

ルギー代謝改善による心不全治療など新しい治療法につながると期待される。今後さらにこの分子の生化学的・生理学的機能解析を行う。

#### E. 結論

低酸素により一過性に発現誘導される新規のミトコンドリア構成タンパク質を同定した。今後この遺伝子の生理機能解析をすすめ、エネルギー代謝における役割の解明を進める。さらに本遺伝子のミトコンドリア病における役割を検討する。

#### F. 健康危険情報

現在まで有害の事象なし

#### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

なし

#### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。)

##### 1. 特許取得

現在のところなし

##### 2. 実用新案登録

現在のところなし

##### 3. その他

特記すべき事項なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

## MELASに対するL-アルギニン療法

- 急性期治療のgolden timeと長期治療における限界 -

分担研究者 古賀靖敏 久留米大学大学院医学研究科小児科学

## 研究要旨

オーファン疾患であるミトコンドリア病のサブタイプ MELAS に対する L-アルギニンの治療適応症追加を目的として、脳卒中様発作急性期における症状改善を目的とした静注療法と寛解期における発作予防を目的とした内服試験の2つの医師主導治験を2年間施行した。現在、2つの治験に対する症例検討会を終えて、データの確定作業を経たのちに、統計解析、PK、PD 解析を行い有効性評価を完了し、今年度中には承認へ向けての申請を行う予定である。一方、MELAS における L-アルギニンの治療の有効性に影響する因子および長期治療における問題点についても、明らかになってきた。急性期治療における問題点として、脳卒中様発作のオンセットがわかりにくい症例の存在がある。治験では、オンセットの定義として、頭痛、嘔吐・吐気に加えて、痙攣、意識障害、麻痺、視野異常、意識障害のいずれかが加われば、そこでオンセットと定義した。しかし、症例によっては、頭痛や嘔吐がなく、突然、意識障害や痙攣で発症する症例がある事が報告され、オンセットの定義が難しい事が判明した。また、オンセットが明確で発作2時間以内の超急性期にL-アルギニンの治療を行えた2例で、超急性期のMRI画像異常DWI (high)、ADC (low)、T2 (不変もしくは淡いhigh)が、一週間でMRI上全く正常化する事も判明し、急性期治療のgolden timeとしては、2時間以内が最も効果がある事も明らかになった。アルギニン治療を3年間行っているMELASの12例中、心筋症を合併した2症例で死亡が確認され、L-アルギニンの治療の限界も明らかになった。アルギニン療法は、MELASにみられるangiopathyすなわち血管内皮機能障害に起因する小動脈の拡張不全を改善する目的で考えられた治療法である。しかし、細胞障害性の因子が強く働くA3243G変異のより高度に全身臓器に集積したタイプでは、その単独の効果では限界があり、ピルビン酸ナトリウムなどの早期開発が望まれる。

## A. 研究目的

ミトコンドリア病の診断と治療に関する調査研究の一環として、我々は、ミトコンドリア病の新しい治療法の開発研究に関し研究を行っている。MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes) はミトコンドリア病でも

っとも多い病型である。本症の病態解明は分子遺伝学的には飛躍的に進んでいるが、いまだ有効な治療法の開発には至っていない。日本の5年間にわたるMELAS患者96例のコーホート研究を通し、MELASの自然歴を明確にした (Yatsuga S. et al. BBA-general 2012)。この研究は、MELASの自然歴に与えるアルギニンの長期内服の効果を評

価する上で、必須の基礎データと考えられる。また、アルギニンの脳卒中様発作時の急性期治療および発作間歇期における発作予防に対するアルギニンの作用機序について、今までの分子病態を踏まえた総説を公表した (Koga Y. et al. BBA-general 2012)。これらのデータは、MELAS に対するアルギニン治療の国際展開を見据えた上で、非常に有用と考えられる。我々が発見したアルギニン治療が、MELAS の脳卒中様発作の頻度および重症度の軽減に有効であることを、新 GCP の法規制の下で医薬品として開発する目的で、2 年間の医師主導治験を行った。これは、MELAS の脳卒中様発作急性期の治療 (静注試験) および、脳卒中様発作の予防および重症度軽減目的での間歇期治療 (内服試験) の 2 試験を、日本医師会治験促進センターの採択により 2 年間実施し、平成 22 年 6 月 30 日、無事終了した。平成 24 年度は、日本医薬品医療機器総合機構 (PMDA) への年内申請へ向けて研究を継続する予定である。本研究では、MELAS における L-アルギニンの治療の有効性に影響する因子および長期治療における問題点についても、明らかになってきたので、急性期治療の golden time と長期治療における限界に関し、検討を行った。

## B. 研究方法

### 1) 長期内服の効果

MELAS のアルギニン治験には登録していない患者 8 名にアルギニンを 5 年間の長期内服し、ミトコンドリア病の重症度スコアの変動を継時的に観察した。

### 2) 超急性期の治療成績

脳卒中様発作は発現した 2 時間以内にアルギニンを点滴静注し、その臨床症状と MRI 画像変化を継時的に観察した。MELAS 患者は、すべて脳卒中様発作の既往があり、かつミトコンドリア DNA の tRNA<sup>Leu</sup>(UUR) 遺伝子の A3243G 変異を有する、臨床、病理、生化学的に確定した患者である。

### (倫理面への配慮)

研究に先立ち、患者には研究の目的および、主旨、不利益・危険性の排除や説明と同意 (インフォームド・コンセント) を十分に説明し、同意が得られた場合のみ研究を実施する。また、本研究は、臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 415 号) に準拠して行った。

## C. 研究結果

### 1) 長期内服の効果

MELAS 患者 8 名にアルギニン 0.3-0.5 g/kg/日を経口投与 (TID) し、ミトコンドリア病重症度スコアを 1 か月毎に評価した。その結果、糖尿病や腎不全、心不全合併例で重症度の悪化が顕著であった。アルギニン非服薬 MELAS の 5 年間のコホート研究では、ミトコンドリア病重症度スコアは、 $4.4 \pm 3.2$  から  $16.1 \pm 9.2$  と有意に悪化したが、本研究では  $5.6 \pm 2.9$  から  $9.3 \pm 6.2$  と重症度スコアの悪化が抑えられた。しかし、糖尿病や腎不全、心不全合併例では、その症状進行が早い傾向が見られた。

### 2) 超急性期の治療成績

MELAS 患者 2 例で脳卒中様発作が発現して 2 時間以内にアルギニンを経静脈的に投与し、その後の臨床症状および MRI 画像を継時的に観察した。発作発現後、皮質盲、痙攣、四肢麻痺の症状は、アルギニン静注後 30 分以内で消失した。また、発作直後に取られた MRI では、DWI で高信号、ADC で低信号、T2 で変化は出ていないが、その後 1 週間、一か月での MRI では、全く異常像が消失していた。

## D. 考察

コホート研究のデータにより、MELAS では継時的に重症度が進行することが明らかになり、慢性進行性の難治疾患であることが示された。内服することで、MELAS の自然歴に比較し、病気の進行を抑えることが出来たが、腎不全、心不全、糖尿病を合併した個体では、その進行が比較的早い傾

向が見られた。急性期治療の golden time は、脳卒中様発作のオンセット後 2 時間と考えられ、臨床症状の改善とともに MRI でも異常画像が完全に消失した。

## E. 結論

急性期治療の golden time としては、2 時間以内が最も効果がある事も明らかになった。アルギニン療法 of 長期投与は、ミトコンドリア病重症度スコアで診る限り、重症度の進行を抑える事が可能である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Koga Y, Povalko N, Katayama K, Kakimoto N, Matsuishi T, Naito E, Tanaka M. Beneficial effect of pyruvate therapy on Leigh syndrome due to a novel mutation in PDH E1  $\alpha$  gene. *Brain & Dev* 2012 34;87-91.

