

201231032A

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

# ミトコンドリア病の診断と治療に関する調査研究

(H23-難治-一般-016)

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 後 藤 雄 一

国立精神・神経医療研究センター

平成 25 (2013) 年 5 月

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

# ミトコンドリア病の診断と治療に関する調査研究

(H23-難治-一般-016)

## 平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 後 藤 雄 一

国立精神・神経医療研究センター

平成 25 (2013) 年 5 月

# 目 次

## I. 総括研究報告

- ミトコンドリア病の診断と治療に関する調査研究 ----- 1  
研究代表者 後藤 雄一

## II. 分担研究報告（研究協力者報告も含む）

1. ミトコンドリア脳筋症における脳障害機序に関する研究 ----- 9  
飯塚 高浩 北里大学医学部神経内科学
2. 水素水と水素吸蔵マグネシウム投与の効果 ----- 11  
太田 成男 日本医科大学大学院医学研究科
3. ミトコンドリア病に対する系統的病因探索システムについての研究と  
難治性ミトコンドリア病患者 2 例へのピルビン酸ナトリウムによる  
治療経験 -----15  
大竹 明 埼玉医科大学医学部小児科
4. ミトコンドリア病の病態に関与する新規因子の検索 ----- 21  
北風 政史 国立循環器病研究センター
5. 希少疾病・ミトコンドリア病に合併する高乳酸血症に対する  
治療薬に関する研究 ----- 23  
古賀 靖敏 久留米大学大学院医学研究科小児科学
6. ミトコンドリア病に対する生殖補助医療の現状と選択肢への考察 ----- 31  
末岡 浩 慶應義塾大学医学部産婦人科
7. MELAS 変異を有するサイブリッドにおけるメタボソーム解析 ----- 35  
田中 雅嗣 東京都健康長寿医療センター研究所
8.  $^{62}\text{Cu}$ -ATSM PET による過還元状態（酸化ストレス）の生体機能  
イメージングの基礎的研究 ----- 37  
米田 誠 福井大学医学部病態制御医学内科学 2

9. ミトコンドリア病における耳鼻咽喉科的研究	-----	39
山嵜 達也 東京大学医学部附属病院耳鼻咽喉科		
10. 意識障害を繰り返す母子例におけるミトコンドリア tRNA <sup>Val</sup> 遺伝子上の heteroplasmic m.1624C>T 変異に関する研究	-----	43
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		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	49
IV. 主な刊行物・別刷	-----	57
V. 新聞記事、遺伝カウンセリングセミナー、市民公開講座	-----	173
VI. 研究班員名簿-	-----	179

# I . 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）

総括研究報告書

ミトコンドリア病の診断と治療に関する調査研究

研究代表者 後藤 雄一 国立精神・神経医療研究センター神経研究所

研究要旨 ミトコンドリア病の診断と治療に関する本研究班の活動の2年目にあたる今年度は、ミトコンドリア病の診断に必要な検査体制の整備、重症度スケール案の策定、全国的な相談を受ける体制や情報提供体制の整備、疾患 iPS 細胞を用いた研究の支援、医師主導型治験への協力を行った。ミトコンドリア病の診断プロセスの標準化が未決であり、疫学調査と患者レジストリーの開始が遅れており、平成 25 年度には着実に行う。一方、「ミトコンドリア病ハンドブック」などを含め、医療従事者、一般市民に対する病気に関する情報提供は着実に進めた。ピルビン酸ナトリウム、タウリン、EPI-743 などの新たな薬剤による臨床試験の準備が着実に進められている。

分担研究者

- (1) 飯塚高浩 北里大学医学部神経内科
- (2) 太田成男 日本医科大学大学院医学研究科
- (3) 大竹 明 埼玉医科大学小児科
- (4) 北風政史 国立循環器病研究センター病院
- (5) 古賀靖敏 久留米大学小児科
- (6) 小牧宏文 国立精神・神経医療研究センター
- (7) 作田亮一 獨協医科大学越谷病院小児科
- (8) 末岡 浩 慶應義塾大学産婦人科
- (9) 須藤 章 北海道大学医学部小児科
- (10) 田中雅嗣 東京都健康長寿医療センター研究所
- (11) 中川正法 京都府立医科大学神経内科
- (12) 中田和人 筑波大学大学院生命環境科学研究科
- (13) 萩野谷和裕 東北大学小児科
- (14) 山嵜達也 東京大学医学部耳鼻咽喉科
- (15) 米田 誠 福井大学医学部内科学2

研究協力者

- (1) 大野耕策 鳥取大学医学部脳神経小児科
- (2) 岡崎康司 埼玉医科大学・ゲム医学研究センター
- (3) 金田大太 大阪赤十字病院神経内科
- (4) 佐藤有希子 国立精神・神経医療研究センター
- (5) 佐野 輝 鹿児島大学医学部精神神経科
- (6) 中野和俊 東京女子医科大学病院小児科
- (7) 西野一三 国立精神・神経医療研究センター

- (8) 埜中征哉 国立精神・神経医療研究センター
- (9) 松岡太郎 市立豊中病院小児科
- (10) 村山 圭 千葉県こども病院代謝科

A. 目的

ミトコンドリアはすべての細胞内において、エネルギーを産生する小器官である。ミトコンドリアに異常があると、大量のエネルギーを必要とする神経・筋、循環器、代謝系、腎泌尿器系、血液系、視覚系、内分泌系、消化器系などに障害が起こる。なかでも、中枢神経や筋の症状を主体とするミトコンドリア病が代表的な疾患である。

国内においてミトコンドリア病の患者数の厳密な実態調査は行われていない。その理由は患者が多く、診療科に分散していること、診断基準が明確ではなかったことなどが挙げられるが、そのもっとも大きな要因は確定診断に必要な病理、生化学、遺伝子検査の専門性が高いことにある。平成 21 年 10 月にミトコンドリア病が特定疾患に認定され、認定基準が制定された。これを機にミトコンドリア病の認知度が上がり、その診断・治療研究の推進が望まれている。また英国では、ミトコンドリア病の一部の病型で、核移植を用いた生殖補助医療の適応が本格的

