に示す²⁾.

オルニチントランスカルバミラーゼ(OTC)欠損症はX染色体遺伝であり、男児は新生児期に重症で生命に危険を及ぼす高アンモニア血症を呈する。症候性保因者の女児は小児期後期に食事が摂れない、発育障害、断続的な歩行障害、断続的な脳症を呈することがある。急性脳症を発症し、脳に不可逆的なダメージを受けて初めて診断に至ることもある。また、30-40歳以降に進行性高アンモニア脳症を呈する成人発症型OTC欠損症も存在する。それまで全く健康であり、感染や手術などを契機に急速に昏睡となり死亡することも多い。

シトルリン血症も新生児期に高アンモニア血症を呈することが多い。アミノ酸分析の定量にてOTC欠損症との区別がつく。

リジン尿性タンパク不耐症は新生児後期や小児期早期に高アンモニア脳症を起こす。成長障害と肝腫大、凝固異常、肺疾患や腎疾患を起こすタンパク代謝異常症である。全身の2塩基アミノ酸トランスポーターの異常である。血中アルギニン、オルニチン、リジンが著明に低下し、尿中アルギニン、オルニチン、リジンが著明に上昇する。

シトルリン欠損症は成人においては成人発症型type IIシトルリン血症(CTLN2)として感染、薬物、アルコール摂取により急激に高アンモニア血症、急性有機酸脳症症候群、失見当識、せん妄、昏睡となり急速に悪化して死に至る。

3. メープルシロップ尿症 (ロイシン脳症)

メープルシロップ尿症は新生児マススクリーニングにも入っている疾患であり、スクリーニング見逃し症例の報告はほとんどない。新生児期に急性脳症を呈するとされており、新生児マススクリーニングの結果を確認することが必要である。アシドーシスや高アンモニア血症が主症状となることはない⁵⁾。

軽症型は小児期に症状が出ることもある。発

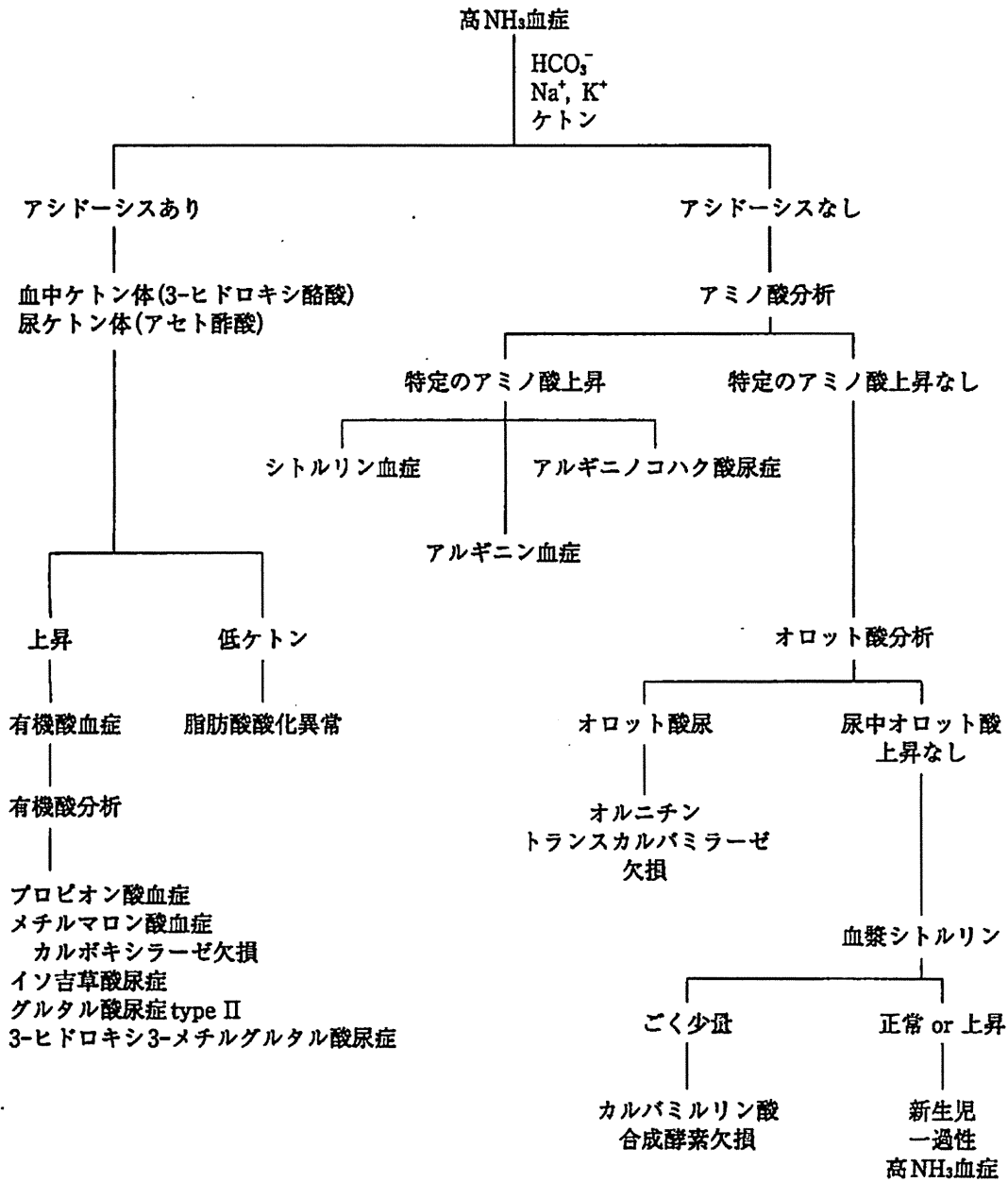


図2 高アンモニア(NH₃)血症の患者へのアプローチ(文献⁶⁾より引用)

育, 発達障害をきたすことが多い。2-オキソイソカブロン酸が蓄積することにより脳症を呈する。尿検査にてケトンが陽性となる。ジニトロフェニルヒドラジン(DNPH)試験にてαケト酸が強陽性となる。確定診断は血中アミノ酸分析にて行う。ロイシン, イソロイシン, パリン, アロイソロイシンの増加を認める。

4. Reye 症候群, Reye-like 症候群

Reye 症候群とは上気道感染が先行し, 回復期に嘔吐, 痙攣, 意識障害が発症する症候群で

あり, 諸臓器に脂肪沈着を伴う急性脳症として知られる⁶⁾。Reye-like 症候群とは臨床的に Reye 症候群と区別がつかず, 肝生検によって否定されたものである。臨床的に Reye 症候群と区別がつかず, 肝生検が行われていない症例は, 臨床的 Reye 症候群と呼ばれている。これらの多くは高アンモニア血症(先天性尿素サイクル異常症), 先天性有機酸異常症, 脂肪酸酸化異常症, 各種薬物, ミトコンドリア呼吸鎖異常症, ウイルスやその他の原因による脳炎などであることがわかってきている⁷⁾。現在 Reye-like 症候

群とされている症例に関しても、今後診断のつく可能性がある。

5. 脂肪酸代謝異常症

脂肪酸酸化異常の急性脳症は Reye-like 症候群とされていることが多い。脂肪酸代謝異常症の中で有名なものには中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症がある。生後 1-2 年の間に経口摂取不良時に低ケトン性低血糖、痙攣、昏睡をきたす。Reye 症候群とは臨床的に区別はつかない。症状出現時の尿中有機酸分析にてヘキサノイルグリシン、スベリルグリシン、C6-10 のジカルボン酸 (アジピン酸、スベリン酸、セバシン酸) が認められるがケトン体はほとんど検出しない。アシルカルニチンプロファイルでは症状のない時期でもオクタノイルカルニチン (C8) の蓄積を認める。低血糖の是正が重要となる。

その他の脂肪酸代謝異常症も報告が増えている。全身性カルニチン欠損 (カルニチントランスポーター欠損症) と長鎖ヒドロキシアシル CoA 脱水素酵素 (LCHAD) 欠損症は Reye-like の急性脳症を示すが、MCAD 欠損症にはみられない骨格筋の症状がみられる。

