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
大竹　明	ミトコンドリア病：概論.	遠藤文夫	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）下ー病因・病態研究、診断・治療の進歩ー	日本臨床社	大阪	2012	623-630
大竹　明	ミトコンドリア呼吸鎖酵素複合体I欠損症.	遠藤文夫	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）下ー病因・病態研究、診断・治療の進歩ー	日本臨床社	大阪	2012	631-637

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
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 E1α gene	Brain Dev.	34	87-91	2012
Koga Y, Povalko N, Nishioka J, Katayama K,Yatsuga S, Matsuishi T	Molecular pathology of MELAS and l-arginine effects	Biochim Biophys Acta.	1820	608-14	2012
Yatsuga S, Povalko N, Nishioka J, Katayama K, Kakimoto N, Matsuishi T, Kakuma T, Koga Y, Taro Matsuoka for MELAS Study Group in Japan	MELAS: A nationwide prospective cohort study of 96 patients in Japan	Biochim Biophys Acta.	1820	619-24	2012

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Koga Y, Tanaka M, Ohta S, Wei YH	Biochemistry of mitochondria, life and intervention 2010	Biochim Biophys Acta.	1820	551-552	2012
Ikawa M, Arakawa K, Hamano T, Nagata M, Nakamoto Y, Kuriyama M, Koga Y, Yoneda M	Evaluation of systemic redox states in patients carrying the MELAS A3243G mutation in mitochondrial DNA	European Neurology	67(4)	232-237	2012
Yatsuga S, Hiromatsu Y, Sasaki S, Nakamura H, Katayama K, Nishioka K, Koga Y	A two-day-old hyperthyroid neonate with thyroid hormone resistance born to a mother with well-controlled Graves' disease: case report	J Med Case Rep	6	246-249	2012
Kami K, Fujita Y, Igarashi S, Koike S, Sugawara S, Ikeda S, Sato N, Ito M, Tanaka M, Tomita M, Soga T	Metabolomic profiling rationalized pyruvate efficacy in cybrid cells harboring MELAS mitochondrial DNA mutations	Mitochondrion	12(6)	644-653	2012
Kawamura 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
Tsurusaki et al.	A *DYNC1H1* mutation causes a dominant spinal muscular atrophy with lower extremity predominance	Neurogenetics	13	327-332	2012
Takenouchi et al.	Tissue-limited ring chromosome 18 mosaicism as a cause of Pitt-Hopkins syndrome	Am J Med Genet A	158A	2621-2623	2012
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.	35	582-585	2012

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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)	474-477	2012
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.	105(3)	404-407	2012
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.	34	32-38	2012
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	1820	632-636	2012
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
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

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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
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 Δ^4-3-oxo-steroid 5β-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
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

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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	In press		2012 Nov 16. [Epub ahead of print]
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)	54-59	2013
Yamaguchi S, Li H, Purevsuren J, Yamada K, Furui M, Takahashi T, Mushimoto Y, Kobayashi H, Hasegawa Y, Taketani T, Fukao T, Fukuda S	Bezafibrate can be a new treatment option for mitochondrial fatty acid oxidation disorders: Evaluation by in vitro probe acylcarnitine assay	Molecular Genetics and Metabolism	107	87-91	2012

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Purevsuren J, Hasegawa Y, Fukuda S, Kobayashi H, Mushimoto Y, Yamada K, Takahashi T, Fukao T, Yamaguchi S	Clinical and molecular aspects of Japanese children with medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency	Molecular Genetics and Metabolism	107	237-240	2012
Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamada K, Takahashi T, Takayanagi M, Fukao T, Fukuda S, Yamaguchi S	Intracellular in vitro probe acylcarnitine assay for identifying deficiencies of carnitine transporter and carnitine palmitoyltransferase-1	Anal Bioanal Chem	10	Online	2012
Saheki T, Inoue K, Ono H, Katsura N, Yokogawa M, Yoshidumi Y, Furuie S, Kuroda E, Ushikai M, Asakawa A, Inui A, Eto K, Kadowaki T, Sinasac DS, Yamamura K, Kobayashi K	Effects of supplementation on food intake, body weight and hepatic metabolites in the citrin/mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase double-knockout mouse model of human citrin deficiency	Mol Genet Metab	107	322-329	2012
Kikuchi A, Arai-Ichinoi N, Sakamoto O, Matsubara Y, Saheki T, Kobayashi K, Ohura T, Kure S	Simple and rapid genetic testing for citrin deficiency by screening 11 prevalent mutations in *SLC25A13*	Mol Genet Metab	105	553-558	2012
Gómez-Galán M, Makarova J, Llorente-Folch I, Saheki T, Pardo B, Satrústegui J, Herreras O	Altered postnatal development of cortico-hippocampal neuronal electric activity in mice deficient for the mitochondrial aspartate-glutamate transporter	J Cereb Blood Flow Metab	32	306-317	2012

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Wang JS, Wang XH, Zheng YJ, Fu HY, Chen R, Lu Y, Fang LJ, Saheki T, Kobayashi K	Biochemical characteristics of neonatal cholestasis induced by citrin deficiency	World J Gastroenterol.	18	5601-5608	2012
Llorente-Folch I, Sahún I, Contreras L, Casarejos MJ, Grau JM, Saheki T, Mena MA, Satrústegui J, Dierssen M, Pardo B	AGC1-malate aspartate shuttle activity is critical for dopamine handling in the nigrostriatal pathway	J Neurochem	124	347-362	2012
Yazaki M, Kinoshita M, Ogawa S, Fujimi S, Matsushima A, Hineno A, Tazawa KI, Fukushima K, Kimura R, Yanagida M, Matsunaga H, Saheki T, Ikeda S	A 73-year-old patient with adult-onset type II citrullinemia successfully treated by sodium pyruvate and arginine	Clin Neurol Neurosurg.			2013
Torisu H, Yoshikawa Y, Yamaguchi-Takada Y, Yano T, Sanefuji M, Ishizaki Y, Sawaishi Y, Hara T	Alexander disease with mild dorsal brainstem atrophy and infantile spasms	Brain Dev.	35	441-444	2012
古賀靖敏	ミトコンドリア病の治療．薬物治療．	Clinical Neuroscience別冊	30(9)	1058-1063	2012
古賀靖敏	ミトコンドリア病 - アルギニン療法，ピルビン酸ナトリウム療法など - クローズアップ、ここまで治せるようになった先天代謝異常	小児内科	10	1653-1656	2012
古賀靖敏	ミトコンドリア脳筋症	神経・筋疾患		638-639	2012
古賀靖敏	ミトコンドリア病	小児内科	第4版 Vol.44	724-727	2012
古賀靖敏	ミトコンドリア病の治療	生体の科学	63(5)	442-443	2012
古賀靖敏	世界に先駆けたミトコンドリア脳筋症の効果的な治療法の開発	難病と在宅のケア 筋ジストロフィーのすべて			2012