2) Koga Y, Povalko N, Nishioka J, Katayama K, Kakimoto N, Matsuishi T. Molecular Pathology of MELAS and L-Arginine Effects. *Biochem Biophys Acta General* 2012;1820:608-614.

3) Yatsuga S, Povalko N, Katayama K, Nishioka J, Kakimoto N, Toyojiro Matsuishi, Yasutoshi Koga. MELAS: A nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan *Biochem Biophys Acta General* 2012;1820:619-624

4) Koga Y. Biochemistry of Mitochondria, Life and Intervention 2010. *Biochem Biophys Acta General* 2012 1820:551-552

5) Ikawa M, Arakawa K, Hamano T, Nagata M, Nakamoto Y, Kuriyama M, Koga Y, Yoneda M. Evaluation of systemic redox states in patients carrying MELAS A3243G mutation in

mitochondrial DNA. *European Neurology* (in press)

### 2. 学会発表

1) Koga Y: Beneficial effects of Pyruvate Therapy on Mitochondrial Myopathy. *MITOCHONDRIAL MEDICINE 2011: CHICAGO, USA, 2011.6.14-18.*

2) Koga Y: mitochondrial morphology, Cardiolipin. 5th SFRR-Asia 8th ASMRM 11th J-mit. 2011.8.31-9.4 (Kagoshima).

3) 古賀靖敏: MELAS コホート研究に診られる成長障害の実態と GH に対する反応性. 第 45 回日本小児内分泌学会学術集会. 2011.10.6-8. 大宮ソニックシティ (埼玉).

4) Koga Y: Satellite Meeting. Treatment of Mitochondrial Disease - now and in the future Conference 2011, New York, USA, 2011.10.24.

5) Povalko N: Satellite Meeting. Treatment of Mitochondrial Disease - now and in the future Conference 2011, New York, USA, 2011.10.24.

6) 古賀靖敏: ミトコンドリア病治療の最前線. PDHE1  $\alpha$  欠損による Leigh 脳症に対するピルビン酸ナトリウムの臨床評価. 第 53 回日本先天代謝異常学会総会、第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 2011.11.24-26. ホテルニューオターニ幕張 (千葉)

## G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

ミトコンドリア病の遺伝における健康児を得ることが困難な事例に関する対策

分担研究者 末岡 浩 慶應義塾大学医学部産婦人科 准教授

研究要旨 ミトコンドリア病の保因者では、個々の卵子において変異率が大きく異なることが知られ、着床前遺伝子診断の倫理承認を得て、実施が許可されている事例が存在する。しかし、疾患を発症しないヘテロプラスミー比率の卵子がどの比率で得られるかについて、なお不明である。この Leigh 脳症に関して、自然妊娠における疾患児、着床前遺伝子診断における胚診断、自然妊娠後に行った出生前診断によって計 4 回の妊娠に関する遺伝子診断で健康児の出産が困難であった事例を得たことを報告する。

A. 研究目的

受精卵のミトコンドリアは父親由来のものは伝わらず、母系遺伝であることが知られている。mtDNA 異常をもつミトコンドリア病は、正常型と変異型の mtDNA が共存するヘテロプラスミーの状態に遺伝し、この変異比率は疾患ごとに異なる。また、個々の卵子において変異率が大きく異なることが知られ、そのメカニズムとして卵子が形成される過程において、まず mtDNA のコピー数が極端に減り、その後 mtDNA 分子が急速に増えるボトルネック効果のためと考えられ、ボトルネック後に 1 つ 1 つの卵子が極端に異なる変異率をもつことになることが理論的に示唆されている。このミトコンドリア病の保因者の中で、8993 位に変異をもつ Leigh 脳症では 90% 以上の変異率の場合に疾患が発症すると報告され、着床前遺伝子診断の倫理承認を得て、実施が許可されている事例が存在する。しかし、健康な児を出産する可能性、言い換えると疾患を発症しないヘテロプラスミー比率の卵子がどの比率で得られるかについて、なお不明である。この Leigh 脳症に関して、自然妊娠における疾患児、着床前遺伝子診断における胚診断、自然妊娠後に行った出生前診断によって計 4 回の妊娠に関する遺伝子診断で健康児の出産が困難であった事例を得たことを報告する。

B. 方法

対象はミトコンドリア DNA の変異に基づく Leigh 脳症保因者であり、遺伝子型は 8993 位の T>G 変異が 46% 存在する女性である。変異比率の診断は Real-time PCR 法による遺伝子診断を原則として行った。mtDNA 点変異部位を含む範囲の PCR プライマーを作成し、異なる蛍光色素でラベルされた正常配列と変異配列のそれぞれに対応する 2 種類の遺伝子プローブを用いて PCR 反応を行った。正常と変異それぞれの遺伝子の比を算出して変異比率を診断した。変異遺伝子はプラスミド DNA を用いて検量線を求め、それに応じて検出した変異比率から診断を行った。

着床前遺伝子診断に関しては、GnRH アゴニスト-hMG-hCG による排卵誘発の後、採卵、顕微授精で得られた初期胚から、6~8 細胞期の段階での割球 2 個および極体、細胞質フラグメントを顕微鏡操作により採取し、遺伝子検査を行った。

(倫理面への配慮)

研究対象について十分な倫理的配慮を行ってきた。慶應義塾大学医学部倫理委員会の倫理審査および日本産科婦人科学会倫理委員会での倫理審査による承認を経て、着床前遺伝子診断を実施した。

### C. 研究結果

着床前遺伝子診断に先行して自然妊娠が2回あり、第一子は生後6日目、第2子は生後11カ月で代謝性アシドーシスのため死亡している。遺伝子診断では、2児ともに母親の持つmtDNAの8993T>G変異を95%以上有することが判明している。着床前遺伝子診断では採卵後、同日に卵細胞質内精子注入法(Intracytoplasmic sperm injection:ICSI)法による顕微授精を実施し、第3日目に分割した初期胚から割球、細胞質フラグメント、極体の生検を行い、遺伝子診断に供した。その結果どの生検細胞についても97%以上の変異比率を示した。その後、同女性は排卵障害を来したが、自然妊娠が成立し、クライアントの強い希望があり、遺伝カウンセリングの上で出生前診断を実施した。結果は99%以上の変異比率を示した。