短鎖アシル CoA 脱水素酵素 (SCAD) 欠損症はまれではあるが、新生児期に代謝性アシドーシスを伴う脳症を呈する。カルバミルパルミトイルトランスフェラーゼ II (CPT II) 欠損症は小児期にミオパチーとして見つかることが多いが、新生児期に Reye-like 急性脳症を繰り返すことがあり、MCAD 欠損症との区別がつきにくい。

6. ミトコンドリア呼吸鎖異常症

ミトコンドリア呼吸鎖異常症は最も頻度の高い代謝異常症である。ミトコンドリアは糖質、脂質、タンパク質から生体に必要なエネルギー源である ATP を産生している。‘ミトコンドリア病’は呼吸鎖 (電子伝達系) または酸化リン酸化の障害である。ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症 (MRCD) は多彩な臓器症状を呈する先天代謝異常症であり、有病率は 5,000 人に 1 人といわれている⁹⁾。

臨床的には Leigh 症候群や Reye-like 症候群、急性脳症といった診断になっていることが多い。各種臓器や線維芽細胞の呼吸鎖酵素活性を測定することにより診断する。組織特異性があり障害臓器を測定することが原則であるが、Leigh 症候群では筋肉や線維芽細胞で、また肝障害を伴う Reye-like 症候群では肝臓で診断がつくことも多い。

治療に際し我々は、ミトコンドリアレスキュー薬として各種ビタミン剤や補酵素の投与を行っているが十分なエビデンスの確立しているものではない⁹⁾。

おわりに

代謝異常による急性脳症は様々な原因が考えられる。診断をきちんとつけることは重要であるが、アミノ酸分析や有機酸分析などすべての施設ですぐに検査が行えるわけではない。そのため、原因検索のために急性期の検体を採取し、適切な状態で保存することが必要である。

■ 文 献

- 1) Clarke JTR: Summary of major causes of acute encephalopathy. In: A Clinical Guide to Inherited Metabolic Diseases, p54, Cambridge University Press, Cambridge, 2006.
- 2) Metabolic Emergencies. In: Inherited Metabolic Diseases, p32-88, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2002.
- 3) 藤浪綾子ほか: 救急外来で見逃してはいけない先天代謝異常症. 小児科診療 69: 1574-1578, 2006.
- 4) Clarke JTR: Differential diagnosis of inherited metabolic diseases presenting as acute encephalopathy. In: A Clinical Guide to Inherited Metabolic Diseases, p55, Cambridge University Press, Cambridge, 2006.

- 5) Clarke JTR: Differential diagnosis of inherited metabolic diseases presenting as acute encephalopathy. In: A Clinical Guide to Inherited Metabolic Diseases, p61, Cambridge University Press, Cambridge, 2006.
- 6) 木村昭彦: ライ症候群. 肝・胆・膵 55: 229-235, 2007.
- 7) 高柳正樹: ミトコンドリア異常症・尿素サイクル異常症. 小児消化器肝臓病マニュアル(白木和夫監), p270-272, 診断と治療社, 2003.
- 8) Skladal D, et al: Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children. Brain 126: 1905-1912, 2003.
- 9) 村山 圭ほか: ミトコンドリア病(ミトコンドリア呼吸鎖異常症). 小児科臨床 63: 2071-2079, 2010.

356 先天性代謝異常の マス・スクリーニング

Newborn mass screening for inborn metabolic disease

村山 圭
Kei Murayama

千葉県こども病院代謝科
[〒266-0007 千葉県千葉市緑区辺田町 579-1]

Key words: 新生児マス・スクリーニング, 先天代謝異常, タンデムマス, 障害予防

新生児マス・スクリーニングは「知らずに放置すると重篤な障害を残す疾患を、発症前にみつけて治療を行い、障害を予防する事業」である。我が国では1977年に先天性代謝異常5疾患を対象とした検査費用公費負担による新生児マス・スクリーニング検査が全国規模で開始され、その後、内分泌疾患である先天性甲状腺機能低下症(クレチン症)と先天性副腎過形成が加わり、さらにヒスチジン血症が外れ、現在は6疾患(表1)が対象となっている。さらに、タンデムマスという質量分析法が1990年代に開発され、現在多くの自治体で施行され始めており、従来の6疾患に加え、約20ほどの先天代謝異常症のスクリーニングが行われている。つまり新生児マス・スクリーニングは新たな局面に入ってきている。

マス・スクリーニング対象疾患の満たすべき要件

マス・スクリーニングは病気の早期発見(発症前診断)とともに障害発生防止に寄与するものでなくてはならない。したがって、対象疾患はある一定の要件を満たす必要がある。すなわち、①発症前にみつける、②放置すると重大な障害を起こす疾患、③治療法がある疾患、④新生児に負担にならない検査、⑤精度の高い検査、⑥安価な検査費用、⑦好ましい費用対効果、である。現行スクリーニングおよび後述するタンデムマス・スクリーニングも、以上を踏まえた上で対象疾患や精度、カットオフ値などたえず検証していく必要がある。

従来のマス・スクリーニング

現在我が国では表1に示す六つの疾患が対象疾患で、100%の新生児が検査を受けていることになる。中でもクレチン症は最も発見頻度が高く、治療効果もよく、また治療費用も安価であり、便益性は最も優れている。フェニルケトン尿症は7~8万人に1人の発見頻度で、白人の1万人に1人の頻度と比べると低い。発見され治療を行った患者のほとんどす

表1 現行マス・スクリーニング対象疾患と発見頻度

高フェニルアラニン血症	7~8万人に1人
メープルシロップ尿症	50万人に1人
ホモシスチン尿症	80万人に1人
ガラクトース血症(全体)*	3万人に1人
クレチン症	3,000人に1人
先天性副腎皮質過形成症	2万人に1人

*ガラクトース高値の多くは、酵素欠損(1型, 2型)ではなく、門脈奇形やシトリン欠損症などの2次的なものである。酵素欠損は1型は80万人に1人、2型は60万人に1人である

べてが正常発達をしており、スクリーニングの効果、便益性とも良好である。

ガラクトース血症は、実際には真の酵素欠損はほとんどなく(10%以下)、2次性のガラクトース血症のほうがはるかに多い。胆道閉鎖症、乳児肝炎、シトリン欠損症、門脈大循環シャントを呈する疾患群などがそれに属する。マス・スクリーニングに伴う副産物のようなものであるが、患者にとっては恩恵が大きい。

タンデムマス・スクリーニング

現在世界的に本スクリーニングが導入されつつある。この方法により表2のようなアミノ酸代謝異常、尿素サイクル異常、有機酸・脂肪酸代謝異常など20種類以上の疾患を1回の検査でスクリーニングできる。今のところ、マス・スクリーニングの要件をおおむね備えた16疾患と、見落としや治療効果が不十分な9疾患の計25疾患が理論的に発見可能となる。これらのスクリーニングは現在のところ図に示す地域で行われており、全国の新児のおよそ4人に1人が本スクリーニングを受けている計算になる。近い将来、タンデムマス・スクリーニングは全国実施されるはずである。

このスクリーニングにおける効果を示したものが表3である。有機酸代謝異常症も脂肪酸代謝異常症も、大幅な予後の改善が認められており、スクリーニングの有用性は明らかである。一部の有機酸代謝異常症は、たとえ早期発見したとしても、十分な治療効果が得られない場合もあることは知っておきたい。一方、脂肪酸代謝異常症は、発症するまで何ら問題がなかった児が、感染等のストレスがかかることにより、急性脳症や突然死を発症してしまう疾患