に試みられようとしている (Nature 465: 82-85, 2010)。そのような世界的な研究や医療の流れに遅れないような本邦での調査研究が必要である。

本研究班では、ミトコンドリア病の検査手段（病理検査、生化学検査、DNA 検査）の標準化と集約的診断体制の確立、本疾患に関する情報提供手段の整備等を行い、臨床病型、重症度、合併症、主な治療の内容などの全国調査を行う。また、多臓器の症状を有するミトコンドリア病の研究をさらに推進させるために、疾患 iPS 細胞事業と連携して、研究利用できるミトコンドリア病 iPS 細胞の樹立と公共バンクへの提供を支援する。また、患者レジストリーを進め、具体的な治療に関する臨床研究や治験を進めることを目的とする。

## B. 方法

### 1) 検査の標準化

ミトコンドリア病の診断には、多臓器に渡る臨床症状の把握と 3 種類の検査方法（病理検査、生化学検査、遺伝子検査）が必要で、それらの標準化と集約的な診断体制を構築する準備をした。

#### ① 筋病理検査の標準化

国立精神・神経医療研究センターの西野、後藤を中心に標準化を行っている。骨格筋以外の罹患臓器（心、腎、肝など）の病理所見についても検討する。

#### ② 生化学検査の標準化

国立精神・神経医療研究センターの後藤、埼玉医科大学の大竹で標準化を行う。

#### ③ 遺伝子検査の標準化

国立精神・神経医療研究センターの後藤を中心として、mtDNA 検査の標準化を行う。核 DNA 上の原因遺伝子について、後藤及び大竹が適切な診断手順に組みこめるようにする。

### 2) 診断基準、重症度スケールの作成

ミトコンドリア病には、多くの臨床病型が知られている。ミトコンドリア病をよく診ているのは小児科医と神経内科医であるが、ミトコンドリア脳筋症に比較的好く合併する臓器症状を診ている

関連診療科（循環器科：北風、耳鼻科：山唄、精神神経科：佐野、など）の専門医が参加し、臨床的に有用な重症度スケールを作成する。

### 3) 情報提供体制の整備

患者・家族や本疾患を診ている医療従事者に対して、本疾患の医療情報をホームページ等で提供する。また保健所等でのセミナーも積極的に行う。全国を 7 つの地域に分け、それぞれの地域毎にミトコンドリア病をよく知る小児科、神経内科の専門医が担当し、医療情報の提供や実態調査の援助をする（須藤、萩野谷、作田、飯塚、米田、中川、大野、古賀）。

### 4) 疾患 iPS 細胞を活用した研究

平成 24 年度から開始された再生医療の実現化プロジェクト「疾患特異的 iPS 細胞を活用した難病研究」の対象疾患として、ミトコンドリア病が採択されたことをうけて、iPS 細胞の樹立援助（患者由来細胞の拠点への供給）や樹立された iPS 細胞を用いた研究を行う（後藤、大竹）。

### 5) 治療に結びつく薬剤の検討

臨床研究や治験に結びつく薬物に関する研究（太田、古賀、田中）、を行い、具体的な治療に関する臨床試験を実施、支援する。

### 6) ミトコンドリア病に関する生殖補助医療

ミトコンドリア病において、着床前診断を含む出生前診断や核移植治療についての情報収集や研究を行う（中田、末岡）。

## C. 結果と考察

### 1) 検査の標準化

ミトコンドリア病の確定診断には、病理検査、生化学検査、遺伝子検査を行い、総合的な評価が必要である。

#### ① 病理検査

骨格筋の病理検査は国立精神・神経医療研究センター（以下 NCNP）が中心となって実施しており、今後も継続する。

#### ② 生化学検査

検体は線維芽細胞もしくは各臓器を用いている。NCNP では、新たに呼吸鎖酵素複合体 V（ATP 合

成酵素の逆反応)の活性を測定する系を立ち上げた。

<後藤、大竹、村山>

### ③ 遺伝子検査

(拠点形成、検査会社の関与、集約化について)

本疾患は、遺伝型と表現型が一對一に対応しない、一部の検査をして変異が同定されない場合には有用な情報が得られない、という特徴があるため、可能であれば集約すべきである。

ミトコンドリア DNA の全周シーケンスを行える施設としてNCNPなどのいくつかの施設、検査会社があるが、その役割分担を費用の面を含めて検討し、検査依頼に際しての基準、検査体制の整備、啓発が必要である。

また分担研究者の大竹らは、埼玉医科大学を中心に、千葉こども病院、自治医科大学、東京都健康長寿医療センターと協力して、特に乳児期発症の重症ミトコンドリア病に関して、酵素診断から網羅的な遺伝子検査にいたる系統的病因検索システムを構築した。次世代シーケンサーを用いたエキソーム解析を104人の症例に行い、27例に病因となる遺伝子変異を同定した。<大竹>

今年度の目標であった、診断フローチャートは完成しておらず、平成25年度に公開する予定とした。

### 2) 診断基準、重症度スケールの作成

2009年に制定した「ミトコンドリア病の認定基準」には、症状としての糖尿病と難聴の項目を入れていない。しかし、糖尿病単独の患者が認定されないというのは問題であり、糖尿病を症状の一項目に入れることについては異論がない。しかし、認定基準にそのまま入れると患者数が優に5万人を超える可能性もあり、重症度で線引きをするという方法を採用する必要がある。

認定基準とは別に、ミトコンドリア病の日本版「診断基準」を定めることは今後の臨床研究や患者レジストリーを行うために必要である。その方策として、現在の認定基準をもとに糖尿病や難聴などの不足項目を追加する方法で診断基準を策定する案を検討した。ただし、一部の症状については、重症度を加味

