

と変化しなかった。

GMFM は開始後 9 ヶ月で 2% から 4% へ改善した。緊急入院の回数は投与開始前 1 年間の 5 回から開始後 1 年で 0 回に減少した。

D. 考察

当科通院中のミトコンドリア病患者 2 名に対してピルビン酸ナトリウムを 1 年間投与した。2 症例とも重症心身障害児であり、家族からみた活動性や四肢の動きの改善を認めたが、ミトコンドリア病重症度スコアや NPMDS での評価は困難であった。症例 2 では粗大運動能力を GMFM を用いて評価し、軽度改善を認めた。重症心身障害児ではミトコンドリア病のスコアよりも GMFM が有用である可能性がある。

緊急入院の回数は症例 1、2 とも減少し、ピルビン酸ナトリウムの有効性を示していると考えた。

頭部 MRI、SPECT、脳波は有意な改善を示さなかった。

検査データでは症例 1 では L/P 比は高値のまま推移し、軽度低下した血液中でもほとんど 25.6 を下回らなかった。これは L/P 比を下げることにより解糖系による ATP 産生を促すという推定されているピルビン酸療法の機序とは矛盾する。症例 1 で

臨床的な改善は認めており、ピルビン酸ナトリウムの投与により L/P 比が高値の状態でも ATP 産生が促されている可能性がある。

副作用は、症例 1 ではピルビン酸ナトリウム 1.5g/kg/日の投与でも認めず、症例 2 では 1.2g/kg/日で下痢を認めたが、0.7g/kg/日への減量ですみやかに改善した。ピルビン酸ナトリウムは重症児でも比較的安全に投与できると思われる。

E. 結論

ピルビン酸ナトリウムは重症児のミトコンドリア病患者に対しても比較的安全に投与することができ、臨床的な効果を認めることができた。有効性の評価に用いる指標については今後の検討が必要である。

F. 研究発表

学会発表：第 54 回日本先天代謝異常学会総会
(2012 年 11 月 15 日～17 日)

発表者 戸川雅美

演題名 ミトコンドリア病に対するピルビン酸ナトリウム療法

表 1 症例のまとめ

		症例 1	症例 2
治療開始時年齢、性別		8 歳 11 か月、男児	2 歳 4 か月、女児
臨床診断		MELAS/Leigh overlap	Leigh 症候群
遺伝学的診断		mtDNA 13513G>A	不明
発症年齢		LS: 5 ヶ月, MELAS: 8 歳 4 か月	3 ヶ月
乳酸/ピルビン酸 (診断時)	血液	30.4/ 1.4 (mg/dl)	23.4/ 1.61 (mg/dl)
	髄液	50.4/ 2.2 (mg/dl)	35.0/ 1.57 (mg/dl)
L/P 比 (診断時)	血液	21.7	14.5
	髄液	22.9	22.3
乳酸/ピルビン酸 (治療開始時)	血液	21.6/ 0.56 (mg/dl)	9.4/ 0.5 (mg/dl)
	髄液	44.7/ 1.36 (mg/dl)	not available
L/P ratio (治療開始時)	血液	38.6	18.8
	髄液	32.9	not available
頭部 MRI		対称性病変：中脳、被殻、尾状核 stroke like lesion：左後頭葉-頭頂葉	脳萎縮 対称性病変：被殻、中脳、視床
運動機能		寝たきり	寝たきり
合併症		慢性呼吸不全、WPW 症候群 反復性肺炎、思春期早発	てんかん, OSAS
治療		VitB1, VitB12, VitC, VitE, CoQ10, carnitine, DCA, L-arginine, PB, SA	VitB1, VitB2, VitC, VitE, CoQ10, carnitine, PB, LTG
医療的ケア		胃瘻、気管切開、人工換気	胃瘻

L/P ratio: lactate/pyruvate ratio, CSF: cerebrospinal fluid, WPW syndrome: Wolff-Parkinson-White syndrome, OSAS: obstructive sleep apnea syndrome, DCA: dichloroacetate, PB: phenobarbital, LTG: lamotrigine, SA: succinic acid

表 2 症例 1 の検査データ

		baseline	2w	1m	3m	6m	9m	1y
静脈血液ガス 分析	pH	7.385	7.391	7.442	7.438	7.490	7.414	7.418
	pCO ₂	32.7	32.6	29.8	29.6	32.7	34.0	32.7
	HCO ₃ ⁻	19.1	19.4	20.0	22.7	24.7	21.3	24.7
	BE	-4.6	-4.3	-2.7	0.6	2.2	-2.2	0.3
	AG	17.4	16.2	15.1	14.3	14.6	15.7	13.4
	Lactate (mmol/L)	2.0	2.2	2.2	2.3	2.9	1.8	1.7
血液	Lactate (mg/dl)	21.6	21.2	NA	17.9	NA	18.6	19.5
	pyruvate (mg/dl)	0.56	0.92	NA	0.82	NA	0.67	0.62
	L/P ratio	38.6	23.0	NA	21.8	NA	27.8	31.5
髄液	Lactate (mg/dl)	44.7	51.2	NA	50.2	NA	NA	55.9
	pyruvate (mg/dl)	1.36	1.66	NA	1.58	NA	NA	1.61
	L/P ratio	32.9	30.8	NA	32.1	NA	NA	34.7
ピルビン酸ナトリウム (g/kg/日)		0	0.5	0.9	1.0	1.4	1.4	1.5
ジクロロ酢酸 (mg/日)		200	66	0	0	0	0	0

NA ; not available

表 3 症例 2 の検査データ

		baseline	1m	3m	6m	1y
静脈血液ガス 分析	pH	7.362	NA	7.383	7.391	NA
	pCO ₂	40.8	NA	41.4	38.9	NA
	HCO ₃ ⁻	22.6	NA	24.1	23.1	NA
	BE	-2.1	NA	-0.5	-1.1	NA
	AG	5.3	NA	17.7	14.9	NA
	Lactate (mmol/L)	0.9	NA	0.9	0.6	NA
血液	Lactate (mg/dl)	9.4	15.2	NA	11.9	5.3
	pyruvate (mg/dl)	0.5	1.17	NA	0.75	0.36
	L/P ratio	18.8	13.0	NA	15.9	14.7
髄液	Lactate (mg/dl)	NA	NA	NA	NA	16.5
	pyruvate (mg/dl)	NA	NA	NA	NA	0.79
	L/P ratio	NA	NA	NA	NA	20.8
ピルビン酸ナトリウム (g/kg/日)		0	0.7	1.2	0.7	0.7

