

れた症例が各1例みられたが、その他には短期的副作用は見られなかった。2-3歳までの身長増加に著変はなかったが、長期大量使用において、3歳以降の身長増加が不良となる症例があった。

(2) 父由来のK_{ATP}チャンネル片アリアル異常をもつ症例では比較的必要量が少なく、夜間コーンスターチ以外の追加治療を必要としなかった症例がほとんどであった。この傾向は、PET上のびまん性、局所性で異ならなかった。オクトレオチド使用量は経過とともに減少する傾向があり、うち、2例ではそれぞれ5歳、3歳で治療終了できた。

(3) 両アリアル変異の3症例では完全なコントロールが困難で、2例に追加治療を必要とした。1例は胃瘻造設にて夜間持続注入、1例は膵部分切除の上でオクトレオチドを継続した。

(4) 一部症例では、当初頻回皮下注射が行われ、有効性確認の後に持続皮下注射に移行していた。持続皮下注射に移行した症例では、血糖値の安定化がえられるとともに在宅医療が可能となり、さらにオクトレオチドの必要量も減少する傾向であった。

D. 考察

本研究により、従来から示唆されていたオクトレオチド皮下注射の先天性高インスリン血症に対する有効性と一定のレベルの安全性が確認できた。ジアゾキサイド不応性本症の大部分を占めるK_{ATP}チャンネル性の本症では、両アリアル変異によるびまん性病変と父由来片アリアル変異による局所性病変が存在する。本研究により、片アリアル病変の方がコントロールが容易で、全例がオクトレオチドのみで管理可能となったのに対し、両アリアル変異では有効性は確認でき輸液

からの離脱は可能となったものの、片アリアル変異と比較すると大量の使用が必要で経腸栄養などの補助治療が必要な可能性が高いことも明らかになった。

E. 結論

オクトレオチド皮下注射療法は、ジアゾキサイド無効が一般的なK_{ATP}チャンネル性先天性高インスリン血症に対して有効である。局所切除が容易でない症例では、長期持続皮下注射で治癒を得られる可能性もあり、今後のさらなる検討が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

(論文・著書発表)

1) Yorifuji T, Kawakita R, Hosokawa Y, Fujimaru R, Matsubara K, Aizu K, Suzuki S, Nagasaka H, Nishibori H, Masue M. Efficacy and safety of long-term, continuous subcutaneous octreotide infusion for patients with different subtypes of K(ATP) -channel hyperinsulinism. Clin Endocrinol (Oxf). 2013;78:891-7.

(学会発表)

1) 2012/9/29 依藤 亨、川北理恵、細川悠紀、藤丸季可、増江道哉、西堀弘記、松原康策、会津克哉、鈴木 滋 K_{ATP}チャンネル性先天性高インスリン血症のオクトレオチド持続皮下注射療法 第46回日本小児内分泌学会学術集会 (大阪)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

18F-DOPA PET 検査による先天性高インスリン血症の 膵臓病変局在診断の有用性と限界に関する研究

研究分担者 増江 道哉 木沢記念病院小児科部長
西堀 弘記 木沢記念病院放射線科部長

研究要旨

先天性高インスリン血症の膵臓病変局在診断に 18F-fluoro-L-DOPA(18F-DOPA) PET 検査は最も簡便で有用とされ、欧米では多くの症例で実施されている。国内では当院が唯一の検査施設であるため、全国の症例を検査解析している。今まで実施した 28 症例を検討した結果、国内では非典型例や膵頭部病変のため手術困難な症例も多く、必ずしも 18F-DOPA PET 検査した全症例が手術可能というわけではなかった。また欧米人に比較すると診断が困難な症例が多いため、診断医の経験も重要であると考えられた。

A. 研究目的

内科的治療に抵抗性のある先天性高インスリン血症は外科的治療の適応となる。しかし一般の画像診断で病変の局在を同定することは不可能であり、通常では盲目的に膵垂全摘が行われて、切除しすぎれば糖尿病、切除が不十分ならば薬物離脱困難などの問題がある。近年、欧米では 18F-fluoro-L-DOPA(18F-DOPA)を用いた PET 検査により膵病変の局在を同定し、局所切除で後遺症なく治癒した報告が多い。国内では当院が唯一の検査施設であるため、全国の症例を検査解析している。これまでに当院で実施した日本人の 18F-DOPA PET 検査結果を比較検討し、先天性高インスリン血症の膵臓病変局在診断における有用性と限界を検討した。