研究成果の刊行物・別刷

ミトコンドリア病：概論

The overview of mitochondrial respiratory chain disorders

Key words：ATP，ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症(MRCD)，致死型乳児ミトコンドリア病(LIMD)，次世代シークエンサー，エキソーム解析

大竹　明

はじめに

ミトコンドリアの役割は多数あるが，最も大切なのはエネルギー(ATP)の生合成であり，その役割を担うのが呼吸鎖複合体である．したがって，'ミトコンドリア病はミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症(mitochondrial respiratory chain disorders: MRCD)である'と考えると，その成因・病態，更には診断・治療に対する解釈が飛躍的に深まる(**図1**)．

1．ミトコンドリア呼吸鎖[1)]

ラボアジェが'生命は燃焼により支えられている'という概念を提唱し，やがてミトコンドリアが'powerhouse of the cell(細胞内の発電所)'として脚光を浴びた．真核生物は，主に炭水化物を酸素を用いて燃焼させ，それにより莫大なエネルギーを得ている．その反応は細胞内のミトコンドリアで起こる．このメカニズムの発見におけるブレークポイントが，'エネルギーの通貨'といわれるATPと他の高エネルギーリン酸化合物の発見であった．実に1日で体重の半分の重量にもなるATPが生成され消費されている計算になる．

生体内におけるATP生成反応は下記の2つである．

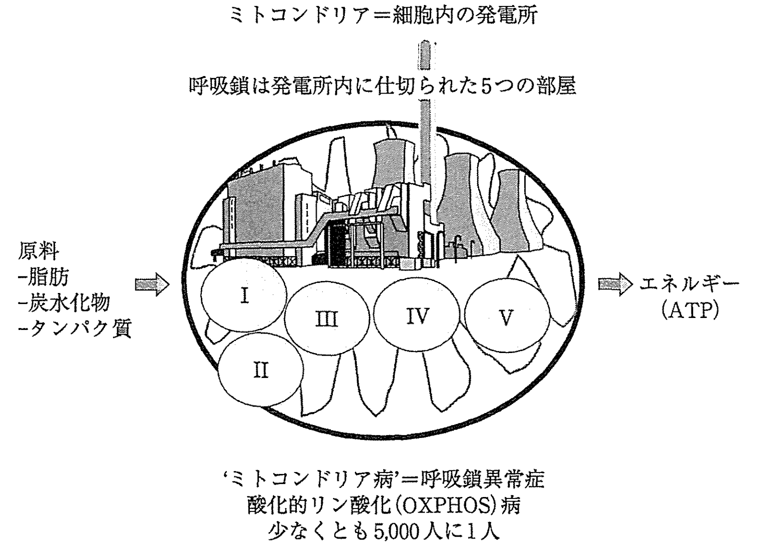


図1　ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症(mitochondrial respiratory chain disorders: MRCD)としてのミトコンドリア病

Akira Ohtake: Department of Pediatrics, Saitama Medical University　埼玉医科大学 小児科

0047-1852/12/¥60/頁/JCOPY

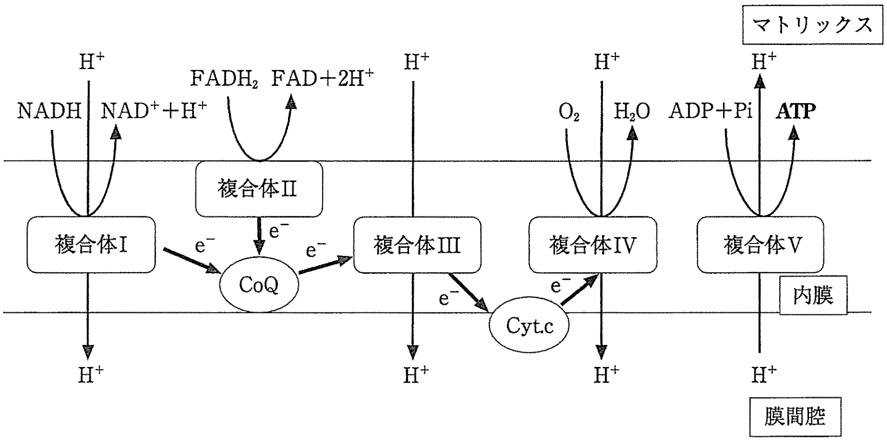


図2 ミトコンドリア呼吸鎖複合体
CoQ: コエンザイム Q, Cyt. c: シトクローム C.

表1 電子伝達系(呼吸鎖複合体 I–IV)の反応

呼吸鎖複合体 I: $NADH+Q+H^+ \rightarrow NAD^+ + QH_2$
呼吸鎖複合体 II: $succinate+Q \rightarrow fumarate+QH_2$
呼吸鎖複合体 III: $QH_2+2cyt\ c(Fe^{3+}) \rightarrow Q+2cyt\ c(Fe^{2+})+2H^+$
呼吸鎖複合体 IV: $4cyt\ c(Fe^{2+})+4H^+ + O_2 \rightarrow 4cyt\ c(Fe^{3+})+2H_2O$

Q: コエンザイム Q, QH_2: 還元型コエンザイム Q, cyt c(Fe^{3+}): 酸化型シトクローム C, cyt c(Fe^{2+}): 還元型シトクローム C.

1) 解　糖

1分子のブドウ糖が2分子の乳酸に転換される間に2分子のATPを生成する. 迅速な反応でアロステリック効果で速度の調節も可能であり, 初期の筋肉運動で利用されている. その反面, 非効率で乳酸がすぐに蓄積し長時間の維持は不可能である.