### D. 考察

ミトコンドリア遺伝子病の変異比率が高くなるとある段階から症状を呈するようになり、一般的に高い変異比率で重症度は高くなる。具体的には、8993変異の場合、表現型として、乳児期に発症する重症で致死的なLeigh脳症と成人で発症する軽症のNARP(Neuropathy, ataxia and retinitis pigmentosa)が知られている。ミトコンドリア遺伝子病の児を産む可能性の高い変異ミトコンドリアDNAを高い比率で有する女性が健康な挙児を得るための生殖医療技術として考えられる手法には、出生前診断、着床前遺伝子診断、核移植または細胞質移植、卵子提供などが考えられている。この中で、出生前診断は妊娠してからの手法であり、結果によっては妊娠の成立以前に行える手段ではない。一方、妊娠成立前に行える手法として着床前遺伝子診断があり、最も現実的な方法論である。しかし、この際の医学的問題点として、どのくらいの確率で健常児を得られる可能性のある卵子を獲得できるかが不明である点、変異比率のカットオフとなる数値が胚診断からでは必ずしも明確でない点などが指摘されてきた。

ミトコンドリアDNA病では親子の間でミトコンドリアDNAの変異比率が変化することが報告されており、

その幅はLeigh脳症に関するWhiteらの論文(S.L. White, et al.; Am J Hum Genet 65: 474-482, 1999)によれば母の血液での変異率と子のリスクに関するデータが報告されている。本妊娠事例の女性が約46%の変異率を持つことから、子は約10%~85%の範囲で変異率が広がる可能性があると考えられてきた。検査で得られる変異率をどのように解釈するかについて、なお議論があるが、50%以下の低率であれば、子が将来、Leigh脳症やNARPに罹患する再発リスクはかなり低く、罹患しない可能性も相当程度あると解釈できる。一方、それ以上の変異比率の場合、50~70%の中等度ではLeigh脳症やNARPに罹患するリスクはかなり高く、70%以上の高率の場合には子のLeigh脳症やNARPに罹患リスクは高いと解釈する。この中で本事例は着床前遺伝子診断を含めて、4回にわたって、重篤なミトコンドリア遺伝子病を発症しない卵子が得られなかったことから、事例によって発症を回避できる自己の卵子による妊娠が困難であることがあることを示唆した。

### E. 結論

mtDNA異常をもつミトコンドリア病は個々の卵子において変異比率が大きく異なるなかで、疾患の発症を回避できる卵子を得られることが期待できるとは限らないことが示唆された。本事例は4回の妊娠または胚の診断から、疾患を回避できる卵子が得られなかったことを示した。この事から着床前遺伝子診断で目的とする卵子が得られない可能性が高い症例に関して、他の選択肢を検討する必要性が示唆された。

### F. 健康危険情報

なし。

### G. 研究発表

なし。

### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

頻回の卒中発作を呈した MELAS の一女児例に対する L アルギニン療法の効果

分担研究者 須藤 章 北海道大学病院小児科 客員研究員

研究要旨 9～13 歳の 4 年間余りで、合計 14 回の脳卒中様発作を繰り返した MELAS の女兒に対し、8 回の急性期に L アルギニンの静注療法を行った。神経症状発現から早期に治療開始できた場合は有効な印象があった。内服による予防効果は明らかでなかった。

A. 研究目的

L アルギニン療法の有効性を、MELAS の頻回脳卒中様発作の一症例で検討する。

B. 研究方法

脳卒中様発作の定義としては、頭痛と嘔気または嘔吐に加えて、同名半盲や脱力などの巣症状を有する場合または、巣症状があった後に大脳 MRI 検査で該当する領域に新規病変を認めた場合とした。点滴静注の効果は、24 時間以内に頭痛と嘔気が消失し、神経症状の改善をみた場合を有効とした。

（倫理面への配慮）

L-アルギニン医師主導治験

（IIS-MELAS001-002）と同じ説明を行い同意を得た。

C. 研究結果

症例は 9 歳で初めての脳卒中発作があった MELAS の女兒で、その後 13 歳に至るまで、合計 12 回の卒中様発作を起こした。ミトコンドリア DNA の 3243A>G 変異を認めている。L アルギニンの静注を 6 時間以内に開始できた 4 エピソード中、3 回が有効であった。6 時間以上過ぎて投与した 3 エピソード中、1 回が有効であった。5 回目の脳卒中様発作後から L アルギニンの内服を開始したが、3 ヶ月間に 2 度の発作があり、薬剤性過敏症症候群によるステロイドの使用もあり中止し、ジクロロ酢酸ナトリウムに変更した。その後の 2 年

間では、脳卒中様発作が 6 回あった。

D. 考察

一症例での検討であるが、MELAS の急性期における L アルギニン静注剤の効果は、頭痛、嘔吐に加えて半盲などの典型的な症状が短時間に出揃ってから早期（4～6 時間以内）に治療できた場合は有効なことが多かったが、それ以外は、あまり期待できない印象をもった。また、今回の症例では、L アルギニン内服による予防効果は明らかではなかった。

E. 結論

MELAS に対する急性期の L アルギニンの静注剤の投与は、神経症状が出現してから早期に治療できた場合は、有効な印象があった。今後、この治療を最大限発揮させるための条件を検討すべきである。

F. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表
  - 1) 須藤章. MELAS における L アルギニン静注療法の有効性-頻回の脳卒中様発作を呈した 1 症例からの考察-. 第 19 回日本小児神経学会北海道地方会（平成 24 年 3 月 24 日）

F. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
 分担研究報告書

ミトコンドリア病の遺伝子診断・代謝病態評価法・薬物治療法の開発

分担研究者 田中雅嗣 東京都健康長寿医療センター研究所・研究部長

研究要旨 ミトコンドリア病の迅速な遺伝子診断を行うために、半導体シーケンサーを活用した。同時にミトコンドリア DNA 変異を有する細胞において、ピルビン酸と乳酸の代謝動態を解析し、ピルビン酸の有効性を確認した。ピルビン酸ナトリウム投与によってミトコンドリア患者の活動量に改善が見られるかどうかを検討した。

A. 研究目的

ミトコンドリア病の進展を阻止するための早期治療開始には、組織学的診断・生化学的診断・遺伝子診断を正確かつ迅速に行うことが必須である。さらに薬物投与の効果を評価するには、全身のエネルギー代謝ならびに代謝中間体の動態の把握が必要である。これらを達成するためには、ミトコンドリア病の診断・治療における役割分担を明確にし、我が国における連携体制を構築することが求められている。