した基準にすることが必要になる。

診断基準と平行して、重症度スケールが必要である。すでに、2008年の厚生労働科学研究費(古賀靖班長)において作成されたものを基盤にほぼ完成した。

### 3) 情報提供体制の整備

平成24年6月に、難病情報センターHPにアップする情報を更新した。

医師が患者への説明を行う際に使用する「ミトコンドリア病ハンドブック」を作成した。冊子体を作成するとともに、全国遺伝子医療部門連絡会議に参加している施設を中心に幅広く医療機関に配布し、難病情報センターHPからダウンロードできるように配慮した。

([http://www.nanbyou.or.jp/upload\\_files/mt\\_handbook.pdf](http://www.nanbyou.or.jp/upload_files/mt_handbook.pdf))

ミトコンドリア病の知識とその遺伝に関する啓発を目的として、平成24年6月30日、7月1日に「ミトコンドリア病の遺伝カウンセリングセミナー」を国立精神・神経医療研究センターで実施し、医師13名(うち臨床遺伝専門医3名)、認定遺伝カウンセラー6名、学生(医療資格取得者を含む)8名、看護師2名の参加を得た。

また、一般市民向けには、新聞での啓発(夕刊フジ:4.26,2012、読売新聞:11.20,2012)、記者会見(9.14,2012)を行ってミトコンドリア病の情報提供、研究班が主催する市民公開セミナー(2.9,2013)を実施した。

当初予定していた全国を7つの地域に分け、それぞれの地域毎にミトコンドリア病をよく知る小児科、神経内科の専門医が担当し、医療情報の提供や実態調査の援助をする計画は、まだ実現していない。この方式は医療イノベーションで計画されている都道府県単位の「新・難病医療拠点病院及び難病医療地域機関病院構想」を先取りした医療体制整備と考えられ、平成25年度の目標とする。

同様に、実態調査、患者レジストリーについては、平成25年度に実施するように計画を変更した。患者



レジストリーは、国立精神・神経医療研究センタートランスレーショナル・メディカルセンターが実施している筋ジストロフィーの登録事業を敷衍する形態での実施を計画している。

#### 4) 疾患 iPS 細胞を活用した研究

2012 年度のノーベル医学生理学賞を受賞した山中伸也教授の iPS 細胞を活用した難病研究が始動した。ミトコンドリア病は、循環器系疾患及び筋骨格系疾患の 2 つの領域に関与し、患者由来細胞の提供を行って疾患 iPS 細胞を樹立する事業に参画した。今後は、本研究班でも iPS 細胞を活用した研究を推進させる予定である。

#### 5) 治療に結びつく薬剤の検討

分担研究者の太田らが還元剤として水素水をミトコンドリア病の治療に用いようとする研究や、分担研究者の田中、古賀、大竹らがピルビン酸ナトリウムを治療に用いようとする研究が進んでいる。また、MEKLAS に対するタウリンの大量治療試験を行う研究班（主任研究者：川崎医科大学神経内科砂田芳秀教授）や国立精神・神経医療研究センター病院の後藤は MELAS に対する EPI-743 の臨床研究を行っており、これらの臨床試験、臨床研究がスムーズに進むように、研究班では必要に応じて調整を行っている。

#### 6) ミトコンドリア病に関する生殖補助医療

ミトコンドリア病の臨床のなかで、生殖補助医療をどのように応用するかも重要な課題である。今年度は、分担研究者の末岡らが Leigh 脳症の 2 例で着床前診断を試みたことが報告された。しかし、実施した一例で移植可能胚が得られず、胚移植には至らなかったことが報告された。〈末岡〉

英国では核移植の是非が問われており、ひとたび英国でこの方法が認可された場合には、技術的に優れた我が国の医師や技師によって水面下で行われる危険がある。この技術については、わが国での議論を早急に始める必要がある。

#### D. 結論

今年度は、ミトコンドリア病班として研究班が設立されて 2 年めであった。昨年と比較し、ミトコンドリア病に関する、診断、治療、予防などに関する研究が格段に進んだとは言えないが、新しい薬剤を用いた臨床試験、臨床研究が急速に進み、一方で iPS 細胞を用いた研究への連携など、新たな研究内容の萌芽があり、さらに研究班の活動を多様化させる必要がある。全国レベルの診断体制の整備、診断基準や重症度スケールの作成などを終え、患者レジストリーと具体的な臨床試験の実施などを進めて行くことが次年度の課題である。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表（研究代表者）

##### 1. 著書、総説

1) 後藤雄一. ミトコンドリア病、「希少疾患/難病の診断・治療と製品開発」、(株)技術情報協会、東京、pp. 999-1005、2012

2) 後藤雄一. ミトコンドリア病（ミトコンドリア脳筋症）、「すべての内科医が知っておきたい神経疾患の診かた、考え方とその対応」、羊土社、東京、pp. 282-289、2012

3) 後藤雄一. ミトコンドリア脳筋症. 「疾患・症状別 今日の治療と看護」、南江堂、東京、pp. 771-773、2011

4) 後藤雄一. ミトコンドリア病の治療と最新ケアの情報. 難病と在宅ケア 18:28-30, 2012.

5) 後藤雄一. ミトコンドリア病の解明、生体の科学 63: 440-441, 2012

##### 2. 原著論文

1) Miyake N, Yano S, Sakai C, Hatakeyama H,

Matsushima Y, Shiina M, Watanabe Y, Bartley J, Abdenur JE, Wang RY, Chang R, Tsurusaki Y, Doi H, Nakashima M, Saitsu H, Ogata K, Goto Y, Matsumoto N. Mitochondrial complex III deficiency caused by a homozygous *UQCRC2* mutation presenting with neonatal-onset recurrent metabolic decompensation. *Hum Mut* 34:446-452, 2013

2) Shimazaki H, Takiyama Y, Ishiura H, Sakai C, Matsushima Y, Hatakeyama H, Honda J, Sakoe K, Naoi T, Namekawa M, Fukuda Y, Takahashi Y, Goto J, Tsuji S, Goto Y, Nakano I, and Japan Spastic Paraplegia Research Consortium (JASPAC). A homozygous mutation of *C12orf65* causes spastic paraplegia with optic atrophy and neuropathy (SPG55). *J Med Genet* 49: 777-784, 2012