表2 タンデムマス・スクリーニングでみつける主な疾患

	タンデムマスの代謝疾患	発症時期	主な臨床症状	発見頻度	感度
アミノ酸代謝異常	1) フェニルケトン尿症**	新～乳	痙攣, 発達遅滞	1:6万	○
	2) メーブルシロップ尿症**	新～乳	多呼吸, アシドーシス	—	○
	3) ホモシスチン尿症**	新～乳	遅れ, 発育異常	—	○
	4) 高チロジン血症1型	新～乳	肝・腎不全	—	▲
	5) シトルリン血症1型	新～乳	興奮, 多呼吸, 昏睡	1:40万	○
	6) アルギニノコハク酸血症	新～乳	興奮, 多呼吸, 昏睡	1:80万	○
	7) アルギニン血症	新～乳	興奮, 多呼吸, 昏睡	—	▲
	8) シトルリン欠損症	新～乳	一過性乳児肝炎類似症状	1:9万	▲
有機酸代謝異常	9) メチルマロン酸血症	新～乳	アシドーシス, 発達遅滞	1:11万	○
	10) プロピオン酸血症	新～乳	アシドーシス, 発達遅滞	1:4万	○
	11) ケトチオラーゼ欠損症	新～乳	ケトアシドーシス発作	—	▲
	12) イソ吉草酸血症	新～乳	アシドーシス, 体臭	1:40万	○
	13) メチルクロトニルグリシン血症	新～乳	筋緊張低下, ライ症候群	1:13万	○
	14) HMG血症	新～乳	ライ症候群, 低血糖	—	○
	15) 複合カルボキシラーゼ欠損症	新～乳	湿疹, 乳酸アシドーシス	1:40万	○
	16) グルタル酸尿症1型	新～幼	アテトーゼ, 発達遅滞	1:20万	○
脂肪酸代謝異常	17) MCAD欠損症	乳～幼	ライ症候群, SIDS	1:13万	○
	18) VLCAD欠損症	乳～成	低血糖, 筋肉症状, 心障害	1:20万	○
	19) TFP(LCHAD)欠損症	新～成	ライ症候群, SIDS	—	○
	20) CPT1欠損症	新～乳	ライ症候群, 肝障害	1:27万	○
	21) CPT2欠損症	新～成	ライ症候群, 筋肉症状	1:30万	▲
	22) TRANS欠損症	新～乳	ライ症候群, SIDS	—	▲
	23) 全身性カルニチン欠乏症	乳～幼	ライ症候群, SIDS	1:20万	▲
	24) グルタル酸尿症2型	新～乳	ライ症候群, 低血糖	1:16万	▲
	25) SCHAD欠損症	新～乳	低血糖発作	1:18万	▲

HMG: 3-OH-3-メチルグルタル酸, VLCAD: 極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素, MCAD: 中鎖アシル-CoA 脱水素酵素, LCHAD: 長鎖 3-OH-アシル-CoA 脱水素酵素, TRANS: トランスロカーゼ, SCHAD: 短鎖 3-ヒドロキシアシル-CoA 脱水素酵素, 新: 新生児期, 乳: 乳児期, 幼: 幼児期

** 現行マス・スクリーニング対象疾患

○: 1次対象疾患(おおむね発見できる。治療効果も期待できると判断される疾患) 16疾患
 ▲: 2次対象疾患(現時点では, 見落とし例や治療効果が不確実な可能性のある疾患) 9疾患

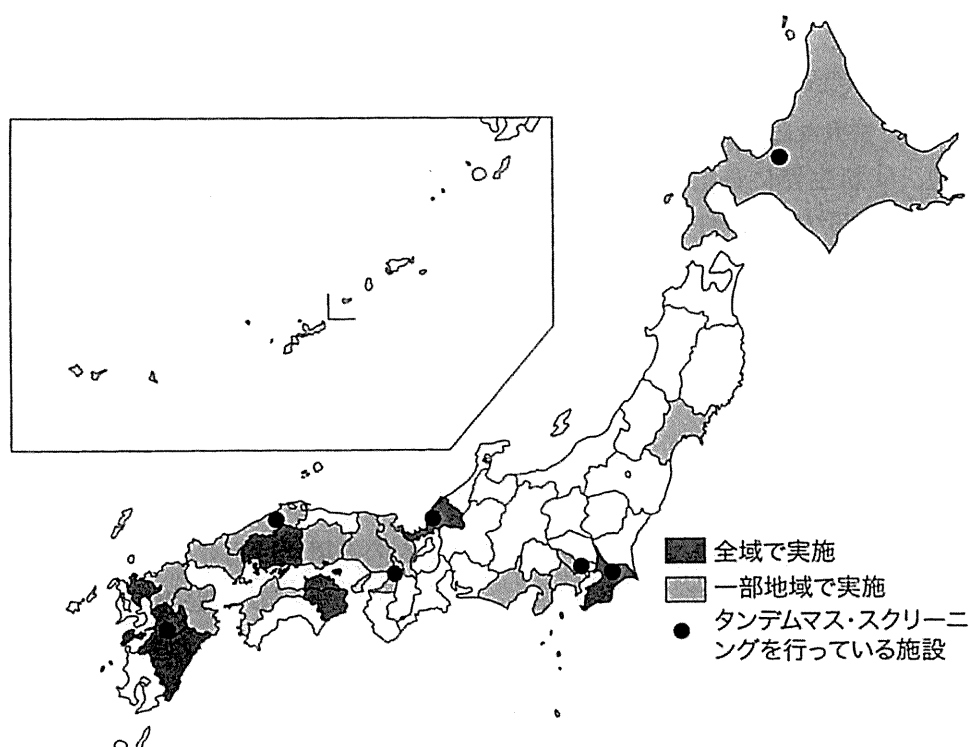


図 タンデムマス・スクリーニングを行っている地域

表3 有機酸・脂肪酸代謝異常の「発症前診断」と「発症後診断」の予後比較

病気の種類 転帰	新生児スクリーニング(タンデムマス)*	発症してからの検査(発症後診断)**
全患者数	76	175
有機酸血症	52	141
正常	44(85%)	47(33%)
障害	5(10%)	61(43%)
死亡	3(5%)	34(24%)
脂肪酸代謝異常	24	34
正常	24(100%)	18(53%)
障害	0	6(18%)
死亡	0	10(29%)

*福井大学と厚生労働省研究班のパイロットスタディの結果(1997~2007)

**島根大学小児科で発症後に診断した患者の調査結果(2001~2007)

である。新生児スクリーニングを施行し、発症前の段階で適切な生活指導、カルニチンなどの服薬、感染時の早期介入等を行うことによって、ほぼ健全な発達・発育が可能となる。今後は先述したようなスクリーニング要件を考慮しながら、対象疾患を定期的に見直していく必要がある。

ピットフォール

タンデムマスはあくまでもスクリーニングであり、それで診断がつくわけではない。陽性者に対する確定診断は尿中有機酸分析であったり、各種酵素活性の測定であったり、遺伝子解析であったりする。どこでそれらを行っているかは、先天代謝異常学会のHP等を参照し、問い合わせをしていただき

たい。

今後の課題

新生児マス・スクリーニングは、疾患を早期発見するだけでなく、適切な治療を行うことにより小児の障害予防へとつながっていかなくてはならない。そのためには、各地に代謝疾患に精通した専門家が必要になるのであるが、そうした専門家は少なく、ほとんど絶滅危惧種に近い。さしあたり必要なことは、スクリーニング陽性者に対する確定診断・治療のネットワークを確立し、浸透させていくことであろう。日本のどこで発症しても、ほぼ同じレベルの治療が受けられるようなシステム作りが今後の大きな課題である。

また、本来治療を必要としない軽症例の発見も少なからず生まれてしまう。それらの自然歴はあまりよくわかっておらず、発見の是非については不定であることが多い。時に不必要なストレスを家族にかけてしまうことにもなるため、適切なフォローアップと自然歴等の情報の集約化もまた重要な課題である。

文献

- 1) 厚生労働省科学研究(こども家庭総合研究事業)研究班:「タンデムマス等の新技術を導入した新生児マススクリーニング体制の研究」:新しい新生児マススクリーニング, タンデムマス Q & A 2009, 2009
- 2) 山口清次:見逃せない先天代謝異常 1章 まずは診断しなくては:一臨床症状からの診断手順—新生児マススクリーニングで異常になったとき, 小児科臨床ピクシス 23:66-68, 2010