B. 研究方法

ピルビン酸ナトリウム投与を行った histiocytoid cardiomyopathy の剖検例 (Complex I+IV deficiency) の患児および両親の全エクソン配列を SOLiD4 によって解析した。またミトコンドリア DNA 塩基配列を半導体シーケンサー Ion PGM を用いて解析した。3243A>G 変異を有するサイブリッドメタボローム解析は CE-TOF-MS 法によって行った。M. 8993T>G 変異を有する患者に対してピルビン酸ナトリウム (0.5 g/kg/day) を投与した。

(倫理面への配慮)

ピルビン酸ナトリウム投与ならびに遺伝子解析は当該の倫理委員会の承認を得て、患者・家族に説明を行い、同意の下に実施した。

C. 研究結果

1. ピルビン酸ナトリウム投与を行った histiocytoid cardiomyopathy の剖検例 (Complex I+IV deficiency) の患児および両親の全エクソン配列を SOLiD4 によって解析したが病因変異を同定できなかった。一方、Leigh 脳症の患児 (Complex I activity = 12.7%) において mtDNA の 61 種の既報の病的変異をスクリーニングしたが全て陰性であった。さらに患児・姉・両親の全エクソン塩基配列を解析したが病因変異を同定できなかった。そこで、mtDNA の全塩基配列を半導体シーケンサー Ion PGM を用いて決定し、新規病因変異を探索した。自動解析により得られた塩基置換リストを HaploGrep website に upload すると、haplogroup D5a1a1 であることが判明し、global private mutation として m. 3677A>G (ND1, N124S) が浮上した。Ion PGM の分析によると 3677G 変異の割合は 85%であった (A:G = 107:612)。制限酵素 AluI を用いた RFLP 分析によって患児で heteroplasmy が確認されたが、姉・両親で変異は検出されなかった。ND1 は Complex I のユビキノ結合部位であり、分子構築の初段階に必須である。Asn-124 は 60 種の哺乳類だけでなく、*E. coli* NuoH ならびに *T. thermophilus* Nqo8 においても保存されている。ND1 N124S は Complex I 欠損を惹起する新規病因変異であると推定した。

2. 3243A>G 変異を有するサイブリッドの培養液に 10 mM [3-<sup>13</sup>C]lactate あるいは 10 mM



[3-<sup>13</sup>C]pyruvate を添加し、0, 1, 2, 4 時間後の細胞内ならびに培養液中の代謝中間体を網羅的に解析した。ピルビン酸ナトリウムを培地に添加することによって、解糖系が賦活化され、細胞内エネルギー状態が正常化した。一方、ジクロロ酢酸の培地への添加によって細胞内エネルギー状態は改善されず、ピルビン酸の優位性が示された。

### 3. ミトコンドリア病のピルビン酸ナトリウム療法

ピルビン酸投与による易疲労度の改善を客観的に捉えるために、ネットワーク対応型の活動量計を用いて、METs・Ex 量・生活活動・活動カロリーの測定を開始した。ピルビン酸投与によって活動度が上昇するかどうかを検討している。

### D. 考察

ピルビン酸ナトリウム投与によって神経細胞のアポトーシスを阻止できるならば、遺伝子解析によるミトコンドリア病の確定診断を迅速に行う必要がある。分担研究者らは 61 種の既知の病的 mtDNA 点変異を迅速にスクリーニングする方法を開発し、検査会社において遺伝子検査サービスを実施している。迅速検査は約 10 日、通常検査では 4 週間程度で結果を報告している。しかしながら、61 種以外の mtDNA 変異の同定には mtDNA の全塩基配列の決定が必要である。従来の Sanger 法では目視によって変異を確認することが必要である。また正常個体の mtDNA においても約 40 個の多型が検出されるので、見いだされた数多くの塩基置換の中から、データベースと照合することによって、多型と変異を判別する必要があった。研究分担者らは半導体シークエンサー Ion PGM を活用して mtDNA 変異の自動解析系を開発した。実際に Leigh 脳症の患児において新規の病因変異を同定することができた。核 DNA の変異によるミトコンドリア病の遺伝子診断は、広範囲の遺伝子を精査する必要があるため、迅速化は容易ではない。我が国における mtDNA 解析と核 DNA 解析にお

いて研究者が適切に役割分担を行っていく必要がある。一方、ピルビン酸療法に関しては、限られた症例における経過観察が行われているに過ぎない。今後、ピルビン酸ナトリウムの有効性を確認するために、GMP に準拠した治験薬の製造、実験動物における安全性試験、第一相試験などを計画していく必要がある。

### E. 結論

mtDNA の既知の病的変異をスクリーニングする系と、次世代シークエンサーを用いた mtDNA 全塩基配列の解析によって新規病的変異を網羅的に探索する系は、相補的である。ミトコンドリア病を迅速に診断し、ピルビン酸療法・アルギニン療法を早期に開始し、病態の進行を遅らせることができるかと期待される。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) 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*. 2012 May;1820(5):632-6. Epub 2011 Aug 11.

2) Peng TI, Hsiao CW, Reiter RJ, Tanaka M, Lai YK, Jou MJ. mtDNA T8993G mutation-induced mitochondrial complex V inhibition augments cardiolipin-dependent alterations in mitochondrial dynamics during oxidative, Ca<sup>2+</sup>, and lipid insults in NARP cybrids: a potential therapeutic target for melatonin. *J Pineal Res*. 2012 Jan;52(1):93-106. Epub 2011 Aug 4.

3) Koga Y, Povalko N, Katayama K, Kakimoto N, Matsuishi T, Naito E, Tanaka M. Beneficial

effect of pyruvate therapy on Leigh syndrome due to a novel mutation in PDH E1 $\alpha$  gene. *Brain Dev.* 2012 Feb;34(2):87-91. Epub 2011 Mar 31.

4) Sawabe M, Tanaka M, Chida K, Arai T, Nishigaki Y, Fuku N, Mieno MN, Kuchiba A, Tanaka N. Mitochondrial haplogroups A and M7a confer a genetic risk for coronary atherosclerosis in the Japanese elderly: an autopsy study of 1,536 patients. *J Atheroscler Thromb.* 2011;18(2):166-75. Epub 2010 Nov 19.

5) Mikami E, Fuku N, Takahashi H, Ohiwa N, Scott RA, Pitsiladis YP, Higuchi M, Kawahara T, Tanaka M. Mitochondrial haplogroups associated with elite Japanese athlete status. *Br J Sports Med.* 2011 Dec;45(15):1179-83. Epub 2010 Jun 15.