3) Kim SJ, Kwon M, Ryu MJ, Chung HK, Tadi S, Kim YK, Kim JM, Lee SH, Park JH, Kweon GR, Ryu SW, Jo YS, Lee CH, Hatakeyama H, Goto Y, Yim YH, Chung J, Kong YY, Shong M. CRIF1 is essential for the synthesis and insertion of oxidative phosphorylation polypeptides in the mammalian mitochondrial membrane. *Cell Metabolism* 16: 274-283, 2012

4) Sangatsuda Y, Nakamura M, Tomiyasu A, Deguchi A, Toyota Y, Goto Y, Nishino I, Ueno A, Sano A. Heteroplasmic m.1624C>T mutation of the mitochondrial tRNA-Val gene in a proband and his mother with repeated consciousness disturbances. *Mitochondrion* 12: 617-622, 2012

5) Furukawa R, Yamada Y, Matsushima Y, Goto Y, Harashima H. The manner in which DNA is packed with TFAM has an impact on transcription activation and inhibition. *FEBS OpenBio* 2: 145-150, 2012

## 2. 学会発表

### 1. 国際学会

1) Goto Y. Mitochondrial disease. Joint Congress of the 12th International Child Neurology Congress and the 11th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Brisbane, Australia, 5.27-6.1, 2012

2) Goto Y, Mimaki M, Hatakeyama H, Komaki H, Yokoyama M, Arai H, Kirino K, Suzuki T, Nishino I, Nonaka I. Reversible infantile respiratory chain deficiency: a clinical and molecular study. The 11th Asian Oceanian Myology Center, Kyoto, Japan, 6.7, 2012

3) Sato Y, Goto Y. Furnishing appropriate information on mitochondrial disease to patients and their families. 62nd Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, San Francisco, USA, 11.7, 2012

### 2. 国内学会

1) 佐藤有希子, 後藤雄一: ミトコンドリア病に関する情報ツール作成の試み. 第54回日本小児神経学会総会, 札幌, 5.18, 2012

2) 佐藤有希子, 後藤雄一: ミトコンドリア病に関する情報提供の充実に向けた取り組み. 第36回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 松本, 6.9, 2012

3) 後藤雄一. ミトコンドリアと老化. ART FORUM 2012, 大阪, 8.30, 2012

4) 末岡浩, 佐藤卓, 水口雄貴, 泉陽子, 高橋香織, 佐藤健二, 中林章, 吉村泰典, 後藤雄一. ミトコンドリア遺伝病における着床前遺伝子診断の不効率例に対する新たな対策の必要性. 第57回日本人類遺伝学会, 東京, 10.26, 2012

5) 後藤雄一. ヒトミトコンドリアの特性-ヒト疾患の病態基盤. 第12回日本ミトコンドリア学会, 筑波, 12. 21, 2012

### 3. その他

#### 新聞記事等

1. この時季気になるこの症状-ミトコンドリア病. 夕刊フジ, 4. 26, 2012
2. 「ミトコンドリア病」を見逃すな! 多様な症状、あらゆる診療科に関連. キャリアブレイン・ニュース (ネット) 、10. 31, 2012
3. くらしナビ Lifestyle-ミトコンドリア病. 毎日新聞、朝刊、11. 20, 2012

#### 記者発表会

1. 『あらゆる診療科に潜む“ミトコンドリア病”』～ミトコンドリアの不思議と“かくれミトコンドリア病”～ NCNP記者発表会、東京ステーションコンファレンス、9. 14, 2012

#### 市民公開講座

1. ミトコンドリア病は身近な病気です! -ミトコンドリアの不思議と多様なミトコンドリア病- 東京国際フォーラム、2. 9, 2012

#### H. 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

Ⅱ. 分担研究報告書  
(研究協力者報告も含む)

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）  
分担研究報告書

ミトコンドリア脳筋症における脳障害機序に関する研究

分担研究者 飯塚 高浩 北里大学医学部神経内科学講師

研究要旨 ATP1A2 遺伝子変異を有する FHM3 例から得られた計 11 回の重積発作の脳循環代謝を検討した結果、MELAS の脳卒中様発作と類似した脳血流増加が高頻度に認められた。しかし前兆出現 19 時間以内には脳血流が低下するが、発症 18 時間以降には血流増加に転ずる現象が確認された。

#### A. 研究目的

MELAS における脳卒中様発作 (SE) の病態を明らかにする目的で、SE と病態が類似している遷延性前兆を有する片麻痺性片頭痛重積発作 (HMPA) の脳循環代謝を明らかにし、SE との病態の違いを明らかにする。

#### B. 研究方法

北里大学神経内科に通院中の ATP1A2 遺伝子変異が証明されている家族性片麻痺性片頭痛 (FHM) 患者 3 例を対象に、発作急性期の病態を検討した。

##### (倫理面への配慮)

本研究は、通常の診療範囲内で得られた検査記録を利用する観察研究である。各検査は文書で同意取得後に実施し、臨床情報を臨床研究で使用することにも同意を得ている。尚、遺伝子検査は、当施設と東京大学神経内科の IRB で承認を得て、文書で同意取得後に実施した。

#### C. 研究結果

前兆出現 19 時間以内には rCBF は低下するが、18 時間以降は血流増加に転じ、血流増加は 1〜2 週間持続した (2 相性変化を示した)。一部の発作では脳表血管も拡張していた。しかし、焦点性周期性てんかん型放電、梗塞様病変、MRA 上乳酸上昇を認めることはなく、