* * *

256 高アンモニア血症

Hyperammonemia

鶴岡 智子*1 村山 圭*2
Tomoko Tsuruoka, Kei Murayama

*1 千葉県こども病院新生児・未熟児科

*2 同 代謝科

〒266-0007 千葉県千葉市緑区辺田町 579-1

Key words: 高アンモニア血症, 尿素サイクル異常症

概 念

高アンモニア血症は種々の原因で生じるが、アンモニアは神経毒性が強く、放置すれば死亡も含め重篤な後遺症を残す可能性が高い。

新生児期に発症する代謝疾患は、いずれも嗜眠・哺乳不良・嘔吐・呼吸障害・筋緊張低下・痙攣などの非特異的な症状を呈する。したがって、代謝疾患が少しでも疑われる場合には、一般的な血液検査に加え、代謝スクリーニングの first line 検査(表 1)をまず行うべきである。そこで、高アンモニア血症が判明した場合には、早急に原因検索を進めながら、高アンモニア血症に対する初期治療を開始する必要がある。

血中アンモニア値

高アンモニア血症の評価については表 2 に示す(単位が 2 種類あるので注意する)。一般に新生児は血中アンモニア値は高めであるが、 $200 \mu\text{mol/L}$ ($339 \mu\text{g/dL}$) 以上であれば代謝性疾患が疑われる。組織中のアンモニア濃度は血液中より 10 倍も高いため、アンモニアの偽性上昇はよく起こり、採血条件によっては高値となってしまうため、駆血せずに採取した静脈血(または動脈血)を氷冷保存し、速やかに測定するのがよいとされる。

症状については、血中アンモニア値が $200 \mu\text{g/dL}$ 以上になると意識レベルの低下を認め、 $400 \mu\text{g/dL}$ を超えると、脳浮腫が進行してくるといわれている。

糖・蛋白・脂肪の分解にかかわる代謝性疾患では、生後 2 日以降に症状を呈するが、高アンモニア血症は、生後 1 日以内に発症することもある。

鑑別疾患

新生児期に起こる高アンモニア血症の原因は大きく以下の五つに分類される(表 3)。①尿素サイクル異常症、②有機酸代謝異常症、③重症肝障害、④門脈-大循環シャント、⑤ミトコンドリア障害である。

表 1 先天代謝異常症を疑った際の検査

1. 代謝スクリーニングの first line 検査 (Zschocke ら, 2006 より引用一部改変)¹⁾

血液ガス分析・電解質・血糖

アンモニア

乳酸・ビルビン酸

ケトン体

一般血液検査(血算・生化・凝固など)

尿一般・尿ケトン体(アセト酢酸)

2. 高アンモニア血症鑑別のための second line 検査

血中アミノ酸分析

尿中有機酸分析

尿中アミノ酸分析

尿中オロット酸分析(シトリン低値の場合)

血中アシルカルニチン分析(タンデム・マス)
(血漿 or 血清・尿 各 1 mL, 濾紙血の保存)

表 2 高アンモニア血症 (NH_3 濃度: $\mu\text{mol/L} = 0.59 \times \mu\text{g/dL}$) (村山, 2010)²⁾

新生児	
健康	< $110 \mu\text{mol/L}$
一般状態の悪い時	$180 \mu\text{mol/L}$ まで
代謝性疾患の疑い	> $200 \mu\text{mol/L}$
乳児期以降	
健康	$50 \sim 80 \mu\text{mol/L}$
代謝性疾患の疑い	> $100 \mu\text{mol/L}$

表 3 高アンモニア血症の主な原因(村山, 2010)²⁾

1. 尿素サイクル異常症: OTC 欠損, CPSI 欠損症など重篤な高アンモニア血症の中で最も頻度が高い。
2. 有機酸代謝異常症: メチルマロン酸血症, プロピオン酸血症など
重篤な新生児高アンモニア血症のうち、約 30% を占める。アンモニア値だけで尿素サイクル異常症との区別はつかない。
3. 重度の肝障害: 重症肝炎, ヘモクロマトーシスなど
トランスアミナーゼ値上昇や凝固能障害は、尿素サイクル異常症などでもみられる。
4. 門脈-大循環シャント
総胆汁酸や哺乳後のガラクトース値をチェックする。
5. ミトコンドリア障害
高乳酸血症や複数の臓器障害がみられる時に疑う。

重度の高アンモニア血症は主に、①, ②において認められることが多い。

高アンモニア血症の鑑別の流れを図に示す^{3,4)}。鑑別のために、次に行うべき検査は、①血中アミノ酸分析, ②尿中有機酸分析, ③尿中アミノ酸分析, ④

HHH: 高オルニチン・高アンモニア・ホモシトルリン尿症
 OTC: オルニチントランスカルバミラーゼ
 CPS: カルバミルリン酸合成酵素
 NAGS: N-アセチルグルタミン酸合成酵素

*1: 実際には代謝性アシドーシスを伴うことも多い

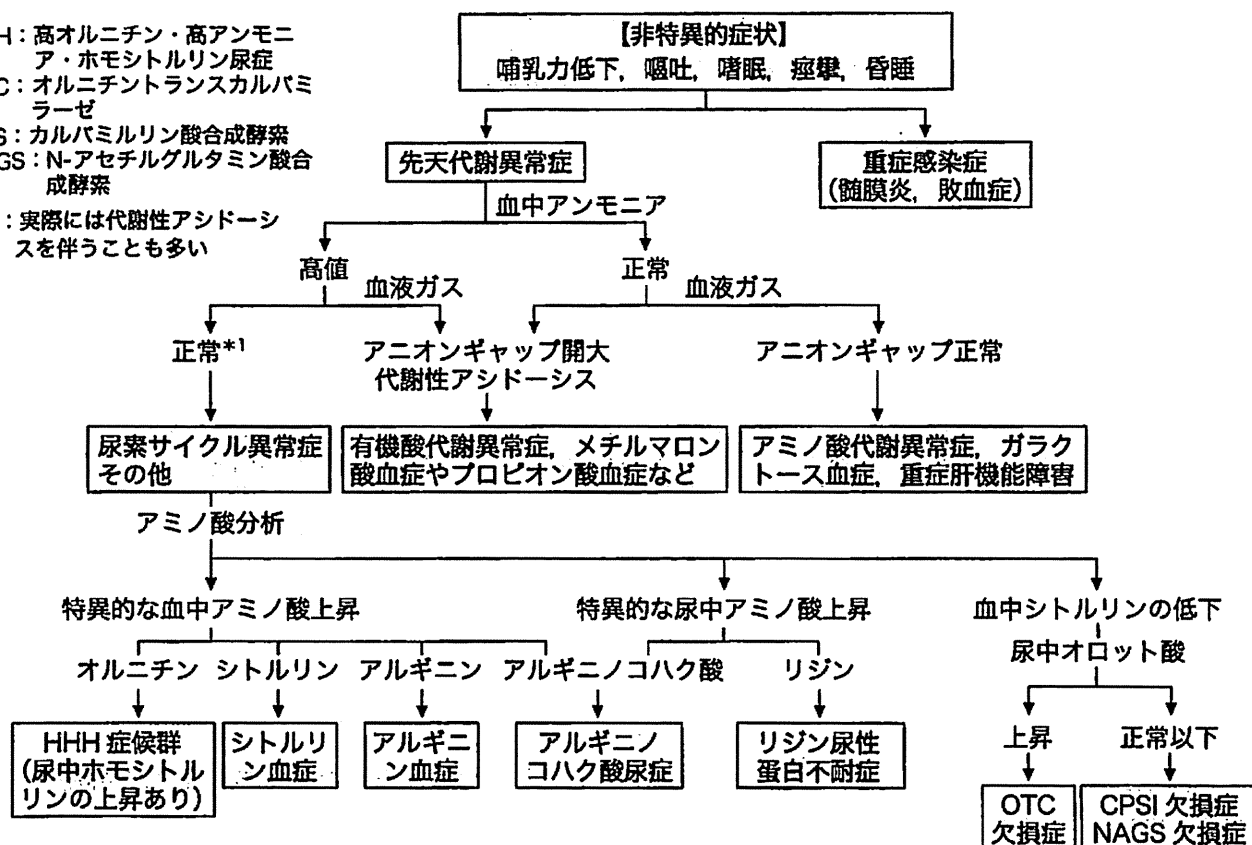


図 先天代謝異常症の鑑別フローチャート—高アンモニア血症を中心に—(村上ら, 2005; Behrman, 2005 より引用一部改変)^{3,4)}

尿中オロット酸分析(血中アミノ酸分析でシトルリン値が低い場合は必要), ⑤血中アシルカルニチン分析(MS/MS)である。高アンモニア血症が判明した時点で, 血清 or 血漿 1 mL と尿 5~10 mL, 濾紙血を確保しておくことが重要である。