## 2. 学会発表

なし

## H. 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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

遅発性ミトコンドリアミオパチーの臨床的、病理学、遺伝学的検討

研究分担者 中川 正法 京都府立医科大学 大学院 神経内科学 教授  
研究協力者 水田依久子 滋賀 健介

研究要旨 2009年～2011年の3年間に当科で行ったミトコンドリア遺伝子解析について、遅発性ミトコンドリアミオパチーを中心に報告する。2009年～2011年の3年間で血液13検体、筋生検7検体のミトコンドリア遺伝子解析を行った。筋生検でragged red fibers(RRF)を認めた成人発症の3症例(症例1. 70歳、女性。症例2. 64歳、女性。症例3. 78歳、男性)中2例はmtDNAの全シーケンスを解析した。遺伝子診断が明らかになったのは3症例(MELAS 2症例、MERRF 1症例)であった。成人発症の症例1と症例3ともにlong PCRでmultiple deletionを認めた。この2例は核DNA異常による遅発性ミトコンドリアミオパチーの可能性が示唆された。

A. 研究目的

2009年～2011年の3年間に当科で行ったミトコンドリア遺伝子解析について、遅発性ミトコンドリアミオパチーを中心に報告する。

B. 研究方法

2009年～2011年の3年間で血液13検体、筋生検7検体のミトコンドリア遺伝子解析を行った。遺伝子解析は、m. 3243、m. 3271、m. 3250、m. 3260、m. 8993、m. 8291、m. 8344、m. 11778を含む領域のダイレクトシーケンス及び9bp deletion、m. 8500～m. 14000間の”common deletion”の有無についてスクリーニングした。筋生検でragged red fibers(RRF)を認め、前述のスクリーニングで特異的変位を認めなかった成人発症の3症例に関しては必要に応じて、mtDNAの全シーケンスを解析した。

- 1) 症例1. 70歳、女性。65歳頃より健診でCK300台を指摘された。同時期より坐位からの立ち上がりにくさを自覚した。筋生検では、筋原性変化と少数のRRFsを認めた。
- 2) 症例2. 64歳、女性。61歳頃より階段昇降に困難さを自覚した。CK273。筋生検で筋原性変化

と少数のRRFsおよびCCO欠損線維を認めた。

3) 症例3. 78歳、男性。50歳台より上肢の脱力を自覚していた。70歳ごろから立ち上がりにくさが進行した。CK367。筋生検で筋原性変化と少数のRRFsとCCO欠損線維を認めた。

3症例ともに明らかな家族歴を認めなかった。

C. 研究結果

遺伝子診断が明らかになったのは3症例(MELAS 2症例、MERRF 1症例)であった。3例中2例は血液・筋検体の両方で異常を確認した。1例は血液検体のみ検査を行った。

四肢近位筋筋力低下、CK軽度高値を示す成人発症の3例は、いずれもスクリーニング検査では異常を認めなかったため、症例1と症例3のmtDNA全シーケンス解析およびlong PCRによる検討を行った。その結果、2例ともに塩基配列に特異的な異常を認めなかったが、long PCRでmultiple deletionを認めた。

D. 考案

肢帯型筋ジストロフィー類似の臨床症状を呈する遅発性ミトコンドリアミオパチーの報告が

散見される。Hirata らは M. 8291A>G+9bp deletion を示す類似例を報告しているが、今回解析した 3 症例ではこれらの変異は認められなかった。

一方、今回検討した 3 例中 2 例で multiple deletion を認めた。家族歴からは優性遺伝、細胞質遺伝ともに否定的であったが、この 2 症例は核 DNA 異常による遅発性ミトコンドリアミオパチーの可能性が示唆された。

今後、生検筋 DNA によるサザンブロット解析等を行っていく必要があると考えている。

#### E. 結論

50 歳以降の高齢発症ミトコンドリアミオパチーの 3 症例を中心に報告した。筋生検にて RRFs を認めた場合には mtDNA の詳細な検討が必要であることを強調したい。

#### 研究発表

##### 論文発表

- 1) 伊佐敷 靖、中川正法。難聴と視神経萎縮。日本眼科学会雑誌 115(4), 409-412, 2011

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

Leigh 脳症に対する idebenone の治療効果についての研究

分担研究者 萩野谷和裕 宮城県拓桃医療療育センター  
東北大学小児科

研究要旨 当院に通院中の 2 例の Leigh 脳症にて、idebenone の臨床効果  
をみたので報告する。

A. 研究目的および方法

Leigh 脳症は小児のミトコンドリア病では大きな割合を占める疾患である。依然としてその大部分は原因が不明な状態である。また、治療に関しても、これまで、いくつかの試みがなされているが多くの場合、進行を抑制することに成功していない。当院に通院中である、本症患者 2 人に対して、idebenone を投与して臨床症状の改善がみられるかを検討した。本研究は、東北大学医学部倫理委員会の承認を受けている。

B. 研究結果

1) 症例 1 (17 歳男児)

5 歳から失調歩行、眼振、歩行困難が出現し、発熱時には悪化した。8 歳時に当院初診。失調による歩行困難が進行していた。髄液中乳酸ピルビン酸の高値、MR I にて両側の被核の T2 高信号所見より、Leigh 脳症と診断した。生検筋と培養皮膚線維芽細胞の cytochrome c oxidase 活性は正常の 30% であった。既知の Leigh 脳症関連の mitDNA の変異は認められなかった。ビタミン B1 (100mg) 内服にて外来フォローされたが、その後徐々に呼吸機能が低下し、11 歳時急性呼吸不全にて緊急入院となった。この時の PaCO<sub>2</sub> は 78, PaO<sub>2</sub> は 30mmHg であった。6 日後に改善し、CoQ10 を 240mg/day 併用にて退院した。しかし 5 か月後に再度の呼吸不全にて入院した。IQ38 で、呼吸は失調性、外眼筋麻痺あり。家族の了承を得て idebenone (90mg/day) を試みた。投与前と 6 か月後の評価を行った。終夜ポリグラフでは、中

枢性および混合性の睡眠時無呼吸がみられ apnea index は 6.3 から、投与後 3.8 に減少した。Stage INREM での rapid eye movement の出現、sleep spindle の減少は前後で不変であった。SpO<sub>2</sub> は睡眠時の 80-90% から 95% に変化し、覚醒時には 90% から 95% に変化した。ABR では III-V 波の再現性がみられず、前後で変化はなかった。胸隔運動のモニタリングでは、投与前は不規則で小さく失調性であったが、投与後は規則性がみられ運動は大きくなった。髄液中の乳酸は 26-28 mg/dl で前後で変化は見られなかった。覚醒時の PaO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> は、投与前は 57-68mmHg, 60-70mmHg であったが、投与後は 75-80mmHg, 45-60mmHg と変化した。その後 4 年 8 か月フォローしたが、特に副作用もなく、呼吸障害の悪化もなく経過した。神経学的な改善は認められていない。

2) 症例 2 (10 歳男児)

乳幼児期の発達正常。4 歳からてんかんとして CBZ にて治療されていた。コントロール良好であった。小学校入学後発達の遅れを指摘され、IQ (WISCIII) は 54 (PIQ60, VIQ57) であった。6 歳から眼球運動障害と眼瞼下垂が出現し、MR I にて両側脳幹部に T2 高信号病変が認められ、髄液中乳酸高値から、Leigh 脳症と診断した。ビタミン B1 大量療法施行にて著効あり、日常生活、体育が可能となった。既知の Leigh 脳症関連の mitDNA の変異は認められなかった。その後 8 歳から眼瞼と左上肢の振戦、左半身の間代けいれん、頸部の前屈発作、上半身のミオクローヌス、両下肢の痙性不全麻痺が出現し、歩行困難となった。髄液中乳酸 37.4 ピルビン酸