すべて可逆性変化であった。

#### D. 考察

FHM における前兆の発症機序として皮質拡張性抑制 (CSD) が考えられている。MELAS の SE においても CSD が関与するという仮説も提唱されている。HMPA、SE とともに、発作急性期には責任病巣の rCBF は増加し、脳表血管も拡張していた。意識障害、片麻痺、失語、頭痛など、両発作に共通する神経徴候を認めるが、HMPA では梗塞様病変やてんかん型放電は認めなかった。一方、SE ではてんかん型放電を高率に伴い、血管支配域を超えて浮腫性病巣が周辺皮質に進展し、亜急性期には層状皮質壊が高率に出現していた。SE 急性期には、neuron の酸化的磷酸化は低下しているが、astrocyte の嫌氣的解糖は亢進しているという neuron-astrocyte uncoupling が生じていることを我々は報告した。HMPA においても両者の機能に解離が生じていると推測されるが、FHM では neuron の酸化的磷酸化が保たれている点が大きな病態の違いであると思われる。

#### E. 結論

SE と HMPA には共通な点が多く見られるが、MELAS では、局所エネルギーの需要の急速な増大に見合った ATP が十分に確保されないため、エネルギー不均衡状態が生じる。その神経の興奮状態が持続する病態である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 飯塚高浩 分担「MELAS」: 必携脳卒中ハンドブック改訂第2版(田中耕太郎、高嶋修太郎編集)、診断と治療社、2011、134-137頁、2011年6月発刊。

2) 飯塚高浩 分担「脳卒中様発作を伴うミトコンドリア脳筋症(MELAS)」: ミトコンドリア病の up to date、Clinical Neuroscience、中外医学社、2012;30(9):1020-1026、2012年9月1日発刊。

3) Iizuka T, Takahashi Y, Sato M, Yonekura J, Miyakawa S, Endo M, Hamada J, Kan S, Mochizuki H, Momose Y, Tsuji S, Sakai F. Neurovascular changes in prolonged migraine aura in FHM with a novel ATP1A2 gene mutation. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2012;83:205-212.

4) 日の治療指針2013年版(山口哲ほか編集). 医学書院、東京、2013;837-838、2013年1月10日発行。

2) 学会発表

1) Iizuka T, Hamada J, Sakai F. Pathophysiology of stroke-like episodes in MELAS: A possible role of neuron-astrocyte uncoupling in cellular damage during synaptic activation under primary oxidative phosphorylation defect The 64<sup>th</sup> Annual Meeting of American Academy of Neurology. 2012.04.23, 24 (New Orleans)

2) Iizuka T, Kasakura S, Kaneko J, Hamada J, Nishiyama K, Sakai F. Biphasic neurovascular changes in prolonged migraine aura in FHM2 (Invited lecture). The Fourth Asian Regional Conference for Headache (ARCH). 2012.10.28 (Taipei)

3) Iizuka T, Tominaga N, Kasakura S, Kaneko J, Hamada J, Nishiyama K, Sakai F. Biphasic Neurovascular Changes in Prolonged Migraine Aura in Familial Hemiplegic Migraine Type 2 (FHM2). The 65th Annual Meeting of American Academy of Neurology. 2013.03.21. (San Diego)

H. 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（難治性疾患等克服研究事業）  
 分担研究報告書

水素水と水素吸蔵マグネシウム投与の効果

分担研究者 太田 成男 日本医科大学大学院医学研究科教授

**研究要旨** 水素分子(H<sub>2</sub>)は、生体内で抗酸化作用・抗炎症作用とエネルギー代謝促進を示す。予備的な臨床試験では、H<sub>2</sub>を水に溶かした水素水がミトコンドリア病の病態を改善したことが報告されている。パーキンソン病患者への有効性も示された。患者の負担を少なくするために、水素の摂取法を検討する。水素吸蔵マグネシウム(MgH<sub>2</sub>)を経口投与すると体内でH<sub>2</sub>が発生する。そこで、マウスを用いて、MgH<sub>2</sub>経口投与による遺伝子発現変化を調べ、MgH<sub>2</sub>経口投与の有効性を示した。水素水とMgH<sub>2</sub>経口投与は、将来的にミトコンドリア病の改善に有効であることが推察された。

A. 研究目的

水素分子(H<sub>2</sub>)に生体内抗酸化作用があることを2007年に私たちが発表して以来、水素に関する医学論文は250報以上にも及ぶ。これらの発表には、水素による抗酸化作用だけでなく、抗炎症作用、抗アレルギー作用、脂質代謝亢進作用など多種多様な効果が含まれる。また、動物実験だけでなく、次第に臨床試験の研究が増え、その効果が報告されている。

すでに、名古屋大学らの大野欽司教授らのグループによる臨床試験により、ミトコンドリア病に対する水素水の効果が報告されている。また、ミトコンドリア異常と病態の関係が指摘されているパーキンソン病患者にも水素水を自由摂取させた。UMINに登録されている臨床試験だけでも、筑波大学（軽度認知症＝水素水の飲用投与）、防衛医科大学（脳梗塞＝水素点滴液の点滴）、慶応義塾大学（心筋梗塞＝水素ガスの吸引）などが進行中である。

水素を投与するには、水素水の飲用投与、水素点滴液の点滴または腹腔注射、水素ガスの吸引などがあるが、いずれにも欠点がある。水素水を飲むことは比較的簡便ではあるが、患者に1リットルもの水を飲ませるのは、苦痛を与えることになる。

分担研究者らは、最も簡便で有効な水素の摂取法を開発することを目的として、水素吸蔵マ

グネシウムに注目した。水素吸蔵マグネシウム(MgH<sub>2</sub>)は水と穏やかに反応して、水素を発生する。そのため、水素吸蔵マグネシウムを経口摂取することによって、負担が少なく大量の水素を摂取可能にする。

ここでは、水素水のパーキンソン病への効果とMgH<sub>2</sub>投与の遺伝子発現制御への効果について報告する。

B. 研究方法

1. パーキンソン病患者への水素水の投与

パーキンソン病患者へ48週間、水素サーバーを患者宅へ配置し、水素水を毎日1リットル飲んでいただいた。プラセボとして、水素が発生しない水素水サーバーを設置した。効果はTotal Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) scoresによって判定した。

