

清総胆汁酸 331.0  $\mu\text{mol/L}$ , ヘパプラスチンテスト 45%, 血漿中シトルリン 123.9  $\mu\text{mol/L}$  (5.1~37.4), スレオニン 372.0  $\mu\text{mol/L}$  (6.2~152.8), メチオニン 96.5  $\mu\text{mol/L}$  (13.4~32.2), チロシン 131.3  $\mu\text{mol/L}$  (34.2~93.8) (括弧内は基準値)。肝生検にて胆汁うっ滞および脂肪肝を、*SLC25A13* 遺伝子解析にて II (IVS11+1G>A) / V (IVS13+1G>A) 変異を認め、NICCDと診断された。MCTミルク、脂溶性ビタミン補充にて加療し、生後4か月までに黄疸・アミノ酸異常が消失し、1歳までに肝障害・肝腫大も改善した。

## 参考文献

1. 大浦敏博: シトルリン欠損症研究の進歩—発症予防・治療法の開発に向けて. 日児誌 113:1649–1653, 2009
2. Kimura A, et al: Histological findings in the livers of patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency. Hepatol Res 40:295–303, 2010
3. Ohura T, et al: Clinical pictures of 75 patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD). J Inherit Metab Dis 30:139–44, 2007
4. 田澤雄作: 新生児胆汁うっ滞—新生児肝炎及びシトルリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞の臨床を中心として. 日児誌 111:1493–1514, 2007

# 10 ミトコンドリア病 (ミトコンドリア肝症、ミトコンドリア DNA 枯渇症候群)

## 診断のポイント

- ・発達の遅れ、けいれんなどの神経症状や体重増加不良などを伴うことが多い。
- ・原因不明の進行性の肝障害または Reye 様症候群として発症することが多い。
- ・必ずしも高乳酸血症は伴わないことも多い。
- ・十分な量の肝組織と凍結保存が診断するために必要である。
- ・脂肪肝を呈する事が多く、線維化を伴うこともある。

## 総論および病態

ミトコンドリア病(ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症)は呼吸鎖(電子伝達系)または酸化リン酸化の障害であり、多彩な臓器症状を呈する先天代謝異常症です。中でも肝障害が前面に出るものをミトコンドリア肝症といいます。ミトコンドリア肝症はミトコンドリア病全体の 10%強を占めます。この中には主として乳児期に胆汁うっ滞を伴うだけでなく凝固能低下などを伴い進行性の肝障害をきたす「ミトコンドリア DNA 枯渇症候群(MDS)」があります。ここ 3 年間で 12 例診断されています。

## 診断の詳細

ミトコンドリア肝症は高乳酸血症を認めないこともあります。本疾患を行う前に、血中アミノ酸分析、尿中有機酸分析、アシルカルニチン分析(タンデムマス)を行い、他の代謝性疾患を否定する必要があります。本症の診断の基本は、肝臓におけるミトコンドリア呼吸鎖の酵素活性測定になります。千葉県こども病院代謝科 村山か、埼玉医科大学小児科大竹までご相談下さい。血液や皮膚線維芽細胞のみで診断に至ることは非常に難しいです。

## 治療と予後

MDS は進行性で予後は決して良くありません。しかし、コエンザイム Q10 や各種ビタミン剤などの薬物療法や栄養療法によってトランスアミナーゼが改善することがあります。重篤な肝外症状(神経症状や心筋症など)がなければ、肝移植をする選択肢もあります。

## 参考文献

1. Sokol RJ: Mitochondrial hepatopathies. In: Liver disease in children. 3rd ed, Cambridge university press, New York, 2007: 803-29
2. Bernier FP, Boneh A, Dennett X, Chow CW, Cleary MA, Thorburn DR. (2002) Diagnostic criteria for respiratory chain disorders in adult and children. *Neurology* 59: 1406-1411
3. Thorburn DR, Sugiana C, Salemi R, Kirby DM, Worgan L, Ohtake A, Ryan MT. (2004) Biochemical and molecular diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders. *Biochim Biophys Acta* 1659: 121-128.
4. 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 II. *Mol Genet Metab* 97(4): 292-296, 2009

# 11 新生児ヘモクロマトーシス

## 診断のポイント

- ・よくみられる臨床症状は、出血傾向でその原因は播腫性血管内凝固です。多くは生後数日以内、遅くても生後1か月未満に発症します。
- ・特徴的検査所見は、凝固能の低下で、プロトロンビン時間が20秒以上あるいはINRが2以上の場合、この疾患を疑います。ALTの異常は軽度に留まることが多いです。

## 総論および病態

新生児ヘモクロマトーシスは、肝臓とそれ以外の臓器(主に、心臓、脾臓、唾液腺)に鉄沈着をきたします。鉄が臓器に過剰に沈着して臓器障害をおこすため、ヘモクロマトーシスと呼ばれていますが、遺伝性ヘモクロマトーシスとは全く異なる病気で、今のところ遺伝子異常は認められていません。現在、最も有力なのは母子間の同種免疫疾患です。そのほか、ダウン症に伴う一過性骨髄異常増殖症(TAM)、血球貪食症候群、ミトコンドリア肝症など胎児期に重篤な肝障害を伴った場合も同様の病像を呈します。