重度の高アンモニア血症において, アシドーシスを伴う場合は有機酸代謝異常症を, アシドーシスを伴わない場合は尿素サイクル異常症を疑うが, 実際には, 尿素サイクル異常症でも代謝性アシドーシスや肝機能障害, 高K血症などをきたすことがある。また, 低い尿素窒素(BUN)は, 尿素サイクル異常症を疑う重要な指標となる。新生児では, 尿素窒素の低値はよくみられるが, 尿素サイクル異常症では, 全身状態が悪いにもかかわらず, 尿素窒素がさほど上昇しない。

重症肝障害については, 肝臓の大きさやフェリチン値(ヘモクロマトーシスや血球貪食症候群では上昇する), 凝固能などを参考に評価する。尿素サイクル異常症や有機酸代謝異常症では, トランスアミナーゼが何千にまで上がることはない。門脈-大循環シャントでは, アンモニアもトランスアミナーゼもそれほど高値とはならない。総胆汁酸やミルク負

荷後のガラクトース値が上昇するため, それを参考に, エコーや3D-CTにて診断を進めていく。

急性期の治療

治療の原則および初期投与すべきビタミン類を表4に示す。高アンモニア血症に対して最も効果があるのは血液浄化法であり, それを念頭に置きながら以下に述べる薬剤を用いて対応すべきである。ビタミン類は有機酸代謝異常症はもとより, ミトコンドリア呼吸鎖異常症や各種代謝異常によって起こってくる2次的なミトコンドリア障害にも有用であると思われる。

1. 輸液

体蛋白の崩壊を防ぐために, 十分なカロリーを確保する(60~100 kcal/kg/日)。糖濃度の高い輸液に脂肪製剤を適宜加える。また, 蛋白負荷を抑えるため絶食にする。

2. 薬物療法

1) アルギニン(アルギU静注用がなければGH検査に使う塩酸アルギニンでも可)

200~300 mg/kgを1~2時間でloadingし, その後は同量を24時間で投与する。アミノ酸分析でシトルリン高値の場合は, 500 mg/kg/日まで増量する。

表4 高アンモニア血症の治療の原則&初期投与すべきビタミン類

1. 蛋白摂取を中止し、異化を減少させる。
2. アンモニアを除去する(薬物、体外解毒)。
3. アルギニンまたはシトルリンによって尿素サイクル中間代謝物を補給する。
4. 診断がつくまで下記のビタミン類を投与する。
5. 大量の水分補給により、尿中へのアンモニアの排泄を促す。

初期投与すべきビタミン類	投与の目安量	3 kg の場合の例
Vit B ₁ (チアミン)	100~200 mg/日	100 mg
Vit B ₂ (リボフラビン)	100~300 mg/日	100 mg
Vit B ₁₂ * (シアノコバラミン)	1~2 mg/日(静注また筋注)	1 mg
Vit C(アスコルビン酸)	100 mg/kg/日	300 mg
Vit H(ビオチン)	5~20 mg/日	5 mg
Vit E(トコフェロール)	100 mg/日	100 mg
カルニチン	100 mg/kg/日	300 mg
CoQ	5 mg/kg/日	15 mg

*ビタミン B₁₂はハイドロキシまたはシアノコバラミンを使う

2) 安息香酸ナトリウム

200~300 mg/kg/日分3で開始する。作製可能であれば、静注薬のほうが効果的である。安息香酸ナトリウムは試薬であり、グリシン抱合によって馬尿酸となり尿へと排泄され効率よく窒素を除去できる(alternative pathway)。

フェニル酪酸もグルタミンと結合し尿中へと排泄させる。これは安息香酸ナトリウムに比べ2倍の窒素を除去でき、より効率がよい(しかしフェニル酪酸は治験の段階であり、現在のところ使用できるのは全国で数施設に限られている)。

3) カルニチン

効率よく脂肪をエネルギーに変換するために必要である。急性期は50~100 mg/kg/日分2~3で、慢性期には20~30 mg/kg/日で使用する。

3. 血液浄化法

アンモニアが1,000 μg/dL以上の時には直ちに行う準備をし、それ以下でも前述の治療で6~12時間以内に改善がない場合は積極的に考えるべきである。腹膜透析や交換輸血は効率が悪く、血液持続濾過透析(CHDF)が選択されることが多い。

4. その他

尿素サイクルで合成された尿素の約30%は消化管内に排泄される。この尿素は腸内細菌により再びアンモニアと炭酸ガスへと分解され、吸収される。ラクツロースは乳酸菌の成育を促し、消化管内の

pHを下げアンモニアの生成や吸収を抑制する。浣腸を行い排便を促したり、カナマイシンやメトロニダゾールなどの抗菌薬の投与も同じ目的で使用される。

いずれにしても、特に重篤な高アンモニア血症の場合、初期治療の進め方によって大きく予後が左右されてしまうため、代謝専門医や血液浄化の専門医など、各専門施設との連携をとりながら行っていくのがよい。

安定期、維持期の治療

長期の絶食は、かえって体蛋白の崩壊へと進んでいくため、早期(1週間以内)での蛋白摂取が望まれる。尿素サイクル異常症では安定期、維持期の治療は、食事療法(蛋白制限)と薬物療法(アルギニン・安息香酸ナトリウム・カルニチンなど)が主体となる。摂取可能蛋白量は各疾患・症例によって異なるが、アンモニアやアミノ酸分析を中心としたデータを参考に、食事量や薬物量を調整する。ミルクであれば特殊ミルク 雪印 S-23(無蛋白乳)を普通ミルクと組み合わせて使用する。

文献

- 1) Zschocke J, Hoffmann GF, 松原洋一監訳: 小児代謝疾患マニュアル, 診断と治療社, 東京, 2006
- 2) 村山 圭: 高アンモニア血症への対応, 周産期医学 40(6): 947-951, 2010
- 3) 村上 潤, 神崎 晋, 田沢雄作: 血清・尿アミノ酸分画, 血中アンモニア. 小児内科 37: 196-202, 2005
- 4) Behrman RE (ed): Nelson Textbook of Pediatrics, 17th ed, Elsevier, Philadelphia, pp397-398, 2396-2427, 2005



Case Report of a Successful Liver Transplantation for Acute Liver Failure Due to Mitochondrial Respiratory Chain Complex III Deficiency

I. Iwama, Y. Baba, S. Kagimoto, H. Kishimoto, M. Kasahara, K. Murayama, and K. Shimizu

ABSTRACT

Mitochondrial respiratory chain disorders can cause acute liver failure in infants and children. Liver transplantation, however, has rarely been indicated for patients with mitochondrial respiratory chain disorders, because of the extrahepatic involvement. Herein we reported a case of acute liver failure with mitochondrial respiratory chain complex III deficiency treated by liver transplantation. At 2 years after transplantation, there were no extrahepatic manifestations. We suggest that mitochondrial disorders should be considered to be a cause of liver failure in infancy and that liver transplantation can be a life-saving treatment.

Inborn errors of oxidative phosphorylation, the so-called mitochondrial respiratory chain disorders (MRCs) have recently been recognized as one of a common group of inborn errors of metabolism, affecting at least 1 in 5,000 individuals.¹ The disease may start in the neonatal period or later in childhood. Clinical presentations vary considerably; thus there may be a significant delay in diagnosis.

MRC can cause of acute liver failure (ALF) in infancy and children. Liver transplantation, however, has rarely been indicated for patients with MRC, because of extrahepatic involvement. We report herein a case of ALF due to mitochondrial respiratory chain complex III deficiency that was treated with liver transplantation. At 2 years after transplantation, no extrahepatic manifestations were demonstrated. The patient was doing well at the time of writing, with ubiquinone supplementation for mitochondrial support.