2) 酸化的リン酸化

ブドウ糖の炭酸ガスへの完全なる酸化で, 1分子のブドウ糖から35–36分子のATP(臓器により異なる)を生成する. このATP産生とそれに伴い生成されたNADH, $FADH_2$のNAD^+, FADへの再酸化を行うのが呼吸鎖複合体である(**図2**). 電子伝達系は複合体I〜IVまでを指し, 呼吸鎖はI〜IVの電子伝達系複合体にATP合成酵素(複合体V)を加えた総称である. 各複合体の生体内での存在比率はウシ心臓ミトコンドリアで調べられており, I : II : III : IV : V= [1.1±0.2] : [1.3±0.1] : [3] : [6.7±0.8] : [3.5±0.2]と報告されている[2].

呼吸鎖は2つの部分に分けて考える. 前半は複合体I〜IVまでで, その連動した働きで電子(e^-)伝達が行われるが, これはミトコンドリアマトリックスから膜間腔へのプロトン(H^+)の汲み出しを伴う. この電子伝達がスムースにいくように各複合体は互いに寄り添い, 更なる大分子複合体である超複合体を形成する. その詳細はまだ不明の点が多いが, 哺乳類においては少なくともI, III, IVが超複合体を形成していることが知られている[2].

以上4つの反応をまとめると**表1**のようになる.

後半は, 逆にこの膜間腔に蓄積したプロトン(H^+)をマトリックスへ汲み上げる力を利用し, 分子モーターである呼吸鎖複合体V(ATPase)がATPを生成する.

表2　ミトコンドリア病の臨床症状

<The A to Z of mitochondrial neuromuscular disease symptoms>

Adult-onset myopathy	Neuropathy
Basal ganglia signs	Ophthalmoplegia
Cardiomyopathy	Poor head control
Dystonia	Questionable diagnosis
Exercise intolerance	Rhabdomyolysis
Failure to thrive	Spastic paraplegia
Gut dysmotility	Tremor
Hypotonia	Unexplained association of symptoms
Infantile encephalomyopathy	Valproate intolerance
Juvenile-onset strokes	Wasting
Kyphosis	Xertional myoglobinuria
Leukodystrophy	Yo-yo-ing clinical course
Myoclonic epilepsy	Zestlessness

David R Thorburn 氏(Murdoch Childrens Research Institute, Melbourne, Australia)からの私信.

いかなる症状, いかなる臓器・組織, 何歳でも, いかなる遺伝形式でも

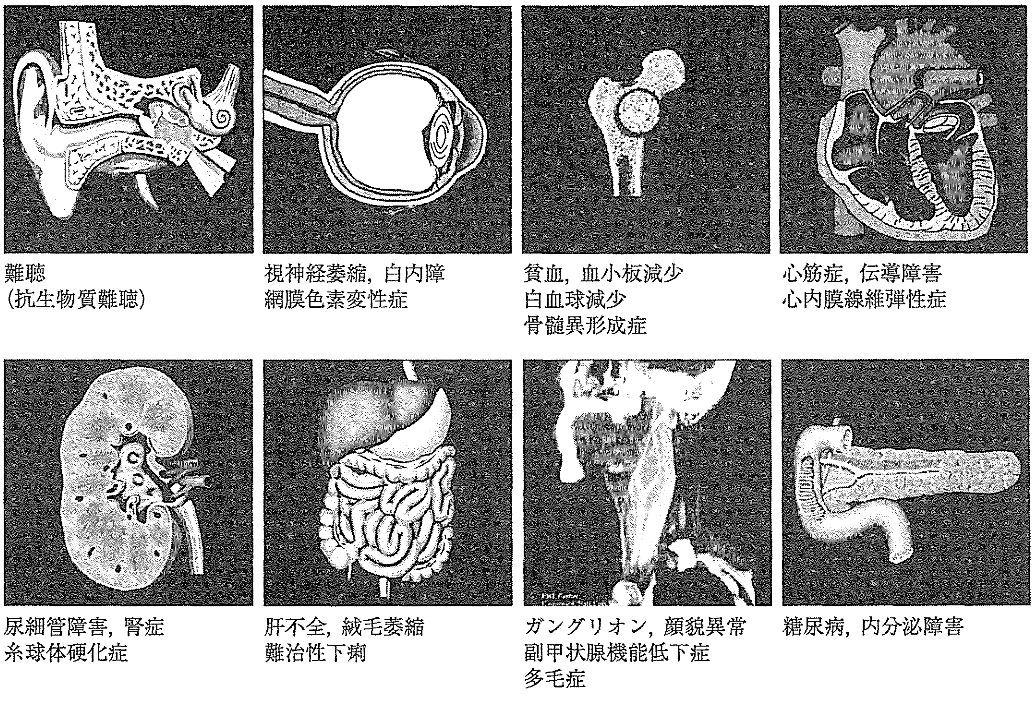


図3　ミトコンドリア病の発症形態

(Munnich A, Rustin P(Am J Med Genet 106: 4-17, 2001)ほかを改変)

2. ミトコンドリア病の臨床

いかなる症状, いかなる臓器・組織, 何歳でも, そしていかなる遺伝形式でも発病しうるのがミトコンドリア病である(表2, 図3). 従来神経・筋肉の病気と考えられていたが, ミトコ

ンドリア心筋症，肝症など単独の臓器障害を呈するミトコンドリア病も多い．これらを加えれば最も多いエネルギー代謝系の先天代謝異常症であり，出生5,000人に1人[3]とされる．

呼吸鎖はミトコンドリア遺伝子と核遺伝子の共同作業で生合成される(**図4**)．したがってミトコンドリア病は，ミトコンドリア遺伝(母系遺伝)形式以外に常染色体優性・劣性，X連鎖のすべての遺伝形式で発病しうる．特に幼小児期発症例は症状が多彩で重篤な症例が多く，その9割以上は核遺伝子異常によるものである[4]．①脳筋症状，②消化器・肝症状，③心筋症状が3大症状とされる．従来ミトコンドリア病の主体とされてきた，いわゆる‘ミトコンドリア脳筋症’は比較的軽症のミトコンドリア病に属し，年長発症例に多い．