## 診断の詳細

世界的にも診断基準は確立していません。生後1か月未満の症例で凝固能低下が認められ、肝臓のMRIで鉄沈着を示唆する画像が得られれば、新生児ヘモクロマトーシスを疑ってトランスフェリンの飽和率を測定してください。30%を超え、唾液腺の生検で鉄沈着があれば可能性は高いです。

## 治療と予後

予後は様々ですが、肝不全で死亡する頻度が高いです。無治療で寛解する症例もあります。肝移植をおこなっても他の代謝疾患ほど生存率は高くありません。鉄キレート剤と抗酸化療法を行いますが、わが国では入手できない薬剤が一部あります。一方、最近では同種免疫疾患の観点から、免疫グロブリン製剤や交換輸血によって救命できた症例報告がみられています。

## 参考文献

1. Inui A, et al. A case of neonatal hemochromatosis-like liver failure with spontaneous remission. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2005 40:374-7.
2. Escolano-Margarit MV, et al. Exchange transfusion as a possible therapy for neonatal hemochromatosis. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010 50:566-8
3. Rand EB, et al. Treatment of neonatal hemochromatosis with exchange transfusion and intravenous immunoglobulin. J Pediatr. 2009 ;155:566-71
4. Whittington PF, et al., Outcome of pregnancies at risk for neonatal hemochromatosis is improved by treatment with high-dose intravenous immunoglobulin. Pediatrics. 2008 ;121:e1615-21.
5. Rodrigues F, et al. Neonatal hemochromatosis--medical treatment vs. transplantation: the king's experience. Liver Transpl. 2005 ;11:1417-24.

## 12 その他の代謝性疾患

### 診断のポイント

黄疸には二種類あり、間接型ビリルビン優位か直接型ビリルビン優位かで疾患は大きく異なります。直接型ビリルビン優位とは、総ビリルビン値のうちの直接型ビリルビンが 15%を占めるかあるいは直接型ビリルビン値が 1.5mg/dl 以上を示すものを言います。

### 総論および病態

直接型ビリルビン優位であれば、他の項目で説明された疾患を鑑別します。それ以外の疾患は、わが国では頻度は少ないですが、(1) 遺伝性高チロシン血症、(2) ガラクトース血症があります。

#### (1) 遺伝性高チロシン血症 I 型

フマリルアセト酢酸ヒドラーゼ欠損によって血中チロシンが高値を示す I 型では細胞内に蓄積するフマリルアセト酢酸の毒性により肝細胞障害がみられ、黄疸を呈します。

#### (2) ガラクトース血症 I 型

ガラクトース代謝において、ガラクトース-1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼ(GALT)欠損症では生後 2 週間以内にその 90%で黄疸がみられます。

間接型ビリルビン優位であれば、Crigler-Najjar 症候群があります。肝臓内での UDP-グルクロン酸転移酵素の活性低下によります。

### 診断の詳細

#### (1) 遺伝性高チロシン血症 I 型

尿中有機酸分析で尿中サクシニルアセトンの増加がみられます。

#### (2) ガラクトース血症 I 型

新生児マス・スクリーニングでガラクトース血症が見られた場合、残ったろ紙血を用いて GALT 活性を測定することができます。

Crigler-Najjar 症候群には I 型と II 型があり、黄疸の程度とフェノバルビタールに対する反応によって臨床的にはほぼ診断がつきます。確定診断には UDP-グルクロン酸転移酵素遺伝子(UGT1A1)の変異を検査します。

### 治療と予後

#### (1) 遺伝性高チロシン血症 I 型

肝障害の進行を早急に防止することが重要で、4-ヒドロキシフェニルピルビン酸酸化酵素の阻害剤である NTBC の投与と低フェニルアラニン・低チロシン食を行います。但し、NTBC は国内では入手困難で個人輸入となります。肝硬変、肝癌へ進行した場合は、肝移植となります。

#### (2) ガラクトース血症 I 型

無ガラクトース食を生後 3 か月までに開始します。それ以降になると精神発達遅滞を示します。

Crigler-Najjar 症候群 I 型は、UGT1A1 の残存活性がなく新生児早期からの著明な高ビリルビン血症で連日の光線療法が必要となります。しかし、その効果も思春期には低下するため、肝移植の適応となります。II 型では

UGT1A1 の残存活性は 10%以下であり、高ビリルビン血症は新生児期から遷延します。黄疸の程度は I 型より軽く、フェノバルビタールの投与によりビリルビン値の低下がみられます。ほとんどの場合、治療は必要ありませんが、稀にフェノバルビタールの投与が必要な高ビリルビン血症の症例があります。

#### 参考文献

1. 中村公俊 他. 遺伝性高チロシン血症. 小児内科. 2009 41(増刊号):341-347.
2. 岡野善行. ガラクトース血症. 小児内科. 2009 41(増刊号):410-414.
3. 丸尾良浩. 体質性黄疸. 小児内科. 2009 40(増刊号):638-643
4. 小松陽樹 他. 黄疸. 小児内科 2000 32:453-460