NA ; not available

表 4 経過のまとめ

		症例1		症例2	
ピルビン酸ナトリウム		1.5 g/kg/日		0.7 g/kg/日 (最大 1.2 g/kg/日)	
		治療開始時	1年	治療開始時	1年
血液	乳酸	21.6 mg/dl	19.5 mg/dl	9.4 mg/dl	5.3 mg/dl
	ピルビン酸	0.56 mg/dl	0.62 mg/dl	0.5 mg/dl	0.36 mg/dl
	L/P ratio	38.6	31.5	18.8	14.7
髄液	乳酸	44.7 mg/dl	55.9 mg/dl	NA	16.5 mg/dl
	ピルビン酸	1.36 mg/dl	1.61 mg/dl	NA	0.79 mg/dl
	L/P ratio	32.9	34.7	NA	20.8
頭部 MRI		stroke like episode	stroke like episode	脳萎縮	変化なし
		3回/12ヶ月	2回/12ヶ月	対象性病変	
SPECT		左後頭葉低下	右後頭葉低下	前頭葉・側頭葉低下	変化なし
脳波		突発波なし	変化なし	多焦点性突発波	多焦点性突発波
JMDRS		50	50	NA	NA
NPMDS	I-III	48	47	29 ^a	27 ^a
	IV	20	14.6	9.9 ^a	12.0 ^a
	overall	68	61.6	38.9 ^a	39.0 ^a
GMFM		NA	NA	2%	4% ^b
緊急入院 ^c		5回/12ヶ月	2回/12ヶ月	5回/12ヶ月	0回/12ヶ月
副作用		-	なし	-	下痢 (1.2 g/kg/日)

a : 0-24 ヶ月版、b : 投与開始後 9 ヶ月、c : 感染や stroke like episode による

JMDRS : ミトコンドリア病重症度スコア

NPMDS : Newcastle Paediatric Mitochondrial Disease Scale

GMFM : Gross Motor Function Measure

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
（分担）研究報告書

4. ミトコンドリア病に対するピルビン酸ナトリウム治療法の検討

研究分担者：齋藤 伸治

名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野

研究要旨：ミトコンドリア病に対するピルビン酸ナトリウム治療法の有効性と安全性を評価することを目的としてピルビン酸ナトリウム治療法を6名のミトコンドリア病患者に実施した。対象はMELAS症候群3例、Leigh症候群2例、複合体I, III, IV欠損症1例である。年齢は1歳から18歳であり、性別は男2名、女4名である。高乳酸血症（20mg/dl以上）は3例であった。ピルビン酸療法は投与量0.5g/kgにて開始した。現在、開始後3～6か月を経過している。副作用としては特別なものは認めず、また、経口を含めた投薬は中止なく継続できている。血中乳酸値は4例で低下していたが、2例では上昇していた。臨床症状については現時点では明らかな改善は認めていない。6例における中間報告としては、副作用なく安全に投与できることが示された。効果判定には更なる経過観察が必要である。

A. 研究目的

ミトコンドリア病に対する保険収載された薬物は未だに存在しない。ピルビン酸ナトリウムはミトコンドリア病の細胞モデルにおいて細胞死を防ぐ効果があることが示され、先行する臨床研究において、乳酸の軽減効果と臨床的有効性が報告されている。現在、ピルビン酸ナトリウムを用いた医師主導治験が企画されているが、実現には時間がかかる。ミトコンドリア病は進行性の疾患であり、治験開始まで待てない患者様が存在する。そこで、今回私たちは、ミトコンドリア病6例を対象として、ピルビン酸ナトリウム治療法の有効性と安全性を評価する臨床研究を行うこととした。

B. 研究方法

対象とした患者は、MELAS 3名（m.3243A>G変異2例、不明1例）、Leigh症候群2名

（m.3687G>A変異1名、不明1名）、複合体I, III, IV欠損症1例である。年齢は1歳～18歳、男2名、女4名である。

ピルビン酸ナトリウムは一日量0.5g/kgを毎食後に内服とした。下痢の副作用を防ぐために、ピルビン酸ナトリウム3.3gに対して200ml程度の水で薄めて内服するように指導した。

評価については、ミトコンドリア病の重症度スコアおよびNPMDS(The Newcastle Pediatric Mitochondrial Disease Scale)を利用して判定した。開始前、投与開始1, 2, 3, 6, 12か月後に臨床症状と血液ガス、血中乳酸、ピルビン酸、血漿アミノ酸の評価を行う予定とした。副作用チェックとしてNa, K, Cl, Ca, ALT, AST, BUN, Cre, ALP, LDH, CK, TP, Glu, 血算ならびにアンモニアを測定する。心臓エコー検査、心電図は開始前と3-6か月ごとに評価、脳MRI、脳波は開始前と開始後12か月に評価する

予定とした。

(倫理面への配慮)

本研究は名古屋市立大学大学院医学研究科倫理審査委員会の承認を受け、解析にあたっては、ご家族から書面による同意を得た。

C. 研究結果

現在の進捗は開始後 3〜6 か月となっており、研究期間の中間地点にさしかかった所である。現段階での評価を記す。まず、服薬に関しては、経口での服薬は 4 名、経管による服薬を 2 名に行っているが、所定の服薬が持続できている。副作用としては、下痢の合併が知られているが、問題となる下痢はみられていない。臨床症状については、外来経過観察においては、明らかな変化は認めていない。検査データについては、最新の結果では、乳酸の値に関しては、4 例で低下、2 例で増加している。検査上の副作用は認めていない。

D. 考察

倫理審査委員会の審査と承認を受けて、平成 24 年 9 月からピルビン酸ナトリウム治療研究を開始した。これまでに 6 名の参加を得て、3〜6 か月を経過している。

中間報告の要点としては、服薬が安定して可能であることが明らかになったことと、副作用がみられなかったことと考える。臨床研究自体の実現可能性が示されたことは、治験の実施の上でも重要な情報になったと考えられる。また、懸念された下痢についても十分な水分と一緒に服薬することで、大きな問題は認めなかった。採血上も明らかな副作用はなく、ピルビン酸ナトリウム治療の安全性については、これまでの報告と同じように、大きな問題がないことが示されたと考えている。

一方、治療効果の判定については課題が多い。分かりやすい指標である血中乳酸値については、データが蓄積されており、評価としては容

易で確実である。しかし、これまでのところ、安定的に低下したとは言えない状態である。乳酸値は患者の状態により変動が大きいこともあり、評価が難しい。髄液の乳酸の方が、状態をより良く反映している可能性があるものの、現実的には定期的な測定は困難である。

臨床症状の評価は、更に困難と思われる。これまでの経過では、NPMS に変化が現れるような大きな変化は認めていない。また、本来進行性の疾患であることを考えると、現状維持自体に意味がある可能性がある。MELAS では梗塞様発作の回数により評価ができるかもしれないが、そのためにはより長期の観察が必要になると思われる。

今回の研究では、1 年間の変化で評価を行う予定であり、臨床評価については、経過を待つ必要がある。しかし、上記したように、6 か月の時点で明瞭な変化がない以上、1 年後においても評価の困難さは変わらないと想像される。NPMS のみでなく、より細かい評価方法が必要になるかもしれない。

E. 結論

6 名のミトコンドリア病患者に対して、ピルビン酸ナトリウム治療を実施した。中間評価ではあるが、安全性が確認され、また、臨床試験の実現可能性が示された。しかし、効果については著明とはいえず、今後の判定指標を検討する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hosoki K et al. Hand-foot-genital syndrome with a 7p15 deletion demonstrates a clinically recognizable syndrome. *Pediatr Int* 54:e22-25, 2012.