15.4 と上昇。MRI では、大脳皮質の多発性の小病変、基底核、四丘体にも病変があり。発作は難治でケトン食にて一次的に軽快した。

9歳からミオクロヌスが著明となり、嚥下困難の進行からケトン食を中止した。随意的な体動が少なく、疎通性はほとんどなくなり、著明な知的退行を示した。座位、寝返り困難で、上肢・体幹のジストニアが見られ夕方から夜間にかけて緊張が強くなる。表情は乏しく自発語は見られず随意的眼球運動も充分ではない。中枢性の呼吸障害が進行し、無呼吸を繰り返した。nasal biPAP を使用。しかし唾液の誤嚥により SpO<sub>2</sub> が低下することが頻回で、VF では口内の造影剤が容易に気管内に流入した。この段階で、家族の了承を得て idebenone (90mg/day) を試みた。3か月投与し前後で効果を見たが、呼吸状態、神経学的所見、血液ガス所見に変化がみられず投与を中止した。9歳半で喉頭気管分離術、胃瘻造設術、逆流防止弁形成術を受けた。その後の状態は安定しており、酸素は使用せず、日中はレスピレーターをはずしていることも可能であった。培養皮膚線維芽細胞の解析にて Complex I 活性の欠損が認められた。

#### C. 考察

症例1では呼吸機能の改善を認めたが、進行が急速で高度障害例の症例2では改善は認められなかった。idebenone は、CoQ10 の短鎖の誘導体で、BBB 透過性が CoQ10 に比して良好で、抗酸素毒性があり、ミトコンドリアでの ATP 合成を促進することが報告されている。また、近年 Friedreich 失調症の心障害に有効性が認められている。idebenone は MELAS の3例に使用報告があり、臨床症状の改善や脳波、IQ の改善があったとされている。しかし Leigh 脳症への投与の報告はない。今回の試みにて、比較的緩徐進行性の1例にて呼吸障害の改善をみた。idebenone は、ラットの海馬、中脳、脳幹において、セロトニンの代謝回転を亢進させることが報告されている。延髄のセロトニンニューロンは脳幹の中枢性化学受容器ニューロンであり、セロトニントランスポーターノックアウトマウスでは高炭酸ガス血症への換気応答が低下していることから、idebenone がセロトニンニューロンの機能を活性化して中枢性の換気障害を改善させた可能性がある。

#### D. 健康危険情報

特になし

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Yoneda Y, Haginoya K, Arai H, Yamaoka S, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Yokochi K, Osaka H, Kato M, Matsumoto N, and Saito H. De novo and inherited mutations in COL4A2, encoding the type IV collagen  $\alpha 2$  chain cause porencephaly. *Am J Hum Genet.* 2012;90:86-90.

2) Tsuburaya R, Uematsu M, Kikuchi A, Hino-Fukuyo N, Kunishima S, Kato M, Haginoya K, Tsuchiya S. Unusual ribbon-like periventricular heterotopia with congenital cataract in a Japanese girl. *Am J Medical Genet part A*, (in press)

3) Uematsu M, Haginoya K, Kikuchi A, Nakayama T, Kakisaka Y, Numata Y, Kobayashi T, Hino-Fukuyo N, Fujiwara I, Kure S. Hypoperfusion in caudate nuclei in patients with brain-lung-thyroid syndrome. *J Neurol Sci.* (in press)

4) Sakamoto O, Ohura T, Murayama K, Ohtake A, Harashima H, Abukawa D, Takeyama J, Haginoya K, Miyabayashi S, Kure S. Neonatal lactic acidosis with methylmalonic aciduria by novel mutations in the SUCLG1 gene. *Pediatr Int.* 2011;53:921-5.

5) Iwasaki M, Nakasato N, Kakisaka Y, Kanno A, Uematsu M, Haginoya K, Tominaga T. Lateralization of interictal spikes after corpus callosotomy. *Clin Neurophysiol.* 2011;122:2121-7.

6) Hirose M, Haginoya K, Yokoyama H, Kikuchi A, Hino-Fukuyo N, Munakata M, Uematsu M,

Iinuma K, Kato M, Yamamoto T, Tsuchiya S. Progressive atrophy of the cerebrum in 2 Japanese sisters with microcephaly with simplified gyri and enlarged extraaxial space. *Neuropediatrics*. 2011;42:163-6.

7) Watanabe S, Murayama A, Haginoya K, Tanaka S, Togashi N, Abukawa D, Sato A, Imaizumi M, Yoshikawa H, Takayama R, Wakusawa K, Kobayashi S, Sato I, Onuma A. Schinzel-Giedion syndrome: A further cause of early myoclonic encephalopathy and vacuolating myelinopathy. *Brain Dev*. 2012;34:151-5.

8) Kakisaka Y, Iwasaki M, Haginoya K, Kanno A, Tsuchiya S, Nakasato N. Somatotopic distribution of peri-rolandic spikes may predict prognosis in pediatric-onset epilepsy with sensorimotor seizures. *Clin Neurophysiol*. 2011 122:869-73.

9) Hino-Fukuyo N, Haginoya K, Uematsu M, Tsuchiya S. A female case of West syndrome with remission of spasms following multiple cerebral hemorrhages. *Brain Dev* 2011 33:678-82.

10) Sato I, Onuma A, Goto N, Sakai F, Fujiwara I, Uematsu M, Osaka H, Okahashi S, Nonaka I, Tanaka S, Haginoya K. A case with central and peripheral hypomyelination with hypogonadotropic hypogonadism and hypodontia (4H syndrome) plus cataract. *J Neurol Sci*. 2011;300:179-81.

## 2. 学会発表

1) 萩野谷和裕、小林悟、涌澤圭介、田中総一郎、大沼晃. 先天性片麻痺におけるてんかんについて. 第45回日本てんかん学会, 新潟、2011.10.6-7.

2) 小林悟、鈴木智、涌澤圭介、田中総一郎、萩野谷和裕、高柳勝. 乳児期に発症した皮質性ミオクローヌスを伴うてんかんの1例. 第45回日本てんかん学会、新潟、2011.10.6-7.

3) 萩野谷和裕. DMDへのステロイド治療のガイドライン:エキスパートオピニオン. 第53回日本小児神経学会、横浜、2011.5.26-28.

4) 萩野谷和裕. Functional neuroimaging of early infantile epileptic encephalopathy 第15回乳児けいれん研究会、東京、2012.2.18.