B. 研究方法

- 1) 2005 年 7 月～2013 年 3 月の間に、局在性病変の可能性のある遺伝子検査が父由来片アリル変異の先天性高インスリン血症患者 28 例に 18F-fluoro-L-DOPA (18F-DOPA) 検査を行った。
- 2) 症例中部療護センターにあるサイクロトロン (CYPRIS-HM18) を使用し 18F-DOPA を合成した。
- 3) オクトレオチドは継続したままでブドウ糖輸液で血糖を正常に保ち、6 時間の絶食とした後、抱水クロラルとチアミラルナトリウムで鎮静した。
- 4) PET 装置 (ADVANCE NXi scanner) にて、トランスミッション 3 分間実施後、18F-DOPA (5MBq/kg) を静注し、直後から 60 分後までダイナミック撮影した。
- 5) PET 検査後、直ちに CT 撮影する。
- 6) CT との合成画像を作成し、膵臓病変の局在を同定した。
- 7) 臨床経過をフォローした。
(倫理面への配慮)

個人情報保護する。対象個人は乳幼児であるため、両親の同意と承諾書を得た上で実施する。

この研究は、木沢記念病院の倫理委員会で承認されている(受付番号 20-001;2008年5月21日、23-023;2011年12月26日)。

C. 研究結果

PET 検査をした 28 症例中の 27 症例で集積があり、1 症例は感度以下の病変で集積がなかった。集積のあった 27 例中局在型は 19 症例(70%: 頭部 14 例、体部 3 例、尾部 2 例) 非典型例は 8 症例(30%) であった。手術した 12 症例で検討すると、明らかな局在集積を認めた場合はその部位にはほぼ病変があった。一方、1 症例で体尾部病変を頭体尾部病変と診断、1 症例で頭体部病変を頭部病変と診断、1 症例で体尾部病変を体部病変と診断した症例があり、腓頭部は偽陽性、腓体尾部は偽陰性に注意が必用であった。

D. 考察

欧米人と同じように、日本人の先天性高インスリン血症においても約 30% は小さな局在がない非典型例であった。日本人の先天性高インスリン血症は欧米人の報告に比較して 18F-DOPA PET による局在診断の難しい症例が多かった。この理由として、PET のバックグラウンドが高い可能性、欧米人に比べて手術しなくてもオクトレオチドで治療できる軽症型が多いため病変の PET 集積が弱くコントラストがつきにくい可能性が考えられた。

軽症型が多いことより、非典型例や手術の難しい頭部局在型は自然軽快を待ってオクトレオチドによる内科的治療で経過観察するのもよい選択であると考えられた。

軽症型が多いため、28 症例中、手術病理組織診断出来たのは 12 症例のみであり、今後さらに 18F-DOPA PET 検査の評価をするために症例の蓄積が必要である。

E. 結論

18F-DOPA PET 検査は局在型の先天性高インスリン血症の病変部位診断には極めて有用な検査であるが、欧米人に比較すると診断が困難な症例が多く、診断医の経験も重要であると考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

(学会発表)

1) Michiya Masue, Hironori Nishibori, Seisuke Fukuyama, Tohru Yorifuji
Accuracy of [18F]DOPA PET Scan for Congenital Hyperinsulinism in Japan: The First Study on Asians. The 8th Congress of Asian Society for Pediatric Research Seoul, Korea May 17 to 19, 2012

2) Michiya Masue, Hironori Nishibori, Seisuke Fukuyama, Takeshi Kasai, Manabu Takenaka, Tohru Yorifuji.
Spontaneous resolution of congenital hyperinsulinism is a functional change;