- 2) Hosoki K et al. Clinical Phenotype and Candidate Genes for the 5q31.3 Microdeletion Syndrome. *Am J Med Genet A* 158A:1891-1896, 2012.
- 3) Kawamura R et al. Visualization of the spatial positioning of the *SNRPN*, *UBE3A*, and *GABRB3* genes in the normal human nucleus by three-color 3D-fluorescence in situ hybridization. *Chromosome Res* 20:659-672, 2012.
- 4) Tsurusaki Y et al. A *DYNC1H1* mutation causes a dominant spinal muscular atrophy with lower extremity predominance. *Neurogenetics* 13:327-332, 2012.
- 5) Takenouchi T et al. Tissue-limited ring chromosome 18 mosaicism as a cause of Pitt-Hopkins syndrome. *Am J Med Genet A* 158A:2621-3, 2012.
- 6) Egawa K et al. Decreased tonic inhibition in cerebellar granule cells causes motor dysfunction in a mouse model of Angelman syndrome. *Sci Transl Med* 4:163ra157, 2012.
2. 学会発表
- 1) 根岸豊ら. Three siblings of Leigh syndrome associated with a mitochondrial m.3697G>A mutation. 第54回日本小児神経学会 平成24年5月17-19日(札幌)
- 2) 齋藤伸治ら. *DYNC1H1* 変異は特異な大腿四頭筋優位神経原性筋萎縮症の原因となる、第57回日本人類遺伝学会 平成24年10月25-27日(東京)
- 3) Hosoki K et al. Submicroscopic chromosomal rearrangements in patients with an Angelman syndrome-like phenotype. 62th Annual Meeting of American Society of Human Genetics, San Francisco, USA, 11/7-10/2012
- 4) Saitoh S et al. A *DYNC1H1* mutation causes a quadriceps-dominant neurogenic muscular atrophy. 62th Annual Meeting of American Society of Human Genetics, San Francisco, USA, 11/7-10/2012
- 5) Saitoh S et al. Molecular genetic investigation on patients with Angelman syndrome in Japan: experience on 168 deletion-negative cases. 2012 Meeting of Angelman syndrome Foundation. Washington DC, USA, 6/26-17, 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

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
（分担）研究報告書

5. MELAS 治療薬の患者筋細胞における効果に関する研究

分担研究者 森 雅人 自治医科大学小児科学講師
研究協力者 芝 祐輔 自治医科大学小児科学

研究要旨：A3243G 変異を持つ患者筋細胞を用いて経時的に細胞内 ATP 量を測定することにより MELAS に対して使用される薬剤の効果を検討した。A3243G 変異を約 80%有する細胞株と約 0%である細胞株において通常培養下でピルビン酸ナトリウム、タウリン、ジクロロ酢酸ナトリウム(DCA)の各薬物を培地に添加し、細胞内 ATP 量を測定した。通常培養下では上記条件で細胞内 ATP 量の変化は見られず、安定した状態の細胞では薬物添加による変化は認めなかった。これらの薬剤の効果については高濃度酸素下、糖欠乏培地などのエネルギー需要が増すような負荷を与えて今後検討を行う必要があると考えた。

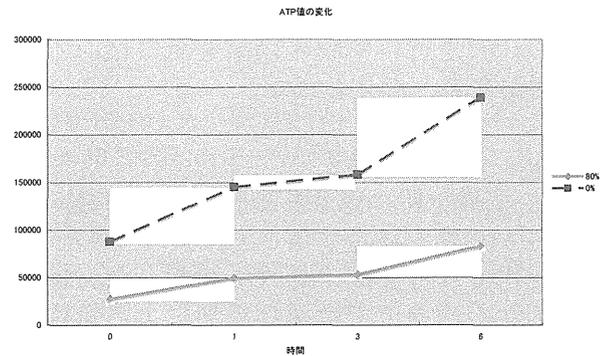
A. 研究目的

MELAS の治療に用いられる薬物はエネルギー産生障害改善を目的に呼吸鎖複合体補酵素のビタミン B1 やコエンザイム Q10、代謝サイクルの賦活を目的としたジクロロ酢酸ナトリウム、ピルビン酸ナトリウム、変異 tRNA 機能改善を目的としたタウリンなどが用いられている。しかし、これらの薬物の MELAS 患者での作用については不明の点が多く、また評価が難しい。今回の研究ではこれらの薬物が MELAS のエネルギー産生障害の改善にどのように影響しているか検討する目的で行った。

B. 研究方法

MELAS 患者よりインフォームドコンセントのもと採取した生検筋細胞を初代培養後、SV40 DNA で不死化し、クローン化した細胞を使用した。使用した細胞株は A3243G 変異を約 80%有し、エネルギー産生障害状態と考えられる細胞株（80%株）と変異がほぼ 0%で機能的には正常と考えられる細胞株（0%株）を使用した。

上記 2 種類の細胞株を 96 穴 dish に 1000 細胞/well の量で撒き、12 時間通常条件で培養し、細胞が定着した後に MELAS 治療薬（使用濃度）[ピルビン酸ナトリウム(1mM, 2mM)、タウリン(500 μg/ml, 1000 μg/ml)、ジクロロ酢酸ナトリウム(DCA) (250 μg/ml, 500 μg/ml)] を添加して 1 時間、3 時間、6 時間と経時的に細胞内 ATP 量を測定した。ATP 量の測定には ATP 測定試薬(東洋ビーネット、東京)を用いてルミノメーター (Promega, USA) で測定した。



C. 研究結果

ATP量は80%株と0%株で約3倍の差が見られた(図1)が、薬物の添加による細胞内ATP量の変化はなかった。(図2)