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
 分担研究報告書

成人ミトコンドリア病の患者支援を考える  
 -大阪遺伝性神経難病相談会を通じて-

研究協力者	金田大太	大阪赤十字病院神経内科	副部長
協力者	戸田達史	神戸大学大学院医学研究科神経内科学／分子脳科学	教授
	澤田甚一	大阪難病医療情報センター	部長
	狭間敬憲	大阪府立急性期・総合医療センター神経内科	部長

研究要旨 大阪神経難病医療・療養相談会に、実際に上がった成人ミトコンドリア病の相談内容から現状と問題点を報告した。特定疾患認定後、20歳以降の MELAS 患者が、脳卒中様発作を起こした後の生活支援に関して享受できる利益は大きいと考えられた。反面、専門の異なる臨床症状に対する個別支援は神経内科専門医のみでは不十分と考えられた。初回診断施設から転医を経ている症例が多く、遺伝子情報があいまいとなっている点が、遺伝相談・長期支援に当たり大きな問題であった。有効なレジストリ構築が望まれる

A. 研究目的

本研究は、成人ミトコンドリア病の相談内容から現状と問題点を探るものである。

B. 研究方法

研究対象は、大阪神経難病医療・療養相談会に、実際に上がった。

当会は大阪府の事業として、神経内科医、臨床遺伝専門医、社会福祉士、保健師が一堂に会して、1家族の相談者に対応する、全国でも類を見ない相談会である。特定疾患の申請用紙は閲覧不可能で、主治医からの情報提供を元に相談を行う。2011.12.11 に開催された第9回ではミトコンドリア病も対象とされた。

倫理面の配慮については、所定の同意書に本人、家族からの署名をして頂いた情報提供書のみを対象とした。

C. 研究結果

全相談患者数 29 人中、8 名がミトコンドリア病

であった。病型は MELAS2 名、PEO2 名、LEBER 病 1 名、MNGIE1 名、pure myopathy1 名、難聴＋糖尿病 1 名であった。3 名は具体的な遺伝子異常の情報提供はなく、臨床所見により診断されていた。筋生検は 4 名に施行されていたが、MELAS においても白血球 mtDNA3243 変異で診断されていた。2 家系は兄弟全員が白血球 mtDNA 検査を勧められ施行されており、遺伝相談ニーズを有していた。反面、8 名全員、健常な両親が主介護者であり、全例母系遺伝として説明を受けていた。患者家族が 1 単位として一同に会する形での開催でもあり、母親自身の悩みを相談会で打ち明ける事例はなかった。さらには、核遺伝子異常の可能性が除外できない症例も稀ならず、正確な遺伝カウンセリングに対する大きな支障と考えられた。その他の遺伝相談に関する質問としては、出生前診断の現状と未来に関する質問がなされており、興味を持たれていることを裏付けている。

本人からの遺伝リスクや、姉がてんかん持ちで知的低下があるが有病リスクは？といった、精査



なく遺伝形式・病型いずれからも確実な回答が不可能な質問も多く、診断に関する中核施設での総合的な観察と対処の必要性を示唆した。

注目される結果として、病型によらず、8人中6人が頭痛を訴えており、片頭痛発作に関する質問と予防、頭痛時の対応に関する質問がなされていた。脳卒中発作を有した症例以外でも片頭痛発作を持ち、頭痛時の不安と対処法の質問を訴えた。

成人型 MELAS では、片頭痛重責のような状態が遷延した後に大発作につながる例が多く、緊密な観察・対処が必要となるケースが多いのに対し、その他の病型については overlap の可能性なのか、現状判定困難である。また現在片頭痛の予防としてバルプロ酸が保険適応であるが、基本的には使用しないのが原則と考えられ、これらの周知もあわせ、課題と考えられた。

同様に、実際に相談に当たった担当医からも、サプリメントやピルビン酸・アルギニンの使用に関する見解をどう回答すべきか、またリハビリの是非・方法に関する質問がほぼ全例でなされており、その回答を求められていた。これら、ミトコンドリア病全般に関するコンセンサスも重要であることが改めて示唆された。

その他の諸問題としては、8名中、診断施設でフォロー継続されていたのは2名のみであり、すでに診断後相当長期の経過を経た症例群においては、高齢の両親不在の際の心配や、今後在宅医への紹介を勧められていることへの不安が多く認められた。

これらは、通常的神経難病と共通する質問事項ではあるが、特に人工呼吸器装着後、遠距離通院が不可能な症例が散見されるなど、地域を中心とした難病支援の必要性がミトコンドリア病においてもあることを示唆した。

#### D. 考察

成人 MELAS がに必要と思われる社会資源には、障害者自立支援の制度利用と、医療保険で可能なものなどが混在する。

MELAS の脳卒中発作後は、視野障害や失語など、生活障害が重篤である一方で、肢体機能障害認定が認められるほど重篤な運動障害は軽度であることも多く、(麻痺の程度が軽い)、肢体不自由に関するニーズよりは、高次脳機能リハビリのニーズが高い。リハビリ病院での ST/OT などの通院リハビリテーションは、急性発作後 6 ヶ月がめどで打ち切られる例が多く、また、言語機能喪失の障害認定も半年経ってからではないと取得困難な上、自立支援法で障害者自立支援センターなどを利用するにしても、その後の高次機能専門のリハビリ施設は稀少であり、かつ地域差が大きい問題があった。

一方、訪問リハビリでの失語・失行に対する生活リハビリに関しては、脳梗塞後遺症などに対する訪問看護によって普及してきており、その利用が望ましいと考えられる。これまでは、介護保険は 40 歳以上でしか用いることができない背景もあり、20 代に多い成人発症 MELAS 患者に関しては、難病認定による恩恵が大きいと考えられた。

高次脳機能障害の他に、精神障害を合併する際等には、精神自立支援の利用は重要であったが、神経内科医単独での申請が出来ない問題がある。また、精神科との協調で問題となるのが、ミトコンドリア病としての診断・観察施設が県境をまたぐことも稀でないため、精神科救急としての対応が必要となる場合に諸問題を有している。

これら、地域をまたがる対応に対して、主治医とリハビリ施設、中核病院と地域精神科医療機関をつなぐ役割との協調などに対し、難病情報センター・難病コーディネーター・地域保健師への期待は大きい。

一方、PEO を代表とする、筋症状主体の症例については、介護保険の適応外ではあっても、すでに障害肢体不自由障害を取得し、自立支援でヘルパー、ショートステイなどをすでに利用している症例が多かった。よって今回の認定で利用できる社会資源に大きな変化がない症例は多かったものの、どのような社会資源が利用できるか、診断直

後の時期から難病支援センターが介入して頂けることは非常に有用と思われた。

他の病型においては、眼科のみで通院を続けている Leber 病や、糖尿+難聴の病型のみで内科にて診断を受けている例では、神経内科医の常駐がない施設もあった。各科が連携して診療に当たる必要があるミトコンドリア病であるが、病型ならば、臨床症状によって対処や受けることが出来るサービスが全く異なることも改めて浮き上がった。

情報提供源として難病情報センターが機能すれば、ミトコンドリア病に通常接する機会が少ない診断科が中心となる療養者に対して福音と考えられる。地域における人工内耳の事情など、様々なコーディネートの模索は行われるべき、と考えられた。