2. MgH<sub>2</sub>の投与法の検討

(1) MgH<sub>2</sub>をグリセロールに懸濁して、経口カテーテルにより投与した。

(2) MgH<sub>2</sub>投与の効果

水素水はII型糖尿病モデルマウスdb/dbマウスの血中の中性脂肪を低下させ、いくつかの遺伝子発現が変化することが明らかにされているので、MgH<sub>2</sub>をdb/dbマウスに投与し、遺伝子発現の変化を調べた。

(3) 遺伝子発現変化の測定

MgH<sub>2</sub> を経口投与した後、肝臓を採取し、水素水投与によって発現が変化した遺伝子発現を調べた。

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては、「動物の愛護及び管理に関する法律」で明文化された3Rを遵守し、「日本医科大学動物実験指針」に従って日本医科大学動物実験委員会に「動物実験計画書」を提出し、承認を受けて行う。

C. 研究結果

1. 水素水を自由摂取した患者群 (n=9) では、水素水の飲用によって、48週間後にはUPDRSスコアが改善した。一方、対照群 (n=8) では、48週間後には悪化し、その差は統計的に有意であった。
2. MgH<sub>2</sub> 経口投与によって、PGC-1 $\alpha$  の発現が増加した。PGC-1 $\alpha$  は、ミトコンドリアを増加させる作用などエネルギー代謝を亢進する作用がある。

D. 考察

パーキンソン病は、ミトコンドリアの品質管理の破綻が原因のひとつと考えられており、酸化ストレス亢進によって黒質細胞の障害が原因と考えられるようになってきている。そのため、パーキンソン病に水素が有効であることは、ミトコンドリア病への有効性も強く示唆する。

MgH<sub>2</sub>を経口投与することによって、ミトコンドリアを増加させエネルギー代謝を制御する役割をもつPGC-1 $\alpha$ が増加することはミトコンドリア病に対しても、MgH<sub>2</sub>の経口投与が有効であることを示唆している。水素を摂取するためには、MgH<sub>2</sub>を経口投与することが有効であると考えられた。

E. 結論

ミトコンドリア病の病態改善に、水素水ならびにMgH<sub>2</sub>の経口投与の可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoritaka A, Takanashi M, Hirayama M, Nakahara T, Ohta S, Hattori N. : Pilot study of H<sub>2</sub> therapy in Parkinson's disease: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Mov Disord.* 2013 (in press)
- 2) Hayashida K, Sano M, Kamimura N, Yokota T, Suzuki M, Maekawa Y, Kawamura A, Abe T, Shigeo Ohta S, Fukuda K, Hori S. : H<sub>2</sub> gas improves functional outcome after cardiac arrest to an extent comparable to therapeutic hypothermia. *J. Am. Heart Assoc.* 1(5):e003459. 2012.
- 3) Hoshi H, Hao W, Fujita Y, Funayama A, Miyauchi Y, Hashimoto K, Miyamoto K, Iwasaki R, Sato Y, Kobayashi T, Miyamoto H, Yoshida S, Mori T, Kanagawa H, Katsuyama E, Fujie A, Kitagawa K, Nakayama KI, Kawamoto T, Sano M, Fukuda K, Ohsawa I, Ohta S, Morioka H, Matsumoto M, Chiba K, Toyama Y, Miyamoto T. : Aldehyde-stress resulting from Aldh2 mutation promotes osteoporosis due to impaired osteoblastogenesis. *J. Bone Miner Res.* 27(9):2015-23. 2012.
- 4) Sakurazawa M, Katsura K, Saito M, Asoh S, Ohta S, Katayama Y. : Mild hypothermia enhanced the protective effect of protein therapy with transductive anti-death FNK protein using a rat focal transient cerebral ischemia model. *Brain Res.* 1430:86-92. 2012.
- 5) Rikimaru M, Ohsawa Y, Wolf AM, Nishimaki K, Ichimiya H, Kamimura N, Nishimatsu S-i, Ohta S, Sunada Y. : Taurine ameliorates impaired mitochondrial function and prevents stroke-like episodes in patients with MELAS. *Internal Medicine* 51(24):3351-7. 2012.
- 6) Koga Y, Tanaka M, Ohta S, Wei YH. : Biochemistry of mitochondria, life and intervention 2010. *Biochim Biophys Acta.* 1820(5):551-2. 2012.
- 7) Kashio A, Sakamoto T, Kakigi A, Suzuki M, Suzukawa K, Kondo K, Sato Y, Asoh S, Ohta S, Yamasoba T. : Topical application of the antiapoptotic TAT-FNK protein prevents aminoglycoside-induced ototoxicity. *Gene Ther.* 19(12):1141-9. 2012.



- |                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>8) 太田成男：ミトコンドリア DNA 構造と発現制御 Clinical Neuroscience ミトコンドリア病 up to date 2012;30(9) :988-991</p> <p>9) 太田成男：酸化ストレス制御とアンチエイジング SURGERY FRONTIER 2012;19(2) :80(184)-83(187).</p> <p>10) 太田成男：水素医学の現状：基礎医学から臨床医学へ ファルマシア 2012;48(8) 767-771.</p> | <p>1) NHK ゆうどきネットワーク 2012. 6. 13. 出演</p> <p>2) TBS あの日に帰りたい特別編、ダイエットの5大落とし穴完全脱出SP 2012. 9. 25 出演</p> <p>3) TBS はなまるマーケット若さを保つ！水素パワー 2012. 9. 3 出演</p> <p>4) チバテレビ 達人道「水素の達人」 2012. 12. 9 出演</p> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## 2. 学会発表

- 1) Shigeo Ohta: Recent progress toward hydrogen medicine. International symposium of Mitochondrial biomedicine 2012. 4. 8. China.
- 2) 太田成男：水素医学の発展と健康への貢献 日本アンチエイジング歯科学会 2012. 5. 19 名古屋.
- 3) 太田成男：東洋はり医学会 ミトコンドリアを維持し、増やすための生活の知恵 2012. 5. 13 東京.
- 4) 太田成男：老いと若さを制御するミトコンドリア エイジングサイエンスシンポジウム 2012. 06. 07 東京.
- 5) 太田成男：水素医学の展開 日本NO学会学術集会 2012. 06. 29 神戸.
- 6) 太田成男：ミトコンドリアはどこ迄老化と若返りに関与している？ 日本抗加齢医学会 2012. 09. 30 札幌.
- 7) 太田成男：水素による抗酸化作用とアンチエイジング効果 第6回東京眼科アカデミー 2013. 01. 20 東京.
- 8) 太田成男：水素医学研究 update-2012 分子状水素医学シンポジウム 2013. 2. 10 東京.