図1. ATP量の変化：0%株（点線）に比べ80%株（実線）はATP量が少なく、増加率も悪い。

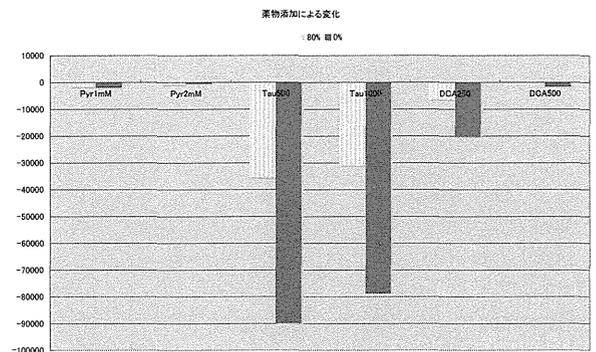


図2. 薬物添加3時間後のATP値（通常培地との差）：薬物によるATP測定値の違いはあるが、80%株、0%株間においては薬物添加による有意な

差はみられなかった。

D. 考察

MELAS の治療に用いられる薬物はエネルギー産生障害を改善し、細胞機能を維持することを目的に使用されている。今回の検討では薬物添加によって ATP 量が増えるかどうかの検討を行った。80%株と 0%株では通常培養下で図 1 のように ATP 量の経時的な変化には大きな差がみられた。この差は細胞増殖率の差と考えられ、臨床的にも A3243G 変異の閾値効果は 70-80%と考えられており、変異の多い細胞では機能不全があると考えられた。一方、薬物添加による ATP 量には明らかな変化は今回の検討では確認されなかった。われわれはこれまでに糖欠乏培養条件という特異な条件下で DCA が細胞死を遅らせることを確認しており、今回の結果は薬物の MELAS 細胞に対するエネルギー産生改善効果がないわけではなく、通常の安定した条件下では薬物を加えても細胞機能がより賦活され改善するのではなく、エネルギー需要の増すような条件下で細胞機能不全が防がれる可能性があると考えた。今後、エネルギー需要の増すような条件下での研究を行い薬物の効果を更に検討していく必要があると考えられた。

E. 結論

A3243G 変異を持つ患者筋細胞を用いて経時的に細胞内 ATP 量を測定することにより MELAS に対して使用される薬剤の効果を検討した。通常の栄養条件の培養下では薬物添加による細胞内 ATP 量の変化は見られなかった。薬物の効果検討のためにエネルギー需要の増すような条件下での検討を行う必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

特に無し

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 森雅人、村山圭、大竹明. ミトコンドリア病. 小児科診療 76(1)、11-19, 2013
- 2) Monden Y, Mori M, Kuwajima M, Goto T, Yamagata T, Momoi MY. Late-onset Leigh syndrome with myoclonic epilepsy with ragged-red fibers. Brain Dev, doi:pii: S0387-7604(12)00215-X. 2012

2. 学会発表

- 1) 森雅人、上原奈津美、水野洋介、村山圭、岡崎康司、大竹明:ミトコンドリア呼吸鎖異常症 (MRCD) のミトコンドリアDNA変異の検索、第54回日本小児神経学会総会、平成24年5月17-19日
- 2) 藤田真祐子、水落弘美、須山麻衣子、内川英紀、森雅人ほか:ミトコンドリア遺伝子変異m. 5537A>G at tRNA(Trp)を認めた1女児例、第54回日本小児神経学会総会、平成24年5月17-19日
- 3) 奥主朋子、藤井克則、須山麻衣子、水落弘美、内川英紀、森雅人ほか:ミトコンドリア遺伝子変異m. 3236A>G at tRNA(Leu)を認めた1男児例、第54回日本小児神経学会総会、平成24年5月17-19日
- 4) 川内恵美、村山圭、伏見拓矢、市本景子、鶴岡智子、森雅人ほか:本邦におけるミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症 (MRCD) 5年間のまとめ、第115回日本小児科学会学術集会、平成24年4月20-22日

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

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業） （分担）研究報告書

6. ミトコンドリア病における診断法の確立

研究分担者 村山 圭 千葉県こども病院代謝科 医長

研究要旨：ミトコンドリア病に合併する高乳酸血症に対するピルビン酸ナトリウム治療法の開発研究を行うために、患者エントリーと治療プロトコルの作成を担当した。中でも主に全国のミトコンドリア病が疑われた患者に対して生化学診断を行い、2012年は69人の新規を新たに診断し、ピルビン酸ナトリウム治療の候補として挙げる事ができた。

研究目的

近年、ピルビン酸ナトリウムは、ミトコンドリア病において効果のある薬剤として、報告が相次いでいる。本研究班では主に患者エントリーを担当させていただいた。特にミトコンドリア病の酵素診断を中心に行い、その中から本剤の使用患者のエントリーに関与した。

対象

本研究で我々が対象とした症例は、Bernierらのミトコンドリア呼吸鎖異常症の診断基準において“可能性例（possible）”以上の基準を満たした、本邦の症例である。平成24年12月末現在、日本全国の臨床医（主に小児科医）のご協力により、合計798症例から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、その他腎臓・脾臓など44検体）のご提供を頂いた。臨床症状は、新生児期致死性高乳酸血症から急性脳症、思春期の軽い筋緊張低下や食欲不振までにわたり非常に幅広い。大部分が原因不明の高乳酸血症症例であるが、一部は高乳酸血症を呈さずに多臓器にまたがる症状を呈したことからミトコンドリア呼吸鎖異常症（MRCD）を疑われた症例も含む。半数以上の症例が、新生児期から1歳までに発病していた。約4分の3の症例が、先天性高乳酸血症や何かのミトコンドリア異常症と臨床診断されていた。男女比はほぼ同等であった。

方法

酵素活性測定を試料は、組織については -80°C にて保存された肝や筋肉の一片をホモジナイズし、600Gにて遠心後の上清を用いた。また皮膚線維芽細胞については、ミトコンドリア分画を単離したものをを用いた。分光光度計を用い、光化学的に呼吸鎖I, II, III, IV及び対象としてクエン酸合成酵素(Citrate Synthase; CS)を測定した。呼吸鎖酵素活性はCS及びComplex IIとの相対比で表し、対照12人の平均に対する%で示した。

Blue-native PAGE解析は4~13%濃度勾配ゲルを用いて展開し、イムブロット法を用いて呼吸鎖複合体の量と大きさを解析した。呼吸鎖複合体に対する各種モノクローナル抗体を用いて行った。

結果

これまでにサンプルを提供して頂いた798症例のうち、275症例(35%)を、MRCDと診断した。各年度別の診断数を図1に示したが、2010年までは年間約30例だった診断数が、2011年の診断数から75例、69症例に上った。また275例の臨床診断の内訳を図2に示す。この中で、主に神経症状を呈するもの(脳筋症、Leigh脳症、神経変性疾患)が全体の40%を占めた。次いで乳児ミトコンドリア病が26%を占めた。2012年度に診断した69人の中から、当院で診ているミトコ