## 13 周産期の異常・新生児仮死

### 診断のポイント

- ・急性及び慢性の周産期異常がある。
- ・胆汁うっ滞性黄疸(閉塞性黄疸)を認める。
- ・肝内胆汁うっ滞(新生児肝炎)を考える。
- ・周産期の異常や新生児仮死があっても、必ずしも胆道閉鎖症などの肝外性の病因を否定しない。

### 病態

新生児仮死は多様な臓器へ傷害を与えるが、肝臓では低酸素による肝壊死による虚血性肝炎 (ischemic hepatitis) が引き起こされる。新生児肝炎の約 90%の症例で急性及び慢性の周産期異常が認められ、胆汁分泌の未熟性(生理的胆汁うっ滞)を背景とした「肝虚血」が病因・発症機序として提唱されている。これらの症例の約 90% では肝細胞の巨細胞性変化、約 25%の症例では脂肪肝が観察されている。

周産期の肝虚血あるいは乏血傷害が起こる状況では、肝臓をバイパスする静脈管を介して臍帯血が増加し、肝血流の減少と再分布が起こりうると考えられる。その結果、胆汁分泌は減少し、さらに血流の再開に伴う虚血、乏血肝への酸素の再供給は再灌流傷害 (ischemic-reperfusion injury) を引き起こし、その傷害を増幅するものと考えられている。

#### 【Clinical Pearls】

- ・先天性静脈管開存 (11 ヶ月～10 歳) では、全例で脂肪肝が観察されている。
- ・胎児期には、静脈管 (ductus venosus) の開存などがあり、肝臓の血流は左葉が優位である (3:1)。日齢 1 で新生児仮死及び胎便吸引症候群で死亡した症例の肝右葉は、茶色味を帯びた脂肪肝、肝左葉は暗赤色 (うっ血肝) という外観 (two tone liver) を示していたと報告されている。

### 診断

急性及び慢性の周産期異常(仮死や子宮内発育不全など)の既往歴があり、閉塞性黄疸を認める症例では、急性及び慢性低酸素状態が病因と考える。大部分の症例 (80%)では、血清ビリルビンの減少(月齢 1-2)と共に血清  $\gamma$ -GTP の増加(-600~700 IU/l; 月齢 2-3)、その後の漸減及び正常化が観察されることも参考になる。

#### 【Clinical Pearls】

- ・新生児仮死では、一般的には LDH および CPK と共に、AST 優位の一過性の高トランスアミラーゼ血症を経験するが 1-2 週で正常化する。
- ・閉塞性黄疸を認める場合は、特にその障害が高度の場合は、胆汁性肝硬変 (肝不全) への進行を懸念する。あるいは、その後、黄疸が消失しても、潜在性の進行性肝病変 (肝線維症、肝硬変) が存在する可能性を念頭におく。
- ・血中  $\gamma$ -GTP 上昇の機序としては、胆管の虚血性傷害、あるいは肝細胞 ATP の枯渇による胆汁分泌の減少が考えられている。

## 治療と予後

治療は「新生児肝炎」に準ずる。一般的に、新生児肝炎と同様、その後の経過は良好である。黄疸は6か月以内、肝機能検査は1年以内に正常化する。稀ではあるが、軽度の閉塞性黄疸から高度な閉塞性黄疸へ進行する症例、新生児期以降に黄疸が持続して胆汁性肝硬変へ進行する症例、あるいは黄疸が消失した後に壊死後性肝硬変が潜在して肝不全に至り、肝移植の適応となる症例もある。

## 参考文献

1. 田澤雄作. 新生児胆汁うっ滞—新生児肝炎及びシトリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞の臨床を中心として. 日本小児科学会雑誌 2007;111:1493-1514.
2. Vajro P, Amelio A, Stagni A, et al. Cholestasis in newborn infants with perinatal asphyxia. Acta Paediatr 1997;86:895-898.
3. Jacquemin E, Lykavieris P, Chaoui N, et al. Transient neonatal cholestasis: Origin and outcome. J Pediatr 1998;133:563-567.

# 14 ウイルス性肝炎

## 診断のポイント

黄疸をきたす乳児期までのウイルス性肝炎は、そのほとんどが B 型肝炎です。乳児期の急性 B 型肝炎は、母子感染あるいは家族内の水平感染が感染経路なので、詳細な問診と家族内の B 型肝炎の検索により診断できます。

## 総論および病態

ウイルス性肝炎とは、肝炎ウイルス感染による肝細胞障害を意味します。黄疸を伴う肝機能異常は、この時期サイトメガロウイルス感染症でもみられますが、サイトメガロウイルスは肝細胞内で増殖しないため、肝炎ウイルスではありません。この年代のサイトメガロウイルス感染の頻度は高く無症状のものも多いため、肝炎の原因を検索する際には短絡的にサイトメガロウイルス肝炎とせずに、他疾患を十分に除外する必要があります。B 型肝炎の母子垂直感染では、約 85%が肝炎をおこさずにキャリア化します。また残りの 15%は一過性感染で終息しますが、黄疸がみられるほどの重症な肝炎をおこすことはほとんどありません。黄疸をきたす重症肝炎をおこすのは、水平感染がほとんどです。キャリア化することはありませんが、一部劇症化します。