CASE REPORT

A 10-month-old boy was referred to our tertiary care medical center because of ALF. His parent's main concern was fever with decreased consciousness. He was born at 39 weeks' gestation via a normal vaginal delivery. He had neither his medical history nor family history (2 healthy siblings) was remarkable. Growth and development had been normal.

Fever and vomiting began a day before admission. On the day of admission, he continued vomiting and developed acutely reduced consciousness. He had not received any medication. His Glasgow coma scale was 4 (E1V1M3). His temperature was 38°C. The liver edge was palpable at 6 cm beneath the right costal margin.

Laboratory values on admission showed hypoglycemia (16 mg/dL) with significant elevations in transaminases aspartate transaminase, ([AST] 11,320 IU/L [normal, 23–70 IU/L]; alanine transaminase [ALT] 4,800 IU/L [normal, 9–53 IU/L]; lactate dehydrogenase (7,646 IU/L [normal, 205–423 IU/L]; and NH₃ (236 μmol/L [normal, 9–47 μmol/L]) and mitochondrial AST (454 IU/L [normal, <7 IU/L]). Bilirubin and gamma-glutamyl transpeptidase (GGTP) were only slightly elevated (total bilirubin, 1.6 mg/dL [normal, 0.1–0.6 mg/dL; and GGTP, 45 IU/L [normal, 6–38 IU/L]). There was lactic and pyruvic acidemia (lactic acid, 95.2 mg/dL [normal, 4.2–17 mg/dL]; and pyruvic acid, 3.2 mg/dL [normal, 0.3–0.9 mg/dL]). The lactate-to-pyruvate ratio was 30 (normal, <20). Prothrombin time was prolonged (PT-INR, 12.99 [normal, 0.81–1.38]). Abdominal computerized tomography showed reduced density in the liver with no structural anomaly. Screenings for cytomegalovirus, adenovirus, herpes simplex virus, hepatitis A, B, and C, parvovirus B19, toxoplasmosis, and syphilis were all negative. Urinary lactate and dicarboxylic acid levels were markedly increased. Brain magnetic resonance imaging (MRI) was normal.

He was diagnosed to display ALF with hepatic encephalopathy. Continuous hemodialysis and plasma exchange were initiated for the hepatic encephalopathy and coagulopathy. Because the patient's coagulopathy resolved by repeated plasma exchange and platelet counts were kept to >70,000/mm³, a single-pass percutaneous

From the Division of General Pediatrics (I. I., S. K.), Division of Pathology (H. K.), and Division of Medical Genetics (K. S.), Saitama Children's Medical Center, Saitama, Japan; Department of Pediatrics and Adolescent Medicine (Y. B.), Juntendo University School of Medicine Tokyo, Japan; Department of Transplant Surgery (M. K.), National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan; and Department of Metabolism (K. M.), Chiba Children's Hospital, Chiba, Japan.

Address reprint requests to Itaru Iwama, MD, Division of General Pediatrics, Saitama Children's Medical Center, 2100 Magome, Iwatsuki-ku, Saitama, Japan 339-8551. E-mail: iwam.itaru@pref.saitama.lg.jp

neous liver biopsy was performed with a thin (18-gauge) Menghini needle on the second day of admission.² Numerous cytoplasmic microvesicles were observed in the hepatocytes (Fig 1A). They were positive with Sudan or Oil red O stain, which indicated that they contained lipid. The nuclei were deformed with chromatin deposited marginally on the nuclear membrane (Fig 1A). The TUNEL TdT-mediated dUTP-biotin nick-end labeling (TUNEL) specimen showed fluorescent stained DNA break points (Fig 1B). TUNEL studies showed obvious fluorescent signals at the marginal nuclei, where aggregated chromatin was noted under light microscopy. The number of mitochondria were decreased and swollen on electron microscopy (Fig 1C), which suggested hepatocyte apoptosis.

The patient's impaired consciousness and coagulopathy did not recover with supportive therapies; liver function deteriorated. Because it is dangerous to perform a lumbar puncture in a patient with ALF, the patient's coagulation indices and platelet count were confirmed to be in normal range and there was no sign of an elevated intracranial pressure. Lumbar puncture showed lactate and pyruvate levels within normal limits. Because of the uncertain outcome and possible ethical issues involved in transplanting a child with such a condition, we assembled an adhoc committee comprising nurses, surgeons, and pediatricians as well as lay-people to discuss the best course of action. The family concurred with liver transplantation as a life-saving option. We obtained informed

consent with explanation of the possibility of neurologic deterioration after transplantation. He underwent living related liver transplantation from his mother at 15 days after the onset of symptoms. The removed liver showed necrotic and fibrotic changes but no apoptotic cells.

We assayed the activities of respiratory chain complex (Co) I, II, III, and IV in the crude post-600g liver supernate obtained during the surgery, as described previously.^{3,4} Each complex activity was presented as the percentage ratio relative to the mean value obtained from 12 healthy control subjects. Together, we calculated the percent ratios of Co I, II, III, and IV activities to that of citrate synthetase (CS), as a mitochondrial enzyme marker, Co II.⁴ The enzyme activities showed an isolated respiratory chain complex III deficiency (Table 1). Direct sequencing of *BCS1L* showed no mutation in this patient.

He recovered clinically without significant sequelae. At 2 years after liver transplantation, he had been in good condition with no neuromuscular abnormalities, including a normal brain MRI. He had no muscle weakness or episode of seizure. Serum lactate, pyruvate, and creatine kinase levels were within normal limits.

DISCUSSION

The cause of liver failure in this patient was strongly suspected to be a mitochondrial disorder because of the