ンドリア脳筋症及び Leigh 脳症の 2 症例に対して、インフォームド・コンセントを十分に行った上で、ピルビン酸ナトリウムの投与を始めることができた。

図 1. 年度別 MRCD 診断数

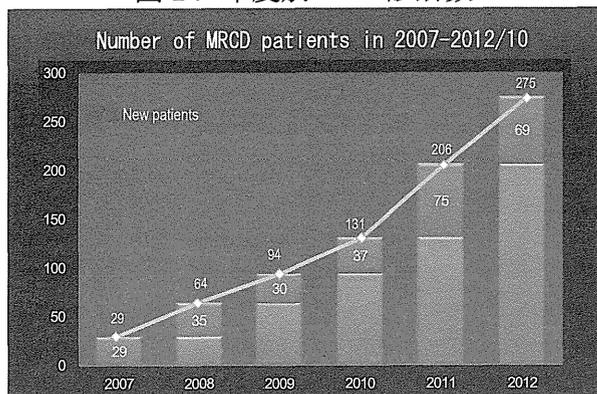
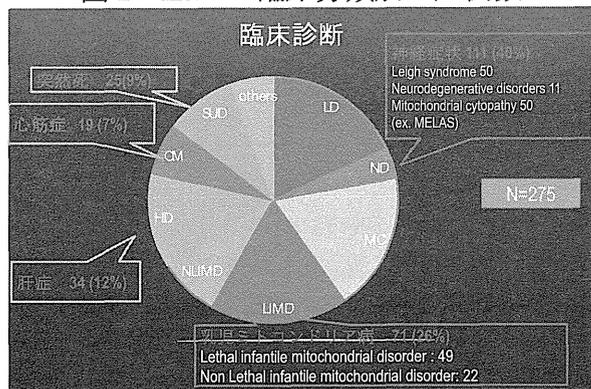


図 2 MRCD の臨床分類別の症例数



考察及び今後の展望

ミトコンドリア病は発症頻度が 5000-7000 人に 1 人と、非常に多い代謝異常症である。年々と診断数が増えていく一方で、確たる治療法がないのが現状である。その中でもピルビン酸ナトリウム治療は、解糖系での ATP 産生に寄与する理にかなった薬剤であり、かかる期待は大きい。当院で本薬剤を開始した症例も、まだ開始して日数は浅いものの、大きな副作用は診られていない。今後も慎重に経過をみていきたい。一方で、しっかりと診断-治療といったシステムを構築することが、症例を積み重ねていく上でも重要であると思われる。特に酵素学的評価はミトコンドリア病を診断していく上で最初の入り口となるところである。引き続き、迅速で正確な酵素診断を担っていきたい。

研究発表

2012 年

論文

1) 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.* 2012 Aug;106(4):474-7.

2) 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.* 2012 Mar 10. [Epub ahead of print]

3) Wakiya T, Sanada Y, Urahashi T, Ihara Y, Yamada N, Okada N, Ushijima K, Otomo S, Sakamoto K, Murayama K, Takayanagi M, Hakamada K, Yasuda Y, Mizuta K. Impact of enzyme activity assay on indication in liver transplantation for ornithine transcarbamylase deficiency. *Mol Genet Metab.* 2012 Mar;105(3):404-7.

4) 村山 圭: メインテーマ ミトコンドリア病-up to date 体液と筋肉・臓器の生化学検査. *Clinical Neuroscience* 30(9): 1002-1007, 2012
5) 村山 圭: 先天代謝異常症候群 (第 2 版) 病因・病態研究、診断・治療の進歩 上巻. 糖質代謝異常; 本態性五炭糖尿症 別冊日本臨床・新領域別症候群シリーズ 19 117-121.

6) 村山 圭: 先天代謝異常症候群 (第 2 版) 病因・病態研究、診断・治療の進歩 上巻. 糖質代謝異常; リボース-5-リン酸イソメラーゼ欠損症 別冊日本臨床・新領域別症候群シリーズ 19, 122-5.

7) 村山 圭: 先天代謝異常症候群 (第 2 版) 病因・病態研究、診断・治療の進歩 下巻. ミトコンドリア病; ミトコンドリア呼吸鎖複合体 II 欠損症 別冊日本臨床・新領域別症候群シリーズ 19, 638-42.

8) 村山 圭: 先天代謝異常症候群 (第 2 版) 病因・病態研究、診断・治療の進歩 下巻. ミトコンドリア病; ミトコンドリア呼吸鎖複合体 III 欠損症 別冊日本臨床・新領域別症候群シリーズ 19, 643-49.

9) 村山 圭: 先天代謝異常症候群 (第 2 版) 病因・病態研究、診断・治療の進歩 下巻. ミトコンドリア病; ミトコンドリア呼吸鎖複合体 IV 欠損症 別冊日本臨床・新領域別症候群シリーズ 19, 650-55.

10) 村山 圭: 先天代謝異常症候群 (第 2 版) 病因・病態研究、診断・治療の進歩 下巻. ミトコンドリア病; ミトコンドリア呼吸鎖複合体 V

欠損症 別冊日本臨床・新領域別症候群シリーズ 19, 656-61.

11) 村山 圭: 先天代謝異常症候群 (第2版) 病因・病態研究、診断・治療の進歩 下巻. ミトコンドリア病; ミトコンドリア呼吸鎖複合体複合型欠損症 別冊日本臨床・新領域別症候群シリーズ 19, 662-69.

12) 加藤いづみ、村山 圭、鈴木康浩、岩松利至、今井郁子、大塚春美、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 日本小児科学会雑誌 116: 1717-1723, 2012

学会等での講演、発表

- 1) 村山 圭 ミトコンドリア呼吸鎖異常症の最前線, 特別講演 第192回日本小児科学会千葉地方会, 2012. 06. 23 千葉
- 2) 村山 圭 先天代謝異常症の診断と治療Up to Date, 特別講演 第101回日本小児科学会茨城地方会, 2012. 11. 18 水戸
- 3) 村山 圭 ミトコンドリア呼吸鎖異常症の最前線 ~成長障害、急性脳症、乳児突然死・・・何でも起こる最高頻度の先天代謝異常症~ 特別講演 第165回大阪小児科医会学術集会 2012. 11. 10 大阪
- 4) 村山 圭 ミトコンドリア肝症の臨床及び分子病理, 分野別シンポジウム: 代謝性肝疾患の最前線 第115回日本小児科学会学術集会, 2012. 04. 19 福岡
- 5) 村山 圭 ミトコンドリア呼吸鎖異常症のUp

to Date - 消化器症状・肝症状は小児ミトコンドリア病の主要症状である-, 第39回日本小児栄養消化器肝臓学会モーニングセミナー 2012. 07. 14, 大阪

6) 村山 圭 ミトコンドリア疾患の治療法 第8回日本先天代謝異常学会セミナー 2012. 07. 29 東京

7) 村山 圭 本邦におけるミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症の6年間のまとめ ~酵素診断から病因遺伝子の系統的探索へ~ 第57回日本未熟児新生児学会 熊本

国際学会

- 1) Murayama K. Inherited Metabolic Disease and Liver Disorders. 10th APCHG at Kuala Lumpur, Malaysia, on 8th December 2012 Symposium, Inborn Errors of Metabolism.
- 2) Shoji Fukuoka, Kei Murayama, Takuya Fushimi, Emi Kawachi, Masami Ajima, Masato Mori, Yasushi Okazaki, Masaki Takayanagi, Akira Ohtake. Mitochondrial cardiomyopathy in Japanese children. SSIEM 2012 at Birmingham, UK, on 4-7th September 2012
- 3) Murayama K. Diagnosis and molecular basis of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan: the experiment of systematic analysis for causative genes. on 2nd ACIMD at Seoul, Korea, on 4th April 2012