## 診断の詳細

HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体、IgM-HBc 抗体、HBV DNA(リアルタイム PCR 法)で診断をします。HBs 抗原が陰性であっても、それ以外の検査データのいずれかが、陽性であれば HBV 感染症を疑い、小児肝臓専門医へ連絡をとってください。

## 治療と予後

劇症化するかを正確に診断することが重要です。乳児では脳症の判断は極めて困難なため、①T.B $\geq$ 2.0mg/dl、②ALT $\geq$ 1,000 IU/L、③PT $<$ 60% あるいはPT-INR $>$ 1.5、のいずれかを満たした場合は、早急に小児肝臓専門医に連絡をとってください。上記 3 項目のうち、2 項目以上を満たした場合は、小児肝臓専門医の施設へ搬送してください。上記 3 項目のうち、2 項目を満たしていても抗ウイルス療法と人工肝補助療法で内科的に救命できる可能性が高いです。

## 参考文献

1. 白木和夫. B 型肝炎母子感染防止の糸口と展開. 小児科臨床. 2004; 57:1995-2001
2. 乾あやの 他. 本邦における小児期の劇症肝不全. 日本腹部救急医学会雑誌. 2009 29:583-9.
3. Aomatsu T, et al. Fulminant hepatitis B and acute hepatitis B due to intrafamilial transmission of HBV after chemotherapy for non-Hodgkin's lymphoma in an HBV carrier. Eur J Pediatr. 2010;169:167-71.
4. 十河 剛 他. 小児期の劇症肝不全の最近の治療. 小児科. 2008 ;49:1885-93



## 15 特殊検査の適応と申し込み手順

### スクリーニング検査

#### 直接ビリルビン:

乳児の予後の良くない黄疸は直接ビリルビン 1.5(mg/dl)以上のものがほとんどです。例外はごく稀な Crigler-Najjar 症候群くらいです。生後 2 カ月以降の黄疸を発見したら直接ビリルビンを必ず評価し、母乳黄疸の残存かそれ以外の異常かをスクリーニングします。直接ビリルビン高値の場合に個々の特殊検査を行います。

### 診断を絞り込んで行う検査

#### 15-1 胆汁酸分析

#### 15-2 肝組織 BSEP 染色ほか肝病理

#### 15-3 Alagille 症候群遺伝子検査

#### 15-4 PFIC 遺伝子検査

#### 15-5 シトリン欠損症遺伝子検査

#### 15-6 ミトコンドリア異常症検査

### 15-1 胆汁酸分析

#### 検査適応

閉塞性黄疸があり診断が確定しない場合、検査適応と成ります。しかし、胆汁酸分析によって診断が可能な疾患は、現在のところ先天性胆汁酸代謝異常症のみです。したがって、掻痒感がない、 $\gamma$ -GTP と総胆汁酸値が正常範囲であれば胆汁酸分析を勧めます。

#### 目的

一般には検出しない異常胆汁酸(個々の先天性胆汁酸代謝異常症に特異的な異常胆汁酸が存在する)を検出する事によって先天性胆汁酸代謝異常症の診断が可能となる。特に尿中に異常胆汁酸は多量に排泄されるため、まず尿中胆汁酸分析を勧めます。

#### 検体採取方法及び保存方法

同時期の血清・尿(随時尿で可)の採取・保存をお願い致します。尿中胆汁酸分析で異常が出た場合直ちに血清の分析を行います。分析に必要な量は、血清 1 ml、尿 5~10 ml です。また、検体の保存は出来れば-80℃でお願いします。

#### 輸送方法、金額、所要日数、連絡先

分析にかかる日数は約2週間ぐらいです。輸送方法、金額、連絡先は胆汁酸分析申し込みの項を参照してください。

## 血清および尿中胆汁酸分析申し込み手順

1) 胆汁酸研究所(順伸クリニック 入野博(にっこのひろし)先生に連絡

連絡先: 03-5704-7306、E-mail: bile-res@eco.ocn.ne.jp

2) 胆汁酸分析依頼用紙は、アイコンをクリックしてダウンロードして下さい。

※検体は、凍結にて郵送してください。分析料金は、日本小児栄養消化器肝臓学会および日本小児胆汁酸研究会会員は1検体1万円、再検、経過フォローなどは無料です。ただし会員以外の方は2万円です。検査に関する詳細はホームページ <http://www8.ocn.ne.jp/~bile-res/> をご覧ください。

## 15-2 肝組織 BSEP 染色ほか肝病理

### 検査適応・目的

臨床所見、肝機能検査などで病態を明らかにできない肝障害症例や確定診断が困難な症例に行う。特に乳児期、小児期に肝内胆汁うっ滞きたす疾患は多い。診断に苦慮することも少なくないが、肝生検によって確定診断が得られることがある。PFIC をはじめとする遺伝性疾患の確定診断は遺伝子診断によってなされる。しかし、組織形態から推測できる疾患もあり、遺伝子診断適応の判断に有用である。