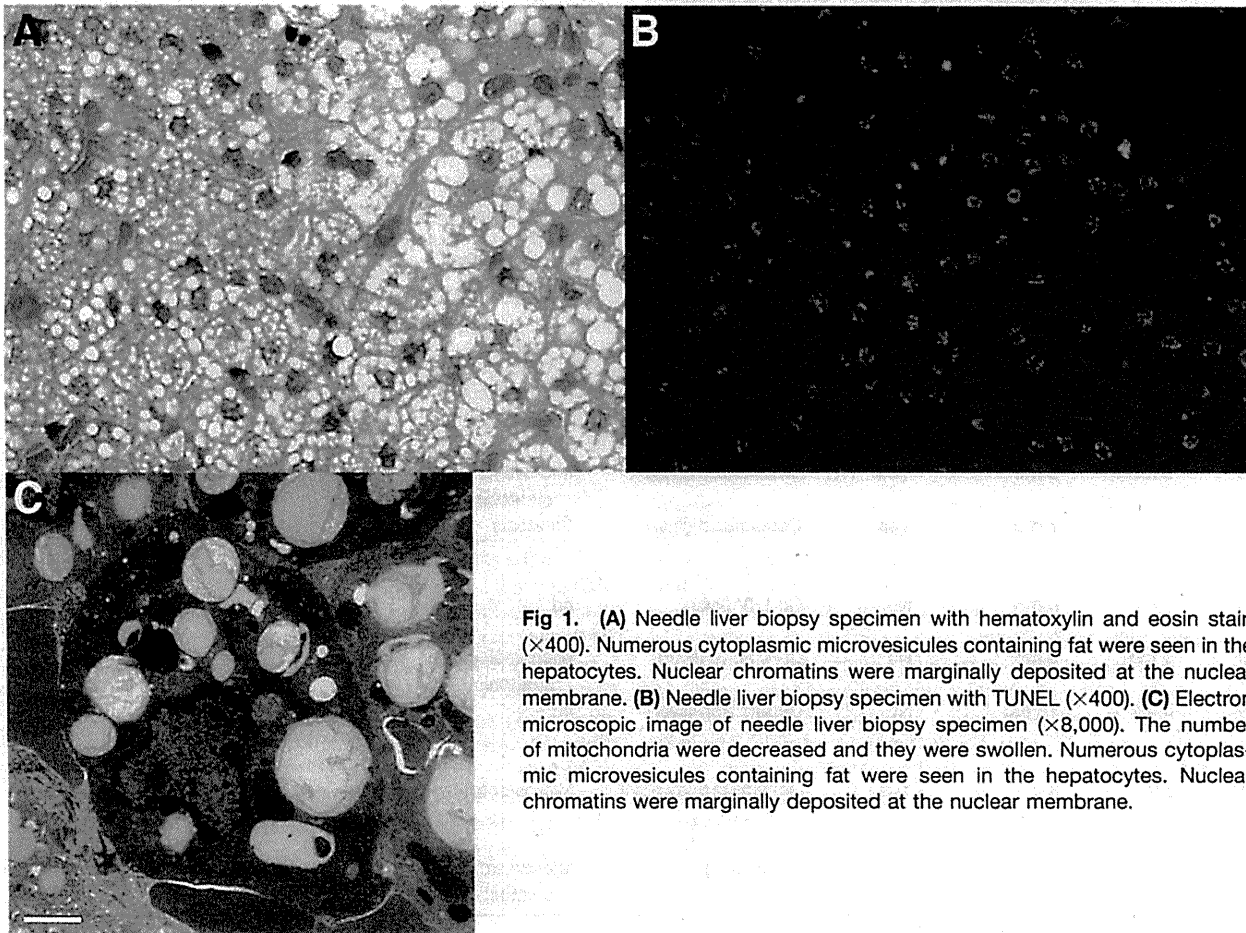


Fig 1. (A) Needle liver biopsy specimen with hematoxylin and eosin stain ($\times 400$). Numerous cytoplasmic microvesicles containing fat were seen in the hepatocytes. Nuclear chromatin was marginally deposited at the nuclear membrane. (B) Needle liver biopsy specimen with TUNEL ($\times 400$). (C) Electron microscopic image of needle liver biopsy specimen ($\times 8,000$). The number of mitochondria were decreased and they were swollen. Numerous cytoplasmic microvesicles containing fat were seen in the hepatocytes. Nuclear chromatin was marginally deposited at the nuclear membrane.

Table 1. Enzyme Assay of Respiratory Chain in the Removed Liver Tissue

	Co I	Co II	Co III	Co IV	CS
% of normal	63	75	16	100	143
CS ratio	43	52	11	68	—
Co II ratio	83	—	21	131	—

Enzyme activities are expressed as % of mean normal control activity relative to protein, relative to CS, and relative to Co II.

Abbreviations: Co, complex; CS, citrate synthase.

elevated mitochondrial AST, elevated serum lactate/pyruvate ratio, and the numerous positive signals with TUNEL in the liver biopsy (Fig. 2). The indication for the liver transplantation in ALF with MRCD is controversial because of the risk of extrahepatic involvements, especially neuromuscular diseases. It has been suggested that MRCD with extrahepatic involvements should be a contraindication to liver transplantation. However, there have been some case reports of successful liver transplantation for liver failure with MRCD. The 11 published case reports of liver transplantation for MRCD⁵⁻¹⁰, show mitochondria in different tissues to vary in number, ultrastructure, respiratory capacity, and involvement in specific metabolic path-

ways.¹¹ (Table 2). MRCDs may be restricted to the liver among those who were alive, with no extrahepatic involvement. It can be said that liver transplantation did not alter the natural course of extrahepatic involvement of MRCD.

We suggest that liver transplantation can be a life-saving treatment for liver failure with MRCD. Exclusion of extrahepatic involvement is crucial to decide the indication for liver transplantation in patients with MRCD. Thomson et al proposed a diagnostic protocol to exclude generalized mitochondrial cytopathy-based liver diseases. The most important factors are cerebrospinal fluid lactate, liver biopsy, and muscle biopsy for ultrastructural mitochondrial changes and analysis of respiratory chain enzyme activity.⁶ Although an examination of enzyme activity of respiratory chain in muscle is useful to exclude extrahepatic involvements, the test is impractical in an emergency situation. High cerebrospinal fluid lactate levels are considered to be more reliable for neurologic involvement. Signs of psychomotor retardation are also indicative of neurologic involvement. Careful investigations for extrahepatic involvements are crucial. Informed consent with explanation of the possibility for posttransplantation extrahepatic (particularly neuromuscular) deterioration is also necessary.

Table 2. Worldwide Experience in Liver Transplantation (LT) for Mitochondrial Respiratory Chain Disorders

Case No.	Age at Onset	Age at Time of LT	Fulminant Liver Failure	Respiratory Chain Defect	Liver Histology	Follow-Up and Outcome	Reference
1	3 mo	3 mo	Yes	Partial defect of Co IV (liver)	Microvesicular steatosis	3 y, no extrahepatic involvement	5
2	4 mo	4 mo	Yes	Partial defect of Co I (muscle)	Microvesicular steatosis	4 mo, neurologic deterioration and death	6
3	3 mo	6 mo	No	Co I, IV (liver)	Microvesicular steatosis	21 mo, no neurologic involvement, persistent acidosis	7
4	4 mo	6 mo	No	Partial defect of Co IV (liver)	Cholestatic hepatitis	Death immediately after LT	7
5	4 mo	6 mo	Yes	Generalized (muscle)	Microvesicular steatosis	4 mo, neurologic deterioration and death	6
6	6 mo	6 mo	Yes	Generalized (liver)	Microvesicular steatosis	22 mo, moderate clinical motor retardation	7
7	8 d	7 mo	Yes	Generalized (liver)	Steatosis	11 mo, neurologic deterioration and death	7
8	1 mo	8 mo	No	Co I, IV (liver)	nd	5 y, no extrahepatic involvement	8
9	5 mo	8 mo	No	Co I, III, IV (liver)	Microvesicular steatosis	12 mo, no extrahepatic involvement	7
10	3 mo	15 mo	No	Generalized (liver)	nd	36 mo, retransplantation, no extrahepatic involvement	9
11	3 y	3 y	Yes	Generalized (muscle)	Microsteatosis	4.5 mo, neurologic deterioration and death	10
12	10 mo	10 mo	Yes	Co III (liver)	Microvesicular steatosis	24 mo, no extrahepatic involvement	Present case

Abbreviations: Co, complex; nd, not determined.

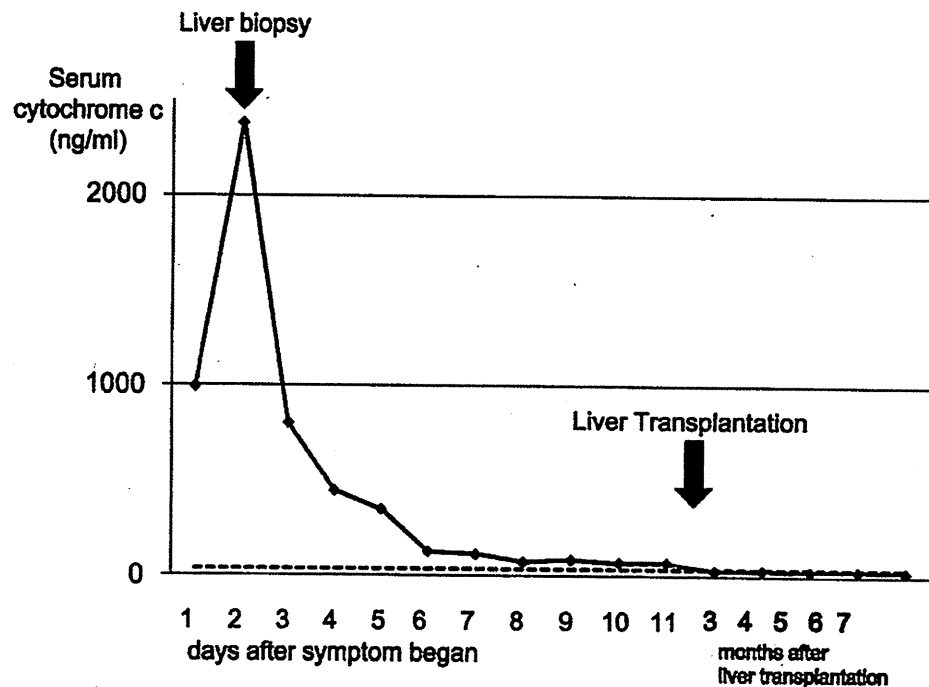


Fig 2.