3. ミトコンドリア病の酵素(生化学)診断

図5に著者らが診断したミトコンドリア病の臨床診断の内訳を示す．従来からいわれている神経・筋症状を中心とする患者は，Leigh脳症38例，はっきりした原因の同定できなかった神経変性疾患11例，いわゆるミトコンドリア脳筋症38例の合計87例で87/232=37%になる．裏を返せばそれ以外が2/3を占めることになり，その中でも致死型乳児ミトコンドリア病(lethal infantile mitochondrial disease: LIMD)が41例で，同様の経過で発症しながら1歳以上まで存命した非致死型乳児ミトコンドリア病(non lethal infantile mitochondrial disease: NLIMD)と合わせると59例に達し，臨床診断として圧倒的多数を占める．LIMDとは新生児期に発症する高乳酸血症を伴う多臓器不全で，多くは不慮の転帰をとり，従来はその多くが診断されずに原因不明のまま亡くなっていたものと考えられる．

また心筋症[5]，肝症など単独臓器障害のみを示すミトコンドリア病の存在も忘れてはならない．ミトコンドリア肝症と心筋症は罹患臓器以外で異常の検出される割合が極めて低く，生検あるいは剖検による罹患臓器を用いた呼吸鎖の検索が必須となる[6]．特にミトコンドリア心筋症は他臓器症状の出現率が極めて低く，心臓移植の良い適応となる．他疾患のしっかりと除外された原因不明の心筋症の場合，ミトコンドリア心筋症診断のために心筋生検が必要との報告[7]もあり，著者らも国立成育医療研究センターとの共同研究で，生検心筋数mgを用いた呼吸鎖酵素活性測定に成功している．

酵素(生化学)診断においては組織特異性には非常な注意が必要であり，正確な診断のためにはできるだけ多くの細胞・臓器の収集・解析が必要となる．特に心筋症・肝症では罹患臓器そのものの解析が必須であることは上述したが，これに対しLeigh脳症など神経・筋症状中心のものは皮膚線維芽細胞でも異常の検出率は高い．つまり幼小児期発症の重篤な患者ほど罹患臓器の解析が必要となるが，年長児・成人発症の神経・筋症状を中心とする患者では侵襲の少ない皮膚線維芽細胞の解析も意義がある．

最近のトピックとしてSIDS/SUDと診断されていた患者におけるミトコンドリア異常症の頻度の高さ[8]があげられる．この論文中でYamamotoらは，不幸にして亡くなった患者における皮膚線維芽細胞を含む複数の細胞・臓器・組織保存の重要性を説いている．

4. ミトコンドリア病の遺伝子診断

核遺伝子異常の探索とその機能解明が現在の病態解明の中心であり，その結果新しい治療法も生まれつつある．**図6**にミトコンドリア病病因遺伝子発見の歴史を示す．当初はミトコンドリア遺伝子異常の報告が中心であった．しかし最近は逆転し，著者のまとめたところでは，ミトコンドリア遺伝子異常の病因としての報告が37遺伝子中34遺伝子でほぼ終了しているのに対して，核遺伝子の病因としての報告は102遺伝子を数えている．

図7に著者らが最近推し進めている，ミトコンドリア病の診断・病態解明から病因遺伝子診断・新規治療法開発までのロードマップを示す．どのような患者に対しミトコンドリア病を疑うべきかについては上述したが，更に詳しくは別