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
（分担）研究報告書

7. ミトコンドリア病に対するピルビン酸ナトリウム治療法の検討

研究分担者 但馬 剛 広島大学医歯薬保健学研究院・講師

研究要旨：ミトコンドリア脳筋症患者4例に対し、ピルビン酸ナトリウム治療の臨床研究を行った。MERRFの1例、MELASの1例は有害事象あるいは辞退の申し出により中止となった。現在CPEOとKSS症例で研究進行中である。

研究協力者

石川 暢恒（広島大学病院小児科 助教）
藤井 裕士（広島大学病院小児科 医科
診療医）

小林 良行（広島大学病院小児科 医科診療
医）

A. 研究目的

ミトコンドリア病においては、現在までのところ治療根拠に基づいた有効性の認められた治療法はない。しかし、近年ピルビン酸ナトリウムの有用性が示唆されており、臨床上的使用経験の報告もみられる。本研究ではミトコンドリア病の生命予後を改善するため、ピルビン酸ナトリウムによる治療の有用性を評価・確立する。

B. 研究方法

ミトコンドリア病患者に対し、ピルビン酸ナトリウムを経口投与する。効果について、血液ガスや乳酸・ピルビン酸値などの検体を用いた検査結果および脳波、心機能などの生理検査、NMDAS/NPMDSを用いた全般改善度のスコアリングにより評価する。

（倫理面への配慮）

本試験は、世界医師会による「ヘルシンキ宣言」及び厚生労働省「臨床研究に関する倫理指針」（平成20年7月31日全部改正）を遵守する臨床研究として、広島大学病院治験審査委員会の承認を取得した上、UMIN臨床試験登録システムに登録済みである。

本試験で用いる薬物は試薬であり、薬剤として承認されたものではない。試験に参加することに、従来の治療と同等もしくはそれ以上の治療が受けられることが期待されるが、一方で薬物の副作用による健康被害が及ぶ可能性がある。その際は研究終了後でもすみやかに適切な処置と治療をもって対応する。試験の実施に際し、担当医師は倫理審査委員会で承認の得られた同

意説明文書を被験者に渡し、文書及び口頭による十分な説明を行い、被験者の自由意思による試験への参加についての同意を文書で得る。

C. 研究結果現在研究遂行中である。4例研究に参加し、2例が中断した。中断例は心不全が出現したMERRF1例と途中で辞退したMELAS1例である。CPEO1例、KSS1例で研究続行中である。D. 考察

効果については今後検討する必要があるが、有害事象のため中断した例が存在することは、適応基準に検討の余地があると考えられた。

E. 結論

ミトコンドリア病に対するピルビン酸ナトリウム療法の効果については研究がまとまった段階で評価する必要がある。有害事象を減少させる方法についても検討を要する。

F. 健康危険情報

（分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入）

MERRFの1例で心不全が出現し、研究参加中止となったが、中止後は症状改善が認められた。

G. 研究発表

1. 論文発表

無し

2. 学会発表

無し

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
（分担）研究報告書

8. ピルビン酸ナトリウム治療の臨床効果の評価法に関する研究

研究分担者 藤井 達哉 滋賀県立小児保健医療センター病院長

研究要旨：ピルビン酸ナトリウム治療の臨床効果を客観的に評価する目的で、特に効果判定の困難な寝たきりのミトコンドリア病患者に対する臨床効果の評価方法を検討した。4名の寝たきりの小児患者にピルビン酸治療を行い、NPMDS, GMFM, PEDI, WeeFIMなど複数の評価バッテリーで治療効果を評価した。臨床効果は、NPMDS, GMFM, PEDIで定量的に捉えることが出来たが、NPMDSでの改善は主として保護者が感じるQOL改善評価であるSection IVのdomainが主体であり、むしろGMFM, PEDIでの評価の方が寝たきり患者の能力・機能改善の客観的評価精度が高いように思われた。全例、臨床効果があったにもかかわらず血中乳酸値や乳酸/ピルビン酸比の改善がなかったことから、生化学的に改善を評価するためにはこれ以外の生化学的マーカーの開発が必要と思われた。

A. 研究目的

ミトコンドリア病患者に対するピルビン酸治療の有効性を評価するためには、血中乳酸値以外に臨床症状の改善を評価する必要がある。しかし、寝たきり患者の場合、従来のミトコンドリア病の重症度評価指標では変化を捉えることが困難であることが多い。そこで、4名の寝たきりのミトコンドリア病小児に対して、ミトコンドリア病の重症度評価指標のひとつであるNew Castle Paediatric Mitochondrial Disease Scale (NPMDS) 以外に、Gross Motor Function Measure (GMFM), Pediatric Evaluation of Disability Inventory (PEDI), Functional Independence Measure for Children (WeeFIM) など複数の評価法で治療前後の変化を測定し、それぞれの評価法の有用性を評価した。また四肢の一定部位に装着したオムロン活動量計HJA-307ITで、四肢の運動量の変化の定量を試みた。

B. 研究方法

4名の患者は、9歳のLeigh syndrome (8993T>G), 5歳のLeigh syndrome (9176T>C), 5歳の複合体I+IV欠損症、3歳のミトコンドリア

アDNA枯渇症候群で、全例寝たきりの重度障害児である。ピルビン酸治療は、0.5 g/kgのピルビン酸ナトリウムを経口投与し、1例は1 g/kgまで増量して維持した。治療前後で血中乳酸濃度を測定した。複合体I + IV欠損の1例は前方視的にNPMDS, GMFM, PEDI, WeeFIM, オムロンの活動計による活動量記録を行ったが、残り3例は後方視的な評価であり、8993T>CのLeigh syndromeはNPMDSと活動計の記録、DNA枯渇症候群ではNPMDS、9176T>CのLeigh syndromeではENMC改変重症度スコアで評価した。オムロン活動量計HJA-307ITは、8993T>C Leighの患児には下肢に、複合体I+IV欠損の患者では上肢に終日固定して運動活動量を連日測定した。

倫理面への配慮：ピルビン酸ナトリウムの投与は院内の倫理委員会で承認を受け、保護者のインフォームド・コンセントを得た上で行った。

C. 研究結果

1) NPMDS の評価：8993T>C Leigh では4週間の治療で全ポイントが42.3から38.6に3.7ポイントの改善があり、そのうち、Section II と III で各1ポイント、Section

IVで1.7ポイントの改善だった。複合体I+IV欠損例では12週間の治療で、全ポイントが44.7から30.3に14.4ポイント改善し、Section I, III, IVでそれぞれ1, 4, 9.4ポイントの改善であった。ミトコンドリアDNA枯渇例では2ヶ月の治療で全ポイントが35から31に4ポイント改善したが、Section IVのみの改善であった。