(発表誌名、巻・号・頁・発行年)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

### 1. 特許取得

特許番号：5028639 取得年月日：2012. 7. 6 特許名称：ミトコンドリア病の予防又は治療薬

特許番号：5106110 取得年月日：2012. 10. 12  
特許名称：生体内の有害な活性酸素及び／またはフリーラジカル除去剤

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）  
分担研究報告書

ミトコンドリア病に対する系統的病因探索システムについての研究と  
難治性ミトコンドリア病患者 2 例へのピルビン酸ナトリウムによる治療経験

分担研究者 大竹 明 埼玉医科大学小児科 教授

研究要旨 呼吸鎖酵素診断により全国からの依頼患者 798 名中 284 名をミトコンドリア呼吸鎖異常症 (MRCD) と診断した (診断率 284/798=35.6%)。臨床診断としては Leigh 症候群と乳児ミトコンドリア病が最も多かったが、肝症、心筋症などの単一臓器障害もかなりを占め、極めて多様であった。酵素診断では Complex I 欠損症が最も多く 123 例、次いで複数の呼吸鎖複合体欠損症が 96 例、Complex IV 欠損症が 49 例、Complex III 欠損症が 10 例であった。ミトコンドリア遺伝子について従来法と Ion PGM 法を用いた解析で合計 156 例について解析を行い病因と考えられる遺伝子変異を 45 例に同定し、ミトコンドリア遺伝子異常が病因となる率：29% (45/156) を同定した。104 症例について核遺伝子についてのエキソーム解析が終了し、うち 27 症例について、既知の原因遺伝子として報告がなくミトコンドリア局在タンパク質をコードしている遺伝子に劣性遺伝形式での変異が、別の 18 症例で既知の原因遺伝子における新規変異が同定された。難治性ミトコンドリア病 2 症例にピルビン酸ナトリウムを投与した。筋力を中心に病像改善の印象は強く、症状・検査結果に副作用と考えられるものはない。今後 NPMS など種々の臨床評価スケールによる評価を継続し、バイオマーカー等を含めた客観的評価も行っていきたい。

研究協力者

村山 圭 (千葉県こども病院代謝科)  
森 雅人 (自治医科大学小児科)  
岡崎康司 (埼玉医科大学ゲノム医学研究センター)

A. 研究目的

ミトコンドリア呼吸鎖異常症 (MRCD) は最も高頻度 (1/5,000) なエネルギー産生系の先天代謝異常症であり、症状・罹患臓器・遺伝形式は極めて多岐にわたる。今回私達は日本全国から依頼された症例を対象とし、酵素診断に始まり、次世代シーケンシング法を用いたミトコンドリア遺伝子解析、全エキソーム解析に至る系統的病因探索システムを構築したので、本システムを用いた現在までの解析結果を報告する。次いで後段ではピルビン酸ナトリウムを投与した難治性ミトコンドリア病 2 症例の経過を報告す

る。

B. 研究方法

【対象】病因探索システムは、全国から送られた 775 家系 798 症例から得た 1265 検体 (皮膚線維芽細胞 614 検体、肝臓 264 検体、筋肉 250 検体、心臓 93 検体、腎臓 27 検体、脳 7 検体など) を対象とした。

ピルビン酸ナトリウムは以下の 2 症例に投与した。①易感染性と発達遅滞を主訴に 1 歳前に発病した、3243A>G 変異を持つ MELAS/Leigh オーバーラップ症候群男児、②1 歳前に退行で発病し、G14439A (ND6:P to S) 変異を持つ Leigh 脳症の女児。

【方法】系統的病因探索システムは以下の項目から成る。1) Blue Native 電気泳動を用いた Western Blot と *in gel* enzyme stain、および *in vitro* 酵素アッセイを用いた呼吸鎖酵素複合

体蛋白レベルの解析。2) サンガーシーケンス法やライフテクノロジーズ社 Ion PGM シーケンサーによるミトコンドリア DNA 全周塩基配列の解析。3) ミトコンドリア DNA 枯渇症候群 (mitochondrial DNA depletion syndrome: MTDPS) 疑い例については、定量的 PCR (qPCR) による診断確定後、サンガーシーケンス法による頻度の高い 11 種類の原因遺伝子解析。4) 以上で病因が判明しない症例に対する次世代シーケンス法を用いた全エキソーム解析。

#### (倫理面への配慮)

本研究は申請番号 482 (現在更新されて 482-V) で埼玉医科大学倫理委員会における審査を受け承認を得て行った。遺伝子解析研究についてはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号) および、医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン (日本医学会 2011 年 2 月) に基づいて行い、さらにはこれとは別に各研究機関の倫理審査委員会において承認を得て行った。

#### C. 研究結果

系統的病因解析システムの結果は以下の通りである。1) 酵素診断の結果: 現在までのところ、279 家系 284 名を MRCD と診断した (診断率 284/798=35.6%)。臨床診断では乳児ミトコンドリア病が最も多く 71 例 (致死的乳児ミトコンドリア病が 49 例、非致死的乳児ミトコンドリア病が 22 例)、次いで Leigh 症候群が 50 例、ミトコンドリア脳筋症が 50 例、ミトコンドリア肝症が 34 名、ミトコンドリア心筋症が 19 例、原因不明の神経変性疾患が 11 例、乳幼児突然死が 25 例、その他が 24 例であった。酵素診断では Complex I 欠損症が最も多く 123 例、次いで複数の呼吸鎖複合体欠損症が 96 例、Complex IV 欠損症が 49 例、Complex III 欠損症が 10 例であった。2) ミトコンドリア遺伝子解析: 156 例について解析を行い、既知・未知を合わせて病因と考えられる遺伝子変異を 45 例 (29%) に同定した。つまり 70%以上の MRCD は核遺伝子異常と考えられた。3) 23 家系 25 症例を MTDPS と確定し、このうち 4 家系 6 症例で