ミトコンドリア呼吸鎖→核とMtの共同作業

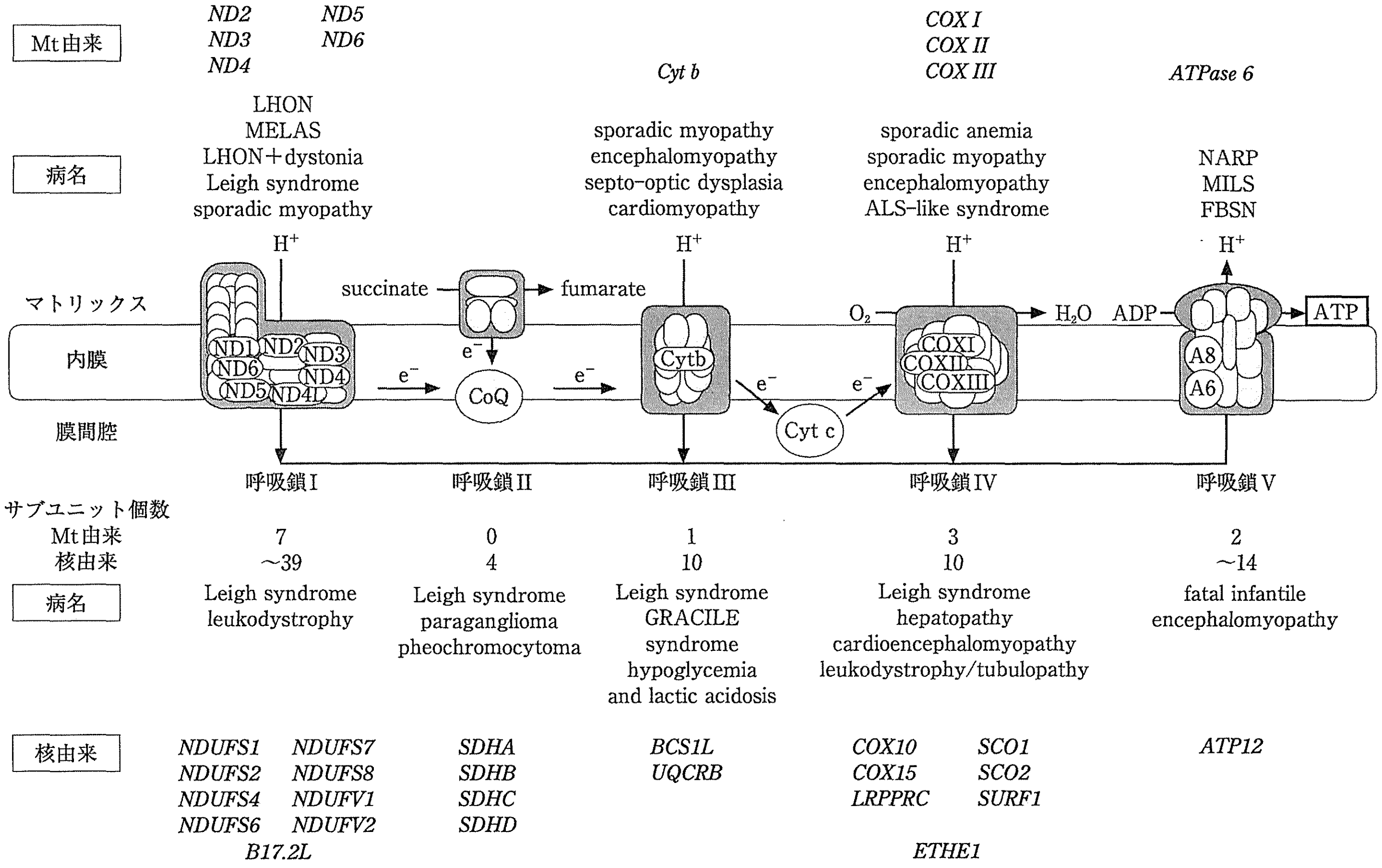


図4　ミトコンドリア呼吸鎖は，核とミトコンドリアの共同作業で生合成される
(DiMauro S，Schon EA: Mitochondrial Medicine，Informa，2006. より引用)

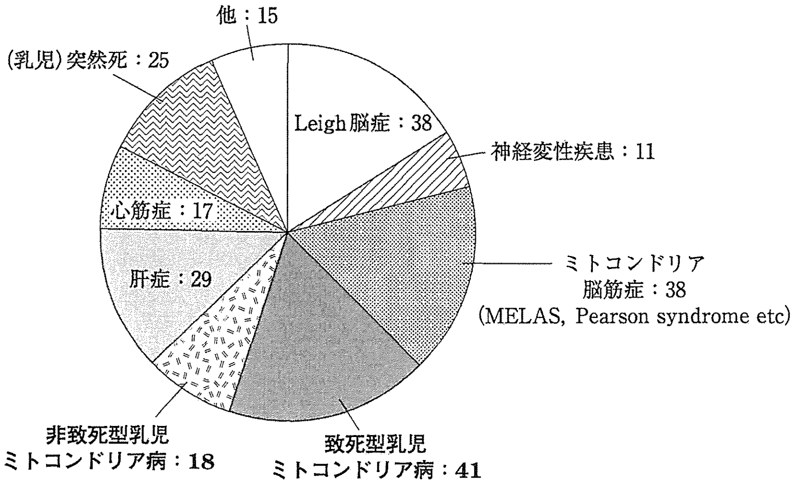


図5　ミトコンドリア病の臨床診断(n=232)
(埼玉医科大学・千葉県こども病院，2012.3.31現在)

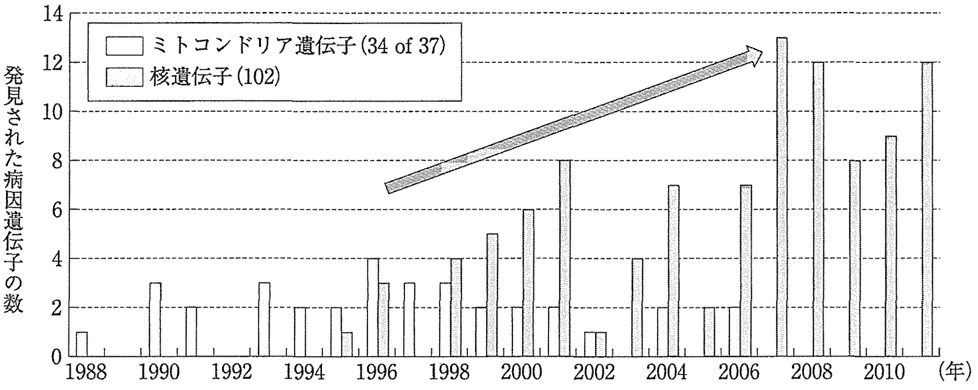


図6　ミトコンドリア病病因遺伝子発見の歴史

の成書[9]を参照されたい．臨床的にミトコンドリア病を疑う症例がいたら，患者への侵襲を考えまずは血液を用いたミトコンドリア遺伝子異常の検索を行うことも大切である．しかしその際には，ミトコンドリア遺伝子に病因の見つかる可能性が低いことを念頭に置いたうえで行うべきである．そしてできれば時を同じくして呼吸鎖複合体酵素活性とblue native電気泳動[10]を用いた複合体量の解析を始めることがミトコンドリア病の迅速な解析につながる．呼吸鎖異常の認められた症例については，ミトコンドリア遺伝子と既知の核遺伝子を含むカスタムキャプチャーアレイでスクリーニング後，次世代シークエンサーで全染色体遺伝子のエキソーム解析を行う．見つかった候補遺伝子については，まずレスキュー実験で病因であることを確定する．未知の遺伝子についてはiPS細胞などを用いた解析でその機能を確認し，最終的に創薬・治療へとつなげようとする試みである．

図8に2012年6月現在の全エキソーム解析の結果を示す．41例についての解析が終了し，うち10例で既報告の，8例に未報告の病因候補遺伝子が見つかっている．まだ残り23例で候補遺伝子が発見されておらず，今後の大きな課題である．