2) GMFMの評価：複合体I+IVの例だけGMFMで評価したところ、12週間の治療で項目Aのみが28ポイントから34ポイントに改善し、総合点評価では14%から16%の改善となった。

3) PEDIでの評価：複合体I+IVの例だけ行った。12週間の治療で、機能的セルフケア尺度が21.4から24.1に改善し、機能的移動尺度が6.1から11.4に改善、さらに機能的社会的尺度は3.1から6.6に改善した。

4) WeeFIMでの評価：複合体I+IVの例だけ行ったが、全く治療前後での変化を検出できず18ポイントのままであった。

5) ENMC mitochondrial disease rating scale 改変重症度スコア：9176T>C Leighのみこの方法で行ったが、変化を検出できなかった。

6) 活動量計での測定：治療前後で改善は見られず、1例では治療前の7日間の活動量は平均 431 ± 60.6 kcalに対して治療13日間の値は 385 ± 72 kcalであった。もう1例では治療前6日間で 278 ± 43 kcalで治療25日間で 248 ± 59 kcalであった。

7) 血中乳酸の変化：全例とも乳酸値とL/P比の改善を認めなかった。

8) 叙述的にのみ評価可能であった変化：8993T>C Leighでは8歳から治療開始したが、ピルビン酸治療開始後1ヶ月で寝返りが可能となり、四肢の動きが俊敏で下肢の挙上可能域が増加し、声量が増加した。複合体I+IV欠損例では治療8週間で寝返りが可能となり、四肢の動きが活発化し、眼振が減少した。9176T>C Leighでは腹臥位での頭部挙上可能時間が延びた。ミトコンドリアDNA枯渇例では四肢の運動量、挙上可能域が増加した。

D. 考察

寝たきり患者の場合、治療効果が劇的でない限り改善効果を定量的に評価するのは容易ではない。保護者や医師の観察では全例なん

らかの改善があったが、いずれも定量的に記録が困難な内容であった。ミトコンドリア病の重症度評価の国際的な評価スケールとしてNPMSがあるが、この評価方法でも寝たきり患者での評価は容易ではなく、今回の研究ではNPMSで評価した3例全例で改善を定量的に示すことは出来たが、主たる改善は主観的評価のdomainであるSection IVの改善が主体であった。GMFMは客観的評価のみであるが、今回1例のみでの評価であるが、改善を数値化可能であった。同様にPEDIでも数値化可能であり、両者は寝たきりのミトコンドリア病患者の機能評価にも使用可能であることを示唆した。

一方、WeeFIMは寝たきり患者での評価には検出力が低いと思われた。ENMC改変重症度スコアも寝たきり患者の評価は困難であった。活動量計で活動量の増加の測定を試みたが、本来歩行可能な例での活動量測定を前提に開発された装置であり、寝たきり患者の四肢の活動量測定での改善の検出は困難と判断された。血中乳酸値とL/P比は理論的には改善が期待されたが、全例有意な変化がなかった。にもかかわらず、臨床的な改善は主観的な評価のみならず、一定範囲ではあるが定量的評価法においても認められており、乳酸値やL/P比以外の何らかの生化学的マーカーが寝たきり患者に於ける臨床効果評価では必要と思われた。

E. 結論

4例の寝たきりのミトコンドリア病患者にピルビン酸治療を行った。わずかではあるが、臨床的な改善が全例に認められたが、臨床効果を定量的に評価するには、GMFMとPEDIが比較的鋭敏な方法と考えられた。ミトコンドリア病に特異的な評価方法のNPMSでも一定の改善を検出できたが、保護者の主観的評価のdomainの改善が主体であった。ピルビン酸治療で臨床的改善が見られたにもかかわらず、全例で血中乳酸値と乳酸/ピルビン酸比の改善が検出出来なかった。今後、これらの患者に於けるピルビン酸治療の改善を示す生化学的マーカーの開発も求められる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Kumada, T. Miyajima, T. Oda, N. Shimomura, H. Saito, K. Fujii, T. Efficacy and tolerability of modified Atkins diet in Japanese children with medication-resistant epilepsy. Brain Dev 2012;34(1):32-8

2) 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;1820:632-636

G. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

9. ピルビン酸脱水素酵素複合体異常症の遺伝子診断法の確立に関する研究

研究分担者 内藤悦雄 徳島赤十字ひのみね総合療育センター・小児科部長

研究要旨：現在、日本国内ではピルビン酸脱水素酵素複合体(PDHC)活性を常時測定している施設はないので、PDHC 異常症の診断には、本症の大部分の病因である E1 α サブユニット(E1 α)の遺伝子解析によって、確定診断を行っている。しかし PDHC 異常症が強く疑われる症例で E1 α 遺伝子に変異を有していないこともあるので、E1 α 以外のサブユニットの遺伝子解析の確立により、本症の遺伝子診断法を確立する。まず、E1 β サブユニット遺伝子（エクソン10個）およびプロテインX 遺伝子（エクソン11個）の解析法を確立した。最近、PDHC 異常症の診断を依頼された15例の高乳酸血症例中10例は E1 α 遺伝子変異を有していた。その他ではプロテイン X 遺伝子に病因となり得る1塩基欠失によるフレームシフト変異を有していた1症例を見出した。さらにこれらの高乳酸血症患児の治療法を検討していき、必要に応じてピルビン酸ナトリウム治療法の導入を進めていく。

A. 研究目的

現在、日本国内ではピルビン酸脱水素酵素複合体(PDHC)活性を常時測定している施設はないので、PDHC 異常症の大部分の病因である E1 α サブユニット(E1 α)の遺伝子解析によって、本症の確定診断を行っている。しかし PDHC 異常症が強く疑われる症例で E1 α 遺伝子に変異を有していないこともあるので、E1 α 以外のサブユニットの遺伝子解析の確立により本症の遺伝子診断法を確立する。

B. 研究方法

最近、全国の医療施設から高乳酸血症患児の遺伝子診断の依頼があり、PDHC異常症の可能性が高い15の高乳酸血症患児のE1 α 遺伝子解析を行った。これらの症例の臨床像を表1と表2に示した。E1 α 遺伝子に変異を有していなかった5症例についてはE1 β サブユニット(E1 β) 遺伝子（エクソン10個）とプロテインX 遺伝子（エクソン11個）のそれぞれのエクソン部位のPCRを行い、PCR産物をダイレクトシーケンスにより遺伝子解析を行った。

（倫理面への配慮） 徳島大学倫理委員会で承認を受けた説明文を用いて、主治医が診断、検体保存、研究利用について説明し、同意書に署名をしていただいた試料を用いた。

C. 研究結果

最近、全国の医療施設からPDHC異常症の可能性が高い15例の高乳酸血症患児の遺伝子診断の依頼があった。E1 α 遺伝子解析を行ったところ

10症例がE1 α 遺伝子変異を有しており、これらの遺伝子解析結果を表1に示した。10例中6例がエクソン10に変異を有していたが、p. R127W変異以外には同じ変異は認められなかった。E1 β 遺伝子（エクソン10個）およびプロテインX遺伝子（エクソン11個）のエクソン部位の遺伝子解析システムを確立させた。この解析システムを用いて、E1 α 遺伝子に変異を有していなかった5症例においてE1 β 遺伝子とプロテインX 遺伝子の解析を行った。このうちの1症例がプロテインX遺伝子に病因となり得る1塩基欠失によるフレームシフト変異を有していた（表2）。