・補助的検索

#### 1. 特殊染色、免疫組織化学

当施設で可能な特殊染色および免疫組織化学(代表的なもの)

特殊染色

染色法	目的	関連疾患
マッソントリクローム	膠原線維の評価	
エラスチカワンギーソン	弾性線維の評価	
鍍銀	肝細胞索の評価	
ホール法	胆汁の有無	

免疫組織化学

抗体	目的	関連疾患
CK7 や CK19	小葉間胆管や細胆管増生の有無	Alagille 症候群、胆道閉鎖症など
BSEP	トランスポーターの有無	PFIC-2
MRP2	トランスポーターの有無	Dubin-Johnson 症候群

#### 2. 電子顕微鏡

超微形態を観察することで、疾患(PFIC-1 など)を特定できることがある。

### 検体採取方法

肝生検施行方法は成書に譲る。

## 保存方法

採取された肝組織は 10%ホルマリン固定。

注意: 電子顕微鏡用の肝組織に関しては事前に問い合わせ。

## 肝組織検査申し込み手順

### 【手順】

- 1) 送付前に下記の連絡先に連絡(電話、FAX、E-mailいずれでも可)。
- 2) 下記 1~3 いずれかの方法で送付。
  1. ホルマリンを容れた小瓶に組織を入れて送る。
  2. パラフィンブロックの状態を送る。
  3. 各施設の病理部で、作成した HE 染色標本 1 枚、未染標本 10 枚(免疫染色あるいは特殊染色用)を送る。

検体、ブロックあるいはプレパラートは破損しないように緩衝材などを使用、症例のサマリー(略病歴、血液・生化学検査結果を含めて。形式は不問)を同封し、下記住所に送付。

### 【料金】

無料(送料自己負担)

### 【所要日数】

約一週間

### 【送付先・連絡先】

久留米大学病院病理部 鹿毛政義

E-mail address: masakage@med.kurume-u.ac.jp

〒830-0011

福岡県久留米市旭町 67

電話 0942-31-7651(直通)

FAX 0942-31-7561

## 15-3 Alagille 症候群遺伝子検査

### 検査適応

- 1) 非典型的な Alagille 症候群を疑う場合
- 2) 両親が生体肝移植ドナーを希望する場合
- 3) 遺伝相談を行う場合

### 目的

白血球の DNA を用いて、Alagille 症候群 1 型の責任遺伝子である JAG1 遺伝子変異を検索します。現時点では、2 型の責任遺伝子である Notch2 遺伝子変異の検索には対応していません。

### 検体採取方法及び保存場所

ヘパリン管(染色体採血に用いる試験管)に 2mL(可能であれば 5mL)を清潔に採血して下さい。採血後、速やかに宅急便で発送し、金曜日の午前中までに到着をお願いします。

## 輸送方法、金額、所要日数、連絡先

通常の宅急便、クール宅急便の必要はありません。

現在、厚生労働省の成育委託研究事業補助金から検査費用を拠出しています。当方への検体送付料金のみ依頼元施設でご負担願います。

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

慶應義塾大学医学部 別館 3 階 小児科学教室 小崎健次郎

## Alagille 遺伝子検査申し込み手順

### 1) 事前連絡

患者に検査について説明される前に、検査責任者(小崎健次郎:kkosaki@sc.itc.keio.ac.jp)にご相談ください。

また、実際に採血される 3 日前までに検査実務担当者(鳥居千春:ctorii @sc.itc.keio.ac.jp)に御連絡下さい。

### 2) 同意書

遺伝子検査について説明をいただいた上で、患者・家族から書面にて検査の同意をいただく様をお願いいたします。同意書文末の「主治医」欄には、依頼下さった主治医の先生または検査前遺伝カウンセリングを担当された先生のお名前、職名、病院名をご記入下さい。同意書の原本は検体送付もと施設に保存いただき、コピーを検体に同封してお送り下さい。

### 3) 採血及び検体の送付

#### ① 採血量

ヘパリン管(染色体採血に用いる試験管)に 2mL(可能であれば 5mL)を清潔に採血して下さい。

#### ② 送付先

宅急便等で、〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35 慶應義塾大学医学部 別館 3 階 小児科学教室 小崎健次郎宛、土曜日は技術員がおりませんので金曜日の午前中までに到着するようにご指定願います。

#### ③ 送付方法

クール宅急便ではなく通常の宅急便でお送りいただいても結構ですが、試験管が破損しないように、強化プラスチックの箱等を用いて、検の補強をした上で、ビニール袋等で二重に包装して、万一試験管が破損しても内容物が漏れないように充分にご配慮下さい。

#### ④ 匿名化

患者の個人情報を守る観点から、試験管には患者の指名を記載せず、匿名化した番号・記号(英数字)を記載下さい。結果報告書には患者氏名ではなく匿名コードを記載いたします。匿名コードから患者氏名に復号できるように、検査依頼元において氏名-匿名コード対応表をご管理下さい。