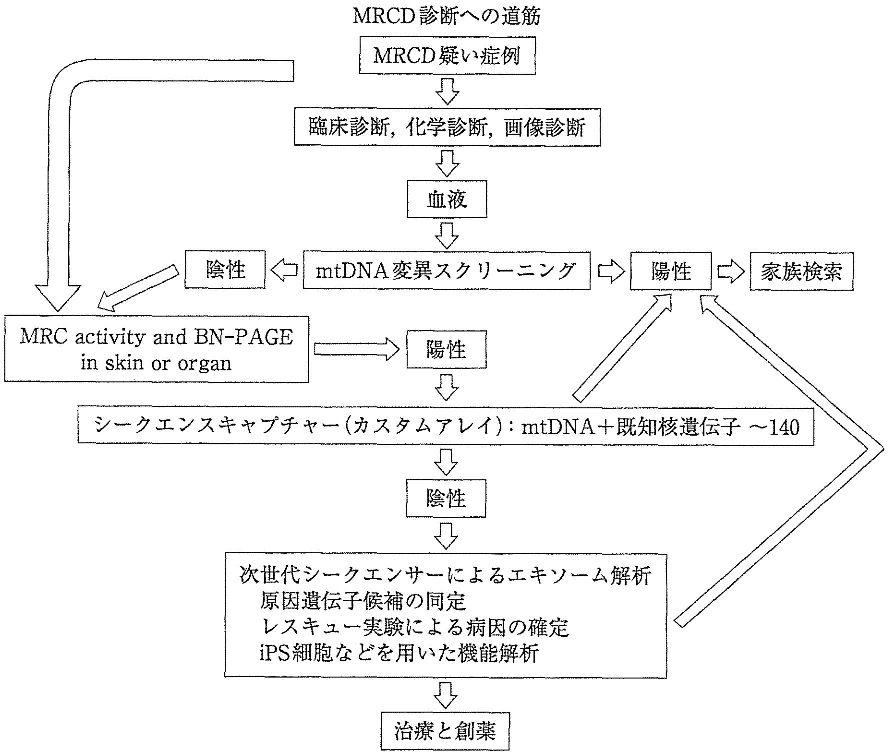
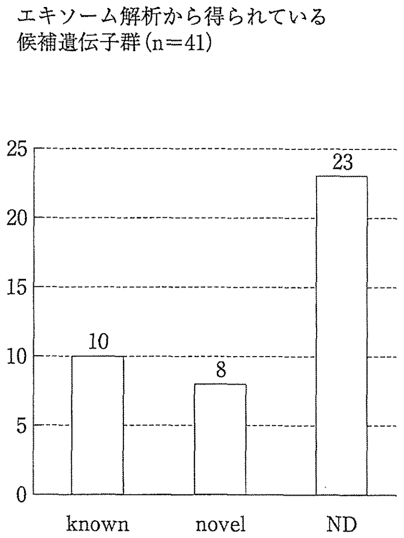


図7 ミトコンドリア病の診断・病態解明から病因遺伝子診断・新規治療法開発までのロードマップ



既知

1: *SURF1*: 呼吸鎖IV生合成
2: *NDUFA10*: 呼吸鎖Iサブユニット
3: *ABCB7*: *MRCD*としての報告はなし
4: *ACAD9*: アシル-CoA脱水素酵素9
5: *RARS2*: Arg-tRNA合成酵素
6: *COX10*: 呼吸鎖IV生合成
7: *NDUFA1*: 呼吸鎖Iサブユニット
8: *C8orf38*: 呼吸鎖I生合成
9: *HCCS*: 呼吸鎖IV生合成
10: *SLC25A4*: ADP/ATPトランスロカーゼ1

未知

1: コエンザイムQ生合成
2: 呼吸鎖Iサブユニット
3: コレステロール代謝に関係
4: ミトコンドリア内膜に存在するプロテアーゼ
5: ピルビン酸脱水素酵素の調節
6: 補体結合タンパク
7: ヘム生合成系タンパク
8: 脂肪酸β酸化系酵素

図8 全エキソーム解析の結果
(2012年6月末現在)

おわりに

ミトコンドリア病はすべての科の医師がその存在を知っておくべき病気であり，単一病因では説明のできない多臓器にまたがる症状の存在するときには，たとえ高乳酸血症が存在しなくとも常に鑑別に入れておく必要がある(**図9**)．ミトコンドリア病を正確に病因診断し有効な新規治療法を開発するためには，ミトコンドリア病をミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症(mitochondrial respiratory chain disorders: MRCD)ととらえることが出発点となる．

ミトコンドリア病は
まずその存在を疑って診断する

1. 高乳酸血症
(高乳酸尿症・高アラニン血症・髄液中乳酸高値)
2. 単一病因では説明のできない
多臓器にまたがる症状

⇩

呼吸鎖酵素活性と量

皮膚線維芽細胞
−80℃保存の凍結臓器(肝，筋，心筋)

図9　呼吸鎖複合体の解析がミトコンドリア病を解釈するうえでの基本となる
(埼玉医科大学・千葉県こども病院)

文　献

1) Scheffer IE: The human OXPHOS system: structure, function and physiology. In: Oxidative Phosphorylation in Health and Disease (ed by Smeitink JAM, et al), p 1–27, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2010.
2) Schägger H, Pfeiffer K: The ratio of oxidative phosphorylation complexes I–V in bovine heart mitochondria and the composition of respiratory chain supercomplexes. J Biol Chem **276**: 37861–37867, 2001.
3) Skladal D, et al: Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children. Brain **126**: 1905–1912, 2003.
4) Gibson K, et al: Mitochondrial oxidative phosphorylation disorders presenting in neonates: clinical manifestations and enzymatic and molecular diagnoses. Pediatrics **122**: 1003–1008, 2008.
5) 内藤幸恵ほか：ミトコンドリア呼吸鎖の酵素活性により診断された新生児ミトコンドリア心筋症．日未熟児新生児会誌 **21**: 51–55, 2009.
6) 藤浪綾子ほか：ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症における肝疾患の現状．日小児栄消肝会誌 **25**: 69–74, 2011.
7) Rustin P, et al: Endomyocardial biopsies for early detection of mitochondrial disorders in hypertrophic cardiomyopathies. J Pediatr **124**: 224–228, 1994.
8) Yamamoto T, et al: Metabolic autopsy with postmortem cultured fibroblasts in sudden unexpected death in infancy: Diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders. Mol Genet Metab **106**: 474–477, 2012.
9) 大竹　明，村山　圭：ミトコンドリア呼吸鎖異常症．見逃せない先天代謝異常，小児科臨床ピクシス 23 (五十嵐　隆総編集，高柳正樹専門編集), p 210–213, 中山書店, 2010.
10) 大竹　明，原島宏子：分子生物学 basic technique　その52　BN-PAGE: Blue native polyacrylamide gel electrophoresis. THE LUNG perspectives **16**: 533–536, 2008.