申し込みのあった事例は全て両親健常で、相談室での遺伝相談ニーズが少なかった。また、キャリアであると考えられる母親は正常で、病気のことを理解し、多くの質問を持ってきておられ、対処法を考えていた。

母系遺伝では、原因が自分にある、という自責感を持ちながら、それを、家族全体の相談会では持ち出せないことが推察され、母親の遺伝カウンセリングのニーズは潜在化してしまう傾向を示唆した。ミトコンドリア病の遺伝相談を行う上で重要な課題と考えられる。

今回最も重要と考えられたのは、診断後、長い期間を経て転医を経ると、遺伝子情報があいまいとなっている実情が改めて浮き上がった点であると考えられる。

遺伝子が不明なまま RRF の存在のみで母系遺伝として説明を受けている例など、mtDNA 側か (特に全周シーケンスデータの再提供) 診断直後は遺伝形式不明と説明を受けた場合ですら、その後の転医を経て、家族側の情報収集の中で母系遺伝としてすりかわっていると考えられる例も稀なら無い。主治医が変更した際や、診断施設でフォロー継続できない場合の対応は遺

伝相談を行うに当たり必須と考えられた。

今後レジストリの構築に関しては、場合により、再検査の呼びかけなども行った上で、患者自身が自分の遺伝情報を確保し続けることが出来る体制が、その後の遺伝相談体制をより正確にしておくための大きな課題と考えられる。

## E. 結論

このように集まる FAQ に関して、難病ホームページからの情報提供は有用と考えられる。臨床症状からの介護支援・社会資源の提案が有用であり、難病コーディネーターが中心となる全国のミトコンドリア病の支援のあり方を検討するに当たっては、全国の難病相談センターから、実際の事例を集めて、還元していくことが重要と考えられた。

## F. 健康危険情報

特記事項なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

なし

## F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

常染色体劣性進行性外眼筋麻痺のミトコンドリア遺伝子欠失と *RRM2B* 遺伝子異常

分担研究者 佐野 輝 鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 精神機能病学分野教授

研究要旨 ミトコンドリア病の中には神経筋症状に加えて統合失調症やうつ病など<sup>1)</sup>の精神症状を呈する例がある。我々はミトコンドリア病にみられる神経筋症状に加え、統合失調症、認知症、うつなどの精神症状を呈し、ミトコンドリア DNA (mtDNA) の多重欠失を有する 3 症例を経験した。エクソーム解析によりミトコンドリア遺伝子変異をもたらす核性遺伝子である *RRM2B* 遺伝子上に疾患変異の可能性が高い変異を同定した。統合失調症やうつ病などの病因のひとつとしてミトコンドリア機能異常が関与する可能性があり、常染色体劣性遺伝性の遺伝子変異解析にはエクソーム解析が有用であることが示された

A. 研究目的

ミトコンドリア病の中には神経筋症状に加えて統合失調症やうつ病など<sup>1)</sup>の精神症状を呈する例がある。我々はミトコンドリア病にみられる神経筋症状に加え、統合失調症、認知症、うつなどの精神症状を呈し、ミトコンドリア DNA (mtDNA) の多重欠失を有する 3 症例を経験し、これら症例に対して病因遺伝子変異同定のためにエクソーム解析を含む遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

症例 1 は 69 歳男性。両親はいとこ婚。統合失調症の診断で精神科病院に入退院を繰り返し、経過中認知症を呈し、CK 値上昇を伴う筋力低下を認めた。筋生検で筋線維の大小不同、RRFs や COX 部分欠損を認めた。

症例 2 は 76 歳男性。74 歳時にうつ病で精神科病院に入院した。血清乳酸・ピルビン酸値の上昇を伴う眼瞼下垂や外眼筋麻痺を認めた。筋生検で筋線維の大小不同を認めたが、RRFs は認めなかった。

症例 3 は 43 歳男性。両親はいとこ婚。16 歳か

ら進行性の難聴を認めた。抑うつ気分や心氣的訴え<sup>2)</sup>が<sup>3)</sup>強まり、血清乳酸・ピルビン酸高値となり、眼瞼下垂、外眼筋麻痺、筋力低下、網膜色素変性、両側性腺萎縮など<sup>4)</sup>を呈した。筋生検で<sup>5)</sup>筋線維の大小不同、RRFs や COX 部分欠損を認めた。

書面によるインフォームドコンセントを得、白血球および骨格筋から DNA を抽出し、mtDNA の配列解析とサザンブロットを行った。また mtDNA 変異をもたらす核性遺伝子群 (*POLG*, *POLG2*, *C10orf2*, *SLC25A4*, *ECGF1*, *OPA1*, *WFS1*) の変異検索にサンガー法による配列解析と real-time PCR 法による CNV 解析を行った。両親がいとこ婚の症例にはエクソーム解析を追加した。

(倫理面への配慮)

本研究は鹿児島大学大学院医歯学総合研究科遺伝子研究倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

サンガー法による配列解析や CNV 解析では病因変異は認めなかったが、サザンブロットでは全例に筋において mtDNA の多重欠失を認めており、精

神疾患の中にはミトコンドリア異常が病因となっているものが存在する可能性が示された。エクソーム解析では症例3において *RRM2B* 遺伝子上にホモ接合性の新規点変異を同定した。

#### D. 考察

筋に mtDNA 多重欠失を有していたことから本症例における統合失調症、認知症、うつ症状はミトコンドリア機能異常と深く関わるものが推察される。ミトコンドリア遺伝子は加齢にともない多重欠失が増加することが知られている。症例2については高齢で CPEO に特徴的な筋病理は呈しておらず加齢性変化によるものとの鑑別は困難であるが、臨床的にはうつ症状に連動した乳酸ピルビン酸の上昇に伴う眼瞼下垂や眼筋麻痺を呈していた。*RRM2B* 遺伝子は遺伝性 CPEO の責任遺伝子であり、症例3に認められた変異は病因変異の可能性が高く、常染色体劣性遺伝性疾患の病因変異同定にエクソーム解析が有用であることが示された。

#### E. 結論

本研究の結果から、様々な精神症状がミトコンドリア機能異常と関連する可能性が示唆された。統合失調症やうつ病などの病因のひとつとしてミトコンドリア機能異常が関与する可能性がある。また、常染色体劣性遺伝性の遺伝子変異解析にはエクソーム解析が有用である。

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1) Takata A, Kato M, Nakamura M, Yoshikawa T, Kanba S, Sano A, Kato T: Exome sequencing identifies a novel missense variant in *RRM2B* associated with autosomal recessive progressive external ophthalmoplegia. *Genom Biol* 2011, Epub ahead of print

2) Kato M, Nakamura M, Ichiba M et al: Mitochondrial DNA deletion mutations in

patients with neuropsychiatric symptoms. *Neurosci Res* 69: 331-6, 2011.

#### H. 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