#### ⑤ 臨床情報

厚生労働省の研究事業として、検査を行っておりますので、是非、診療記録の要約をご教示いただければと思います。個人情報保護の観点から、資料の患者様患者氏名・生年月日等の記載部分は塗りつぶして下さい。

### 4) 検体の受領

当研究室に検体が到着しましたら、「検体受領のご報告」をお送りいたします。発送後 10 日たっても「検体受領のご報告」がお手元に届かない場合は、お手数ですが検査実務担当者

(鳥居千春:ctorii @sc.itc.keio.ac.jp)にご照会ください。

## 5) 結果の報告

検査が終了次第、結果報告書を郵送させていただきます。検査終了までに要する時間を「検体受領のご報告」に記載いたします。

### 15-4 PFIC 遺伝子検査

#### 検査適応

- 1) PFIC1 型または 2 型を疑う場合
- 2) BRIC1 型または 2 型を疑う場合

いずれも  $\gamma$ -GT がほぼ正常な高胆汁酸血症が特徴です(疾患の項を参照)。

#### 目的

胆汁排泄の分子メカニズムに異常があるかどうか確認します。

白血球の DNA を用いて、PFIC1 型または BRIC1 型の責任遺伝子である FIC1 遺伝子変異と PFIC2 型または BRIC2 型の責任遺伝子である BSEP 遺伝子(ABCB11)変異を検索します。現時点では、PFIC3 型の遺伝子診断には対応していません。

#### 検体採取方法及び保存方法

- ・紫のキャップの EDTA 2Na 管(遺伝子検査用、SRL 社であれば容器 C(5ml 用)または容器 A(7ml 用)に 2ml 以上(可能であれば 5ml)を清潔に採血して下さい。
- ・平日に採血し室温ないし冷蔵保存し、当日 SRL 社に提出をお願いします。

#### 輸送方法、金額、所要日数、連絡先

- ・通常の遺伝子検査と同様に提出してください。
- ・白血球数が極端に少ない場合には検査困難ですので事前にご相談ください。
- ・現時点の検査経路は以下の通りです。SRL 社において有償で DNA を抽出し、財団法人かずさ DNA 研究所で責任遺伝子の塩基配列を決定し、筑波大学人類遺伝学教室で結果の評価を行います。
- ・検査経路は今後変更の可能性があります。
- ・現在オーファンネット・ジャパン(<http://onj.jp/>)の一部として検査を行っていますが、オーファンネット・ジャパンでの検査申し込みは準備中です。整い次第オーファンネット・ジャパンのホームページにアップ致します。
- ・〒305-8575 茨城県つくば市天王台1-1-1  
筑波大学臨床医学系小児科 須磨崎 亮、工藤豊一郎

### 15-5 シトリン欠損症の遺伝子検査

#### A. SLC25A13 遺伝子内の日本人における高頻度変異について

シトリン欠損症の原因遺伝子である *SLC25A13* には高頻度遺伝子変異が存在し、6 種の変異(3 種は点変異、

3 種は欠失/重複変異)で下の表に示すように、日本人の変異アレルの 91%を説明可能です(Tabata A, J Hum Genet, 53:534,2008)。この6種の変異に mutation I~V, XIX の名前が付けられています。理論的には、シトリン欠損症患者の約 83%では両アレルの変異を検出可能で、約 16%では一方のアレルの変異のみ検出し、約 1%ではいずれのアレルの変異も検出できない事が推測されます。

変異番号	遺伝子変異	変異部位	アレル頻度
I	c.851del4	エクソン9	32.8 %
II	g.IVS11 + 1G > A	イントロン11	36.3
III	c.1638ins23	エクソン16	4.6
IV	p.S225X	エクソン7	3.2
V	g.IVS13 + 1G > A	イントロン13	9.8
XIX	g.IVS16ins3kb	イントロン16	4.3
			計 91 %

## B. 解析方法

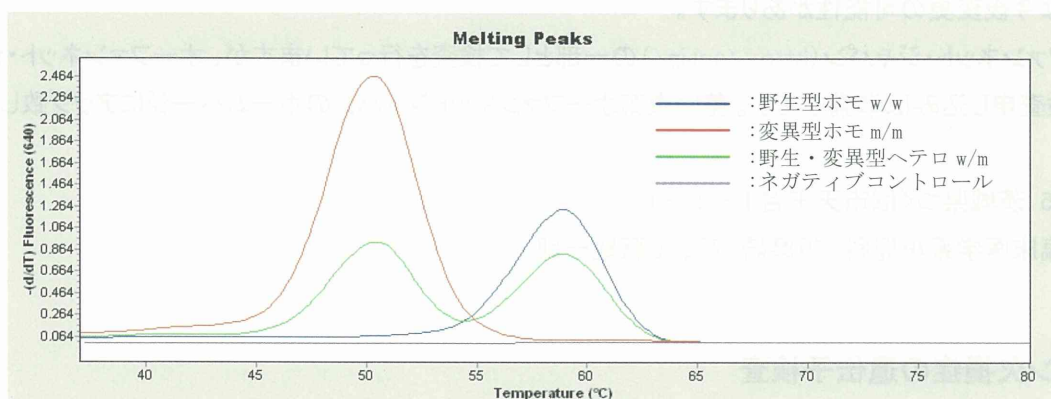
東北大学医学部小児科学教室では、上述の日本人高頻度遺伝子変異 6 種類の有無をスクリーニングする迅速診断システムを確立しました。方法は、Real-time PCR 法による融解温度曲線解析によります。