既知 11 遺伝子 (4 遺伝子、重複あり MPV17, POLG, DGUOK, SUCLG1) における変異を特定した。4) 104 症例についてエキソーム解析が終了した。うち 27 症例について新規の原因遺伝子となる候補を、別の 18 症例で既知の原因遺伝子における新規変異が同定された。

ピルビン酸ナトリウム投与により筋力を中心に病像改善の印象は強く、症状・検査結果に副作用と考えられるものはない。今後 NPMDs など種々の臨床評価スケールによる評価を継続し、バイオマーカー等を含めた客観的評価も行って行きたい。

#### D. 考察

私達の開発した「酵素診断から遺伝子解析に至る系統的探索システム」は充分機能した。今後 iPS 細胞樹立を含めた機能解析方法を完成し、最終的にはこのシステムを応用して創薬に向けた検討を行いたい。

ピルビン酸ナトリウムは有望な治療法と成り得る。

#### E. 結論

ミトコンドリア病はいかなる症状、所見、発症年齢、遺伝形式でも発症しうる疾患群であるが、呼吸鎖異常症 (MRCD) としてとらえることにより、次世代シーケンス法を用いた解析の良い対象となることが確認された。(遺伝子解析部分は、主に文部科学省「革新的細胞解析研究プログラム (セルイノベーション) 補助金を用いて行われた。)

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

##### 著書

- 1) 大竹 明: XIII ミトコンドリア病 1. ミトコンドリア病: 概論. 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No. 20 先天代謝異常症候群 (第 2 版) 下—病因・病態研究、診断・治療の進歩— 日本臨床社 大阪, 623-630, 2012
- 2) 大竹 明: XIII ミトコンドリア病 2. ミ

トコンドリア呼吸鎖酵素複合体 I 欠損症. 別冊  
日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.20  
先天代謝異常症候群 (第2版) 下—病因・病態  
研究、診断・治療の進歩— 日本臨床社 大阪  
pp631-637, 2012

原著

- 1) 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* 34(2): 115-7, 2012.
- 2) Akamizu T, Sakura N, Shigematsu Y, Tajima G, Ohtake A, Hosoda H, Iwakura H, Ariyasu H, Kangawa K: Analysis of plasma ghrelin in patients with medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency and glutaric aciduria type II. *Eur J Endocrinol* 166(2): 235-240, 2012.
- 3) Tanigawa J, Kaneko K, Honda M, Harashima H, Murayama K, Wada T, Takano K, Iai M, Yamashita S, Shimbo H, Aida N, Ohtake A, Osaka H: Two Japanese patients with Leigh syndrome caused by novel SURF1 mutations. *Brain Dev* 34(10): 861-5, 2012.
- 4) Yamamoto T, Emoto Y, Murayama K, Tanaka H, Kuriu Y, Ohtake A, Matoba R: Metabolic autopsy with postmortem cultured fibroblasts in sudden unexpected death in infancy: Diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders. *Mol Genet Metab* 106(4): 474-7, 2012.
- 5) 荒尾正人、武者育麻、日笠山絢香、赤塚淳弥、山崎太郎、雨宮 伸、阪本靖介、笠原群生、大竹 明：門脈欠損症 II 型（門脈低形成症）に対してシャント血管離断術が奏功した VACTERL 連合の 1 例. *日本マス・スクリーニング学会誌* 22(1): 45-8, 2012.
- 6) Muto A, Takei H, Unno A, Murai T, Kurosawa T, Ogawa S, Iida T, Ikegawa S, Mori J, Ohtake A, Hoshina T, Mizuochi T, Kimura A, Hofmann AF, Hagey LR, Nittono H: Detection of  $\Delta(4)$ -3-oxo-steroid  $5\beta$ -reductase deficiency by LC-ESI-MS/MS measurement of urinary bile acids. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 900(1): 24-31, 2012.
- 7) Nagasaka H, Yorifuji T, Bandsma RH, Takatani T, Asano H, Mochizuki H, Takuwa M, Tsukahara H, Inui A, Tsunoda T, Komatsu H, Hiejima E, Fujisawa T, Hirano KI, Miida T, Ohtake A, Taguchi T, Miwa I: Sustained high plasma mannose less sensitive to fluctuating blood glucose in glycogen storage disease type Ia children. *J Inherit Metab Dis* 36(1): 75-81, 2013
- 8) Seki Y, Mizuochi T, Kimura A, Takahashi T, Ohtake A, Hayashi S, Morimura T, Ohno Y, Hoshina T, Ihara K, Takei H, Nittono H, Kurosawa T, Homma K, Hasegawa T, Matsuishi T: Two neonatal cholestasis patients with mutations in the SRD5B1(AKR1D1) gene: diagnosis and bile acid profiles during chenodeoxycholic acid treatment. *J Inherit Metab Dis*. 2012 Nov 16. [Epub ahead of print]
- 9) Nagasaka H, Okano Y, Kimura A, Mizuochi T, Sanayama Y, Takatani T, Nakagawa S, Hasegawa E, Hirano K, Mochizuki H, Ohura T, Ishige-Wada M, Usui H, Yorifuji T, Tsukahara H, Hirayama S, Ohtake A, Yamato S, Miida T: Oxysterol changes along with cholesterol and vitamin D changes in adult phenylketonuric patients diagnosed by newborn mass-screening. *Clin Chim Acta* 416 (1): 54-9, 2013
- 10) 加藤いづみ、村山 圭、鈴木康浩、岩松利至、今井郁子、大塚晴美、大竹 明：新生児期発症ミトコンドリア呼吸鎖異常症の兄妹例.