D. 考察

PDHCはピルビン酸脱水素酵素(PDH, E1)、リポ酸アセチルトランスフェラーゼ(E2)、リポアミド脱水素酵素(E3)、ピルビン酸脱水素酵素ホスファターゼ、ピルビン酸脱水素酵素キナーゼおよびプロテインXの6種類の酵素から構成されている。PDHは α サブユニット(E1 α)2個と β サブユニット(E1 β)2個とからなる四量体であり、1個の四量体につき補酵素であるチアミンピロリン酸(TPP)が2分子結合している。PDHはPDHキナーゼによりE1 α のセリン残基がリン酸化されると不活性化され、PDHホスファターゼにより脱リン酸化されると活性化される。PDHC異常症をきたすE1 α 遺伝子とE1 β 遺伝子はそれぞれX染色体と3番染色体に局在している。その他のPDHC異常症をきたす病因酵素としてE2、E3、PDHホスファターゼおよびプロテインXが報告されており、各々の酵

素の遺伝子座も決定されている。これらの遺伝子変異の報告では、E1 α 欠損症が210例と圧倒的に多く、E1 β 欠損症は9例である。さらにE2欠損症は4例、E3欠損症は20例、プロテインX欠損症は23例、PDHホスファターゼ欠損症は3例が報告されている。このようにPDHC異常症の病因として重要なE1 α 遺伝子は11個のエクソンから構成され、390個のアミノ酸をコードしている。E1 α の遺伝子異常では点変異や欠失・挿入などのさまざまな異常が報告されている。アミノ酸置換をもたらすミスセンス変異はE1 α cDNAの5'側3/4に多くみられており、E1 α 酵素蛋白の機能部位の近くに集中している。E1 α のアミノ酸配列を大きく変化させる欠失や挿入などの変異は3'側に多く見いだされている。これらの変異はE1 α 蛋白の活性部位の機能障害や酵素安定性の障害によりPDH活性低下や酵素量の減少をきたす。このようにPDHC異常症の診断のためには本症の病因の大部分を占めているE1 α だけでなくその他のサブユニットの遺伝子解析も必要である。は20例、プロテインX欠損症は23例、PDHホスファターゼ欠損症は3例が報告されている。このようにPDHC異常症の病因として重要なE1 α 遺伝子は11個のエクソンから構成され、390個のアミノ酸をコードしている。E1 α の遺伝子異常では点変異や欠失・挿入などのさまざまな異常が報告されている。アミノ酸置換をもたらすミスセンス変異はE1 α cDNAの5'側3/4に多くみられており、E1 α 酵素蛋白の機能部位の近くに集中している。E1 α のアミノ酸配列を大きく変化させる欠失や挿入などの変異は3'側に多く見いだされている。これらの変異はE1 α 蛋白の活性部位の機能障害や酵素安定性の障害によりPDH活性低下や酵素量の減少をきたす。このようにPDHC異常症の診断のためには本症の病因の大部分を占めているE1 α だけでなくその他のサブユニットの遺伝子解析も必要である。今年度はまずE1 β とプロテインXの遺伝子解析システムを確立させた。

高乳酸血症患児15例における治療法について検討した。出生直後から呼吸障害、代謝性アシドーシスなどが出現していた5症例では人工呼吸器装着、炭酸水素ナトリウム投与、ミトコンドリ

アレスキュー薬などの投与が必要であった。栄養面では多くの症例がPDHC異常症を疑われており、PDHCを経由せずにエネルギー産生ができるケトンフォーミュラ(明治817-B)の使用が多かった。この特殊ミルクの使用により乳酸値の低下、さらに正常化も認められた。また、PDHC活性化剤であるジクロロ酢酸ナトリウム(DCA)の投与が3症例で行なわれた。これらの治療法で十分な効果が得られなければ、ピルビン酸ナトリウム治療法の導入を進めていく。

E. 結論

現在、日本国内ではピルビン酸脱水素酵素複合体(PDHC)活性を常時測定している施設はないので、PDHC異常症の診断には、本症の大部分の病因であるE1 α 遺伝子の解析によって、確定診断を行っている。しかしPDHC異常症が強く疑われる症例でE1 α 遺伝子に変異を有していないこともあるので、E1 α 以外のサブユニットの遺伝子解析の確立により、本症の遺伝子診断法を確立する。これらの高乳酸血症患児の治療法を検討して、必要に応じて、ピルビン酸ナトリウム治療法の導入を進めていく。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1)内藤悦雄：ピルビン酸脱水素酵素欠損症. 別冊 日本臨床 先天代謝異常症候群(上)ピルビン酸脱水素酵素欠損症19, 428-431, 2012.
- 2)内藤悦雄：ピルビン酸脱水素ホスファターゼ欠損症. 別冊 日本臨床 先天代謝異常症候群(上) 19, 436-438, 2012.
- 3)内藤悦雄：ピルビン酸脱水素酵素異常症. 先天代謝異常ハンドブックp140-141, 2013.

2. 学会発表

なし

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

表 1 E1 α サブユニット遺伝子変異を有したPDHC異常症患者の臨床像と遺伝子変異

症例	発症年齢	性別	臨床症状	血中乳酸/ピルビン酸値	L/P比	エクソン	遺伝子変異
1	日齢3	M	呼吸障害、代謝性アシドーシス	106/9.6	11	4	p. R127W
2	7ヵ月	F	発達遅滞、眼振、脳室拡大	48.2/3.8	12.6	10	p. R302C
3	日齢0	F	筋緊張低下、発達遅滞、脳室拡大	75.6/6.0	12.5	10	ins 8bp
4	日齢0	F	呼吸障害、脳室拡大、小脳低形成	153/11	12.9	イントロン2	117+1G>A
5	日齢0	F	呼吸障害、脳室拡大、小頭症子宮内発達遅延	63.2/6.8	9.3	10	del 4bp
6	日齢0	F	脳室拡大、中枢性尿崩症	57/5.5	10.3	10	p. R302H
7	1歳 11ヵ月	F	筋緊張低下 けいれん、Leigh脳症	69.5/6.5	10.7	4	p. R127W
8	日齢15	M	脳室拡大	123/10.1	12.1	5	p. A169V
9	1歳	F	脳室拡大、水頭症、小頭症、West症候群	41.2/3.4	12.1	10	del 4bp
10	日齢0	F	水頭症、小脳低形成、内反足、呼吸障害	121/9.6	12.6	10	ins 14bp