### 1) Mutation I~V

初めに変異部を含む領域を1対の PCR Primer にて増幅しました。次に、変異部の DNA 配列に相補的な蛍光標識したオリゴヌクレオチド(ハイブリ・プローブ)と PCR 産物との結合状態を融解温度曲線法により分析しました。反応液の温度を横軸に、プローブ DNA の融解速度を縦軸にとり、融解曲線を解析する事で遺伝子型を決定しました。最も高頻度に認められるMutation II の検出例を下の図に示します。

### 2) Mutation XIX

初めに正常アレルと変異アレルの両方を計 3 本の PCR プライマーで増幅しました。次に、2 種類の PCR 産物にそれぞれ特異的な蛍光標識プローブの結合により、増幅された PCR 産物を識別することで遺伝子型を決定しました。判別のため、プローブの融解温度を変えています。



<図 シトリン欠損症 Mutation II の検出例>

正常アレルからは 58°C 付近に、変異アレルからは 50°C 付近にピークが生成される。従って、

野生型ホモ接合体の場合 58℃で単一ピークとなり、ヘテロ接合体の場合 50℃と 58℃との二峰性ピークとなる。変異ホモ接合体の場合は、50℃で単一ピークを示す。

### シトリン欠損症の遺伝子検査申し込み手順

- 1) 遺伝子検査申込書のフォーム (MS-WORD2003 書類) をダウンロードし、各項目 (臨床症状および検査所見を含む) をパソコンでご記入ください。
- 2) 被検者またはその保護者にこの遺伝子検査の有用性、変異検出率、限界、危険性について十分説明し、インフォームド・コンセントを書面にてご確認ください。同意書は、所定のフォームをダウンロードし、ご署名を頂いてください。本検査は、シトリン欠損症が疑われる患者様の診断用です。出生前診断および保因者診断を目的とした検査はお引受け出来ません。
- 3) 患者さんの末梢血から DNA を抽出して下さい。全血での検査依頼は受け付けていません。(株)SRL、(株)三菱化学メディエンス、(株)BML などの検査会社で DNA 精製を有料で受託しています (費用、納期、などは各検査会社にお問い合わせください)。当科の遺伝子検査自体は無料です。
- 4) 精製された DNA 溶液のうち 2~3 マイクログラム分をクール宅配便 (4℃) でお送りください。その際、「署名のある同意書またはそのコピー」を同封して下さい。
- 5) 検体発送時、下のアドレスへ検体発送通知メールを発信して下さい。メールには、1) で作成した「シトリン欠損症遺伝子検査申込書」の WORD ファイルを添付して下さい。
- 6) 検査結果は、5) で頂いた DNA 発送通知メールへの返信の形で、1か月以内にお送り致します。

【DNA 発送通知メールの宛先】

東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野 呉 繁夫

メールアドレス: kure\*med.tohoku.ac.jp (\*の代わりに@を入れる)

## 15-6 ミトコンドリア異常症検査

### 検査適応

閉塞性黄疸があり、診断が確定しない場合適応となります。特に神経症状などの肝外症状がある場合や凝固障害を伴う進行性疾患や原因不明の脂肪肝の場合、積極的に疑って検査を進めて下さい。肝生検による呼吸鎖酵素活性が基本になります。

### 目的

ミトコンドリア病は呼吸鎖酵素活性が低下した結果、起こってくるものです。その酵素活性を直接測ることにより、本症の診断が可能になります。

### 測定検体・量及び保存方法

【測定検体・量】呼吸鎖酵素活性の測定を行っている検体は、組織は肝臓、筋肉、心筋、腎臓、培養細胞では皮膚由来の線維芽細胞です。ミトコンドリア肝症についてはできるだけ肝臓の測定が望ましいです。肝の針生検では 18G バードモノプティを使うと 1 本が 5~10mg 程度に相当します。1 本で何とかできることもありますが、2~3 本程度あることが望ましいです。特に MDS を疑う場合には、mtDNA 定量 (qPCR) が必要です。少なくとも 2

本は必要になります。骨格筋や心筋は 40mg(3-4mm 立方体くらい)程度あると問題なく行えます。もし開腹肝生検などを行い同時に皮膚の採取が可能であれば、一緒に皮膚も採取し無菌的に送り下さい。肝臓との比較で貴重なデータが得られる場合があります。経験があれば、皮膚から起こした線維芽細胞を送りいただいても結構です。

【保存方法】組織に関しては-80℃にて凍結した生検体を用いています。酵素活性は-80℃であれば 10 年以上にわたって保たれますので、採取後は速やかに-80℃で保存して下さい。