XIII ミトコンドリア病

ミトコンドリア呼吸鎖酵素複合体I欠損症

Mitochondrial respiratory chain complex I deficiency

Key words：NADH-ユビキノン酸化還元酵素，Leigh脳症，酵素診断，エキソーム解析，リボフラビン

大竹 明

はじめに

ミトコンドリア呼吸鎖酵素複合体I(complex I)欠損症はミトコンドリア呼吸鎖異常症(mitochondrial respiratory chain disorders: MRCD)，つまりミトコンドリア病のプロトタイプとも考えられる疾患である．いかなる症状，いかなる臓器・組織，何歳でも，そしていかなる遺伝形式でも発症しうる．

1．概念・定義

complex Iは，NADH-ユビキノン酸化還元酵素ともいわれ，少なくとも45個のサブユニットよりなる[1]．すべてのcDNAはヒトを含む数種の生物でクローニングされており，ヒトにおける遺伝子の局在も判明している．核由来サブユニットは38個で，うち2個はX染色体局在で残りは常染色体局在である．ミトコンドリア遺伝子(mtDNA)に由来するのは7個(ND1，2，3，4，4L，5，6)で，これらは他の7個の核遺伝子(nDNA)由来サブユニット(NDUFV1，FV2，FS1，FS2，FS3，FS7，FS8)とともに前核生物とも相同性の高い基本ユニットを形成し，コアサブユニットと呼ばれる．真核生物におけるcomplex I解明の歴史は，真核生物にのみ認められる残り31個のサブユニットの機能解明の歴史と重なる．図1に哺乳類complex Iの模式図[2]を示す．マトリックスアーム(Nモジュール，Qモジュール)と内膜アーム(Pモジュール)からなり，100°の角度でL字型構造を形作る．

このcomplex Iの活性低下によりエネルギー産生が低下して，各種臓器障害を引き起こす疾患をcomplex I欠損症と総称する．

2．疫　学

complex I欠損症は，MRCDの中で最多で，欧米人においても日本人においてもMRCDの40-45％がcomplex I欠損症に当たる[3]．MRCDの頻度を5,000人に1人と見積もる[4]と，complex I欠損症の頻度は約10,000人に1人となり，最も頻度の高い先天代謝異常症である．更に著者らの解析では，MRCD中complex I単独欠損についで多い複合型欠損症もその大部分がcomplex I欠損を伴っており[3]，これを考え合わせると，実にMRCD全体の約80％がcomplex I欠損を伴う．

3．病　因

complex Iは図1に示すNモジュールの先端で，NADHを酸化して2個の電子を産生する．電子は主にQモジュールの働きで，フラビンモノヌクレオチド(FMN)と鉄-硫黄(Fe-S)クラスターを介して，電子伝達系における最初の動的電子受容体であるユビキノン(コエンザイムQ)に渡される．この電子伝達と共役して，complex IのPモジュールはミトコンドリアマトリックスから膜間腔へプロトンを汲み上げる．complex Iがプロトンを汲み上げる比率は，電子2個に対してプロトン4個になり電荷的に相同ではない．呼吸鎖I，III，IV全体では電子1個につき5個のプロトンを汲み上げる計算になり，これがミトコンドリアの膜電位勾配，つまりは電気的エネルギーを形成することになる．この膜電位勾配が，V番目の呼吸鎖である

Akira Ohtake: Department of Pediatrics, Saitama Medical University 埼玉医科大学 小児科

0047-1852/12/¥60/頁/JCOPY

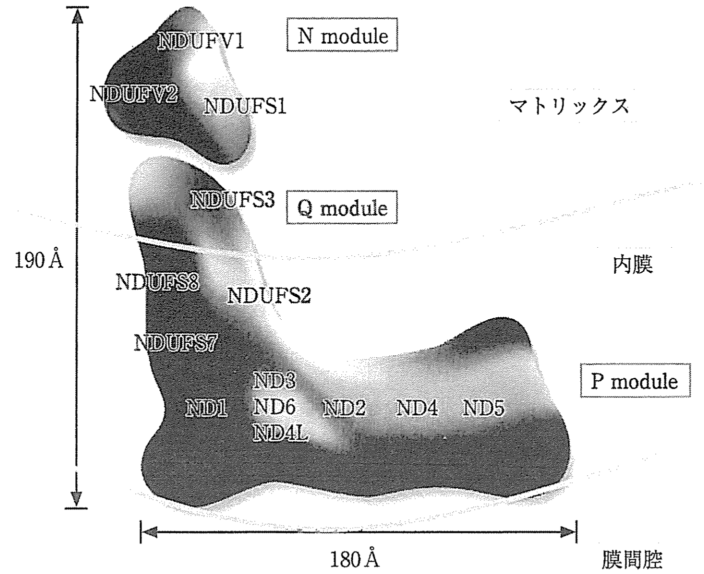


図1　哺乳類呼吸鎖複合体Iの模式図
(文献[2]より改変)

マトリックスアーム(Nモジュール，Qモジュール)と内膜アーム(Pモジュール)が100°の角度でL字型構造を形作る．Nモジュール：NADH脱水素酵素(NADH dehydrogenase)モジュール，Qモジュール：電子伝達(electron transfer)モジュール，Pモジュール：プロトンポンピング(proton translocation)モジュール．コアサブユニットのみサブユニット名を記す(紫は核遺伝子由来，緑はミトコンドリア遺伝子由来)．

ATPaseの構造変化を引き起こしATPが生成される．

complex Iは980kDaにもなる大分子複合体であり，mtDNA由来サブユニットが7個，nDNA由来サブユニットが38個であることは上述したが，欠損症の病因として報告のあるサブユニット遺伝子異常を**表1**に示す．コアサブユニット以外のnDNA由来サブユニットはいまだ機能不明のものも多いが，今後これらの欠損症患者の解析を通して機能が明らかになるものも多いであろう．最終的に構造単位に含まれるサブユニット以外にも，complex Iは多数のアセンブリー因子の助けを借りて生合成される．これらアセンブリー因子のうち，病因として報告のあるもの[5-21]を**表2**に示した．アセンブリー因子の詳細については字数の関係で本稿では触れないが，文献2)に詳しいので参照されたい．

更に注意すべきは，complex Iには最も多くのmtDNA由来サブユニットタンパクが含まれているため，mtDNAの複製・転写障害(mt tRNA遺伝子異常や核由来の複製・転写調節遺伝子の異常)でも，特に初期はcomplex I単独欠損の場合も多いことである．これらの多くは病期が進めばその多くは複合型欠損症に変化する．

4. 病　　態

complex I欠損症は，エネルギー産生系の臓器障害を中心に極めて多彩な症状・病型を示す．多数の臓器が同時に犯されることも，単一臓器のみの場合(心筋症や視神経症など)もある．代表的病型としては，致死型乳児ミトコンドリア病(lethal infantile mitochondrial disease: LIMD)，Leigh脳症，白質脳症，ミトコンドリア脳筋症，高乳酸血症，卒中様発作を伴う症候群(mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes: MELAS)，心筋症などであるが，その中からここでは乳児期の