We do not think that living related liver transplantation is justified in every case independently from the prognosis after transplantation for patients with MRCD. We think that if the patient's neurologic prognosis is poor owing to preexisting neurologic condition, then the MRCD patient will not benefit from transplantation and it may be a contraindication to liver transplantation. We do not advocate liver transplantation for patients with poor prognostic factors. However, the situation in living related liver transplantation is quite different from that of deceased-donor liver transplantation, because the donor has a strong preference for organ donation and is committed to the procedure. Because the experience with liver transplantation for MRCD is limited, and the follow-up period is too short to enable us to draw any valid conclusions, we are cautious to recommend the same process, including percutaneous liver biopsy and living related liver transplantation for similar patients.

In conclusion, we suggest that mitochondrial disorders should be considered as a cause of liver failure in infancy and that liver transplantation can be a life-saving treatment.

REFERENCES

1. Skladal D, Halliday J, Thourburn DR: Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children. *Brain* 126:1905, 2003

2. Grant A, Nueberger J: Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice. *Gut* 45(Suppl IV):IV1, 1999

3. Rahman S, Blok PB, Dahl HM, et al: Leigh syndrome: clinical features and biochemical and DNA abnormalities. *Ann Neurol* 39:343, 1996

4. Kirby DM, Crawford M, Cleary MA, et al: Respiratory chain complex I deficiency. An underdiagnosed energy generation disorder. *Neurology* 52:1255, 1999

5. Sokol BJ, Narkewicz MR, Greene C, et al: Successful liver transplantation for fulminant hepatic failure in infancy with severe lactic acidosis and hepatic mitochondrial electron transport defect. *Hepatology* 20:402A, 1994

6. Thomson M, Mckiernan P, Buckels J, et al: Generalized mitochondrial cytopathy is an absolute contraindication to orthotopic liver transplant in childhood. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 26:478, 1998

7. Dubern B, Broue P, Dubuisson C, et al: Orthotopic liver transplantation for mitochondrial respiratory chain disorders: a study of 5 children. *Transplantation* 71:633, 2001

8. Rake JP, van Spronsen FJ, Visser G, et al: End-stage liver disease as the only consequence of a mitochondrial respiratory chain deficiency: no contra-indication for liver transplantation. *Eur J Pediatr* 159:523, 2000

9. Goncalves I, Hermans D, Chretien D, et al: Mitochondrial respiratory chain defect: a new etiology for neonatal cholestasis and early liver insufficiency. *J Hepatol* 23:290, 1995

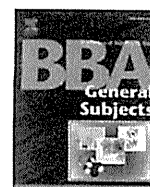
10. Delarue A, Paut O, Guys JM, et al: Inappropriate liver transplantation in a child with Alpers-Huttenlocher syndrome misdiagnosed as valproate-induced acute liver failure. *Pediatr Transplant* 4:67, 2000

11. Tourbur DR: Diverse powerhouse. *Nat Genet* 36:13, 2004



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Biochimica et Biophysica Acta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bbagen

Pyruvate therapy for mitochondrial DNA depletion syndrome[☆]

Keiko Saito^{a,*}, Nobusuke Kimura^{a,1}, Nozomi Oda^a, Hideki Shimomura^a, Tomohiro Kumada^a, Tomoko Miyajima^a, Kei Murayama^b, Masashi Tanaka^c, Tatsuya Fujii^a

^a Department of Pediatrics, Shiga Medical Center for Children, Moriyama-City, Shiga 524-0022, Japan

^b Department of metabolism, Chiba Children's Hospital, Chiba 266-0007, Japan

^c Department of Genomics for Longevity and Health, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakae-cho, Itabashi, Tokyo 173-0015, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 March 2011

Received in revised form 3 August 2011

Accepted 5 August 2011

Available online xxxxx

Keywords:

Pyruvate therapy

Mitochondrial DNA depletion syndrome

Mitochondrial diseases

Treatment

Lactate-to-pyruvate ratio

NAD⁺

ABSTRACT

Background: Mitochondrial DNA depletion syndromes are a group of heterogeneous autosomal recessive disorders associated with a severe reduction in mitochondrial DNA in the affected tissues. Sodium pyruvate has been reported to have a therapeutic effect in mitochondrial diseases.

Methods: We analyzed the effects of 0.5 g/kg of sodium pyruvate administered through a nasogastric tube in a one-year-old patient with myopathic mitochondrial DNA depletion syndrome. To evaluate the improvement, we used the Newcastle Paediatric Mitochondrial Disease Scale (NPMDS) and manual muscle testing. As the improvement of motor functions in this severely disabled infant could not be comprehensively detected by NPMDS, we also observed the infant's ability to perform several tasks such as pouting, winking, and number of times she could tap a toy xylophone with a stick. Blood lactate and pyruvate levels were also monitored.

Results: After one month's treatment, the NPMDS score in section IV, the domain for the quality of life, improved from 17 to 13. The infant became capable of raising her forearm, lower leg and wrist against gravity. The maximum number of times she could repeat each task increased and the movements became brisker and stronger. No significant change of the blood lactate level or lactate-to-pyruvate ratio, both of which were mildly increased at the initiation of the therapy, was observed despite the clinical improvement.

Conclusion: Sodium pyruvate administered at 0.5 g/kg improved the muscle strength and the NPMDS score of an infant with myopathic mitochondrial DNA depletion syndrome.

General significance: Sodium pyruvate may be effective for ameliorating the clinical manifestations of mitochondrial diseases. This article is part of a Special Issue entitled: Biochemistry of Mitochondria.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Mitochondrial DNA depletion syndromes (MDSs) are a heterogeneous group of autosomal recessive disorders manifesting mainly in infancy and childhood that are associated with a severe reduction of the mitochondrial DNA (mtDNA) copy number in the affected tissues [1]. Three different clinical forms of MDSs have been described: myopathic, encephalomyopathic, and hepatocerebral MDSs [2–6]. The clinical phenotypes can overlap and patients with myopathic MDS could develop encephalomyopathic MDS at a later date. Several causes of MDSs, which affect the mtDNA replication and maintenance, have been reported. These include defects of enzymes affecting the

nucleotide pools (mitochondrial thymidine kinase, deoxyguanosine kinase, ribonucleotide reductase p53-R2 subunit and thymidine phosphorylase), defects of mtDNA replication proteins (mtDNA polymerase gamma and Twinkle), defects of succinyl-CoA ligase, which interacts with mitochondrial nucleotide diphosphate kinase, and defects of proteins of unknown function, including MPV 17 [5].

Like all of the other mitochondrial respiratory-chain disorders, there are no curative therapies for MDSs. For mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy (MNGIE), however, which is associated with disturbance of the nucleotide pools, treatments that reduce the circulating levels of nucleotides can improve the symptoms, including peritoneal dialysis [7], enzyme replacement therapy [8] and allogenic stem cell transfusions [9]. Unfortunately however, such treatments cannot be applied to other types of MDSs. Treatments with vitamins, cofactors and respiratory substrates may improve some symptoms, however, the efficacy is limited.

Tanaka et al. recently reported the therapeutic promise of pyruvate for mitochondrial diseases [10]. According to their theory, pyruvate supplementation would improve the intracellular redox state by

Abbreviations: MDS, mitochondrial DNA depletion syndrome; L/P, lactate-to-pyruvate

[☆] This article is part of a Special Issue entitled: Biochemistry of Mitochondria.

* Corresponding author at: 5-7-30, Moriyama, Moriyama City, Shiga 524-0022, Japan. Tel.: +81 77 582 6200; fax: +81 77 582 6304.

E-mail address: ksaitou-kyt@umin.ac.jp (K. Saito).

¹ Present address: National Epilepsy Center, Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorders, Shizuoka 420-8688, Japan.

0304-4165/\$ – see front matter © 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

doi:10.1016/j.bbagen.2011.08.006

Please cite this article as: K. Saito, et al., Pyruvate therapy for mitochondrial DNA depletion syndrome, *Biochim. Biophys. Acta* (2011), doi:10.1016/j.bbagen.2011.08.006