### 輸送方法、金額、所要日数、連絡先

【輸送方法】-80℃に保存した組織を送る際には、十分なドライアイスを入れて送り下さい。原則平日(できれば午前着)ですが、輸送を無事に行うために、あらかじめ御連絡下さい。皮膚は無菌的に採取後滅菌生食などに浸し、凍結せずに可及的速やかに常温の宅急便で送り下さい。

【金額】2010 年 10 月の時点では無料です。今後有料化されることもありますのでお問い合わせ下さい。

【分析にかかる日数】組織であれば約 2 週間です。急ぎの場合は数日以内に出ますのでその旨を御連絡下さい。qPCR に関しては約 2 週間程度みておいて下さい。

#### 【連絡先】

1) 千葉県こども病院代謝科 村山 圭

TEL 043-292-2111、E-mail : kmuraya@mri.biglobe.ne.jp

2) 埼玉医科大学小児科 大竹 明

TEL 049-276-1218/1220、E-mail : akira\_oh@saitama-med.ac.jp

\* 急ぎの場合は、測定施設である千葉県こども病院代謝科 村山に御連絡下さい。

### ミトコンドリア呼吸鎖酵素解析の申し込み手順

千葉県こども病院代謝科 村山 圭先生か、埼玉医科大学小児科 大竹 明先生に連絡。指定の同意書をダウンロードまたは送付してもらい、①申込書、②検査同意書を送付する。検体は指定の方法で、平日のなるべく午前着にて送付する。

①の代わりに簡単なサマリーを送付していただいてもかまわない。

また、同意書は検体と別送でもかまわない。

#### 【送付先】

1) 千葉県こども病院代謝科 村山 圭

TEL 043-292-2111、E-mail : kmuraya@mri.biglobe.ne.jp

2) 埼玉医科大学小児科 大竹 明

〒350-0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38

TEL 049-276-1218/1220、FAX 049-276-1790/1220

E-mail : akira\_oh@saitama-med.ac.jp



## 執筆者一覧

須磨崎 亮 筑波大学医学医療系 小児科

第 1 章 [総論]診断のたまかな流れ

第 5 章 Alagille 症候群 (AGS)

第 7 章 進行性家族性肝内胆汁っ滞症 (PFIC)、良性反復性肝内胆汁っ滞症 (BRIC)

15-3 Alagille 症候群遺伝子検査

15-4 PFIC 遺伝子検査

スクリーニング検査: 直接ビリルビン検査

田澤 雄作 仙台医療センター 小児科

第 2 章 [総論]黄疸の乳児を見たら

第 3 章 胆道閉鎖症

第 4 章 先天性胆管拡張症

第 6 章 新生児肝炎

第 13 章 周産期の異常・新生児仮死

木村 昭彦 久留米大学医学部医学科 小児科学講座

第 8 章 先天性胆汁酸代謝異常症

15-1 胆汁酸分析

乾 あやの 済生会横浜市東部病院 こどもセンター

第 11 章 新生児ヘモクロマトーシス

第 12 章 その他の代謝性疾患

第 14 章 ウイルス性肝炎

鹿毛 政義 久留米大学医学部 病院病理部

15-2 肝組織 BSEP 染色ほか肝病理

虻川 大樹 宮城県立こども病院 総合診療科

第 9 章 シトリン欠損症 (NICCD)

呉 繁夫 東北大学 小児病態学分野

15-5 シトリン欠損症遺伝子検査

村山 圭 千葉県こども病院 代謝科

第 10 章 ミトコンドリア病 (ミトコンドリア肝症、ミトコンドリア DNA 枯渇症候群)

15-6 ミトコンドリア異常症検査

## V. 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： 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
田澤雄作	Infantile cholestatic jaundice associated with adukt-onset citrullinemia type II. ほか	田澤雄作	小児期胆汁うっ滞性疾患の臨床:Alagille症候群など遺伝性胆汁うっ滞性疾患の診断・鑑別	高橋印刷	仙台	2010	1-120
木村昭彦	胆汁酸合成異常症	五十嵐隆 高柳正樹	小児科臨床ピクシス	中山書店	東京	2010	222-225
村山 圭	乳幼児突然死症候群	五十嵐隆 高柳正樹	小児科臨床ピクシス23	中山書店	東京	2010	57-59
村山 圭	ミトコンドリアレスキュー	五十嵐隆 高柳正樹	小児科臨床ピクシス23	中山書店	東京	2010	186-187
大竹 明 村山 圭	ミトコンドリア呼吸鎖異常症	五十嵐隆 高柳正樹	小児科臨床ピクシス23	中山書店	東京	2010	210-213

## 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

田中久子, 瀧本哲也, 阪本靖介, 福田晃也, 垣内俊彦, 重田孝信, 中澤温子, 笠原群生	国立成育医療研究センターにおける小児生体肝移植の実態(第1報) 小児肝移植のデータベース構築に向けて	移植	46巻 4-5	325-334	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
Takenouchi T, Shimozato S, Kosaki K, Momoshima S, Takahashi T.	Reversible diffuse white matter lesion in Alagille syndrome.	Pediatr Neurol.	45(1)	54-56	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 International	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