表1 ミトコンドリア病を引き起こす呼吸鎖複合体Iサブユニット異常症(文献[2]より改変)

	ヒトサブユニット名	ウシホモログ	モジュール	臨床病型
ミトコンドリア遺伝子由来	ND1	ND1	P	LHON[a], MELAS[b], LS[c]
	ND2	ND2	P	LS
	ND3	ND3	P	LS, LIMD[d]
	ND4	ND4	P	LHON, LS
	ND4L	ND4L	P	LHON
	ND5	ND5	P	LS, MELAS, LHON
	ND6	ND6	P	LS, LHON, ジストニア
核遺伝子由来	NDUFA1	MWFE		LS, ミトコンドリア脳筋症
	NDUFA2	B8		LS
	NDUFA10	42 kDa		LS
	NDUFA11	B14.7		LIMD, ミトコンドリア脳筋症, ミトコンドリア心筋症
	NDUFA12	B17.2		LS
	NDUFS1	75 kDa	N	LS, 白質ジストロフィー
	NDUFS2	49 kDa	Q	LS, LIMD, ミトコンドリア脳筋症, ミトコンドリア心筋症
	NDUFS3	30 kDa	Q	LS
	NDUFS4	18 kDa	N	LS
	NDUFS6	13 kDa	N	LIMD
	NDUFS7	PSST	Q	LS
	NDUFS8	TYKY	Q	LS, ミトコンドリア脳筋症, ミトコンドリア心筋症, 白質ジストロフィー
	NDUFV1	51 kDa	N	LS, ミトコンドリア脳筋症
	NDUFV2	24 kDa	N	ミトコンドリア脳筋症, ミトコンドリア心筋症

[a]LHON: Leber遺伝性視神経症(Leber hereditary optic neuropathy).
[b]MELAS: ミトコンドリア脳筋症, 高乳酸血症, 卒中様発作を伴う症候群(mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes).
[c]LS: Leigh脳症(症候群).
[d]LIMD: 致死型乳児ミトコンドリア病(lethal infantile mitochondrial disease).

表2 呼吸鎖Iアセンブリー因子異常症(文献[2]より改変)

アセンブリー因子	臨床病型	文献
C20orf7	LIMD[a], LS[b]	5-7)
Ndufaf3(C3orf60)	LIMD	8)
Ndufaf4(C6orf66)	LIMD, ミトコンドリア心筋症	9)
Ndufaf1(CIA30)	ミトコンドリア心筋脳症	10, 11)
ACAD9	ミトコンドリア心筋症, ミトコンドリア脳筋症, 運動不耐症, 難聴, 低身長	12-14)
Ndufaf2(B17.2L, NDUFA12L)	LS, ミトコンドリア脳筋症	15-18)
NUBPL(Ind1)	ミトコンドリア脳筋症	18, 19)
C8orf38	LS	20)
FOXRED1	LS	18, 21)

[a]LIMD: 致死型乳児ミトコンドリア病(lethal infantile mitochondrial disease).
[b]LS: Leigh脳症(症候群).

表3 ミトコンドリア遺伝子異常による Leigh 脳症

遺伝子シンボル	診断材料	MRCD による Leigh 脳症中の割合
MT-ATP6 m.8993T>G or C	WBC DNA	10-20 %
ATP6, TL1, TK, TW, TV, ND1, ND2, ND3, ND4, ND5, ND6, CO3	muscle DNA (hair follicles, urine sediment cells)	10-20 %

表4 呼吸鎖複合体欠損を伴う核遺伝子異常による Leigh 脳症
(MRCD による Leigh 脳症中の約 70 % に相当する)

欠損する呼吸鎖複合体	病 名	遺伝子シンボル
I	呼吸鎖 I 欠損を伴う Leigh 脳症	*NDUFV1, FS1, FS2, FS3, FS4, FS7, FS8, FA1, FA2, FA10, FAF2, C8orf38, C20orf7, FOXRED1,* ほか未知遺伝子
II	呼吸鎖 II 欠損を伴う Leigh 脳症	*SDHA*
IV	シトクローム c オキシダーゼ (呼吸鎖 IV) 欠損を伴う Leigh 脳症	*SURF1, COX10, COX15,* ほか未知遺伝子
	French-Canadian または Saguenay-Lac Saint Jean 型	*LRPPRC*
II+III	コエンザイム Q_{10} 欠損症	*PDSS2,* ほか未知遺伝子
I, III+IV	ミトコンドリア DNA 枯渇症候群	*POLG, SUCLG1,* ほか未知遺伝子
I, III+IV	mtDNA 転写・翻訳障害	*C12orf65,* ほか未知遺伝子

代表的なミトコンドリア病である Leigh 脳症についてまとめてみる.

Leigh 脳症とは狭義には以下の 4 つの条件を満たす疾患と定義される[22]. ①精神運動発達の退行を伴った進行性の神経疾患, ②不随意運動, 哺乳嚥下障害, 呼吸障害, 眼球運動障害, 失調などの, 脳幹 and/or 大脳基底核症状を伴う, ③血中 and/or 髄液中の乳酸濃度の上昇, ④次のうちの 1 つ以上 : (i) 画像上の対称性基底核・脳幹病変, (ii) 典型的神経病理学的変性 (海綿状壊死), (iii) 同様症状の同胞の存在.

病因としては MRCD 以外にピルビン酸脱水素酵素欠損症, ピルビン酸カルボキシラーゼ欠損症, コエンザイム Q 欠損症などが挙げられるが, ここでは Leigh 脳症の病因としての MRCD[23] を説明する. MRCD による Leigh 脳症中, **表 3** に示す mtDNA 異常が全体の約 30 % で, **表 4** に示す nDNA 異常が 70 % である. 病因検索においては, まず血液を用いて m.8993 変異の有無を確認し, それに異常のない場合には mtDNA 全周塩基配列決定を行う. 更にこれと並行して, 低下した呼吸鎖複合体活性に基づき, 解析する nDNA 候補を推測する. しかしそれでも病因のわからない場合も多く, 概論の稿に示した次世代シークエンサーを用いた全エキソーム解析結果に待つ場合も多い.