Analysis by PET study. 日本先天代謝
異常学会 (54 回) 岐阜 2012/11/15-17

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

局所性先天性高インスリン血症の画像診断法の確立

研究分担者 緒方勤
浜松医科大学 小児科 教授

研究要旨

研究班全体の課題である「オクトレオチド」を適切に使用するには、対象となる患者を正確に把握する必要がある。特に、局所性先天性高インスリン血症は、膵部分手術により糖尿病を発症することなく根治的治療を行うことが可能であるため、その適切な診断は必須である。しかし、これに必要なとされる 18F-DOPA を用いた PET は、岐阜県美濃加茂市の木沢記念病院でのみしか扱っておらず、さらに、自由診療で高額なこと、医療機関側の労力負担が大きいことなどから、その対象は、現時点では遺伝子検査上局所性病変で手術を前提とする患者さんに限られている。そこで、われわれは、浜松医科大学において、診断の継続性や患者・家族の利便性の向上を目的として、この PET 診断法の開発に取り組み、その開発にほぼ成功した。本研究は、研究班全体の課題である「オクトレオチド」を適切に使用する上で、大きく貢献すると考えられる。

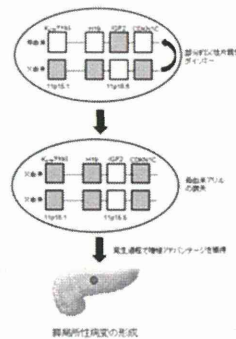
共同研究者:間賀田泰寛
浜松医科大学
メディカルフォトニクス研究センター
分子病態イメージング研究室

A. 研究目的

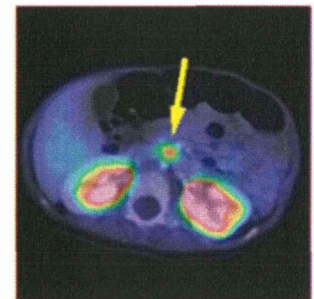
先天性高インスリン血症は、重度の低血糖およびその結果として脳機能障害を生じうるため、迅速かつ正確な診断と適切な治療を必要とする疾患である。この高インスリン血症は、一過性と持続性に大別され、持続性と判断されたときには、膵臓病変がびまん性であるか局所性であるかを判定することが重要である。その理由は、局所性病変の多くが重症低血糖を生じるものの、外科的に部分切除することで治療可能であり、糖尿病などの後遺症を残さずに根治できることにある。

この局所性先天性高インスリン血症は、 K_{ATP} チャネル性高インスリン血症の一つの病型であり、常染色体劣性疾患である K_{ATP} チャネル遺伝子異常症において、次のような条件がそろったときに発症する。(1) First hitとして、第11染色体上の父由来 K_{ATP} チャネル遺伝子(ABCC8またはKCNJ11)に、生殖細胞変異が存在する。本来、片アレルの遺伝子変異を持

ついても発病しないはずで、これに一致して父は通常無症状である。(2) Second hit として、児の発症過程で、膵 β 細胞レベルの体細胞変異として母由来アレルの消失が起こる。これは、通常、



部分性父性片親性ダイソミーとして発症する。その結果、母



由来アレルを喪失した細胞は、 K_{ATP} チャネル活性を失ってインスリンを過剰分泌するようになる。さらに、11番染色体上の K_{ATP} チャネル遺伝子の近傍には IGF2という成長を促進する父性発現遺伝子や CDKN1Cという成長を抑制する母性発現遺伝子が存在するため、父性片親性ダイソミーの状態では IGF2の発現上昇とCDKN1Cの発現低下が相まって、インスリン過剰分泌細胞が増殖アドバンテージを得て膵 β 細胞の局所性病変を生じると考えられている

(図1)。この状態は、インスリノーマと違い、正常の構造を圧迫することがないため、通常はCTやMRIでは診断できない。

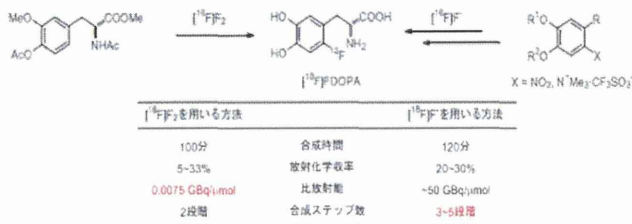
図1. 局所性先天性高インスリン血症の発症機序とPETイメージ。

そこで、この局所性先天性高インスリン血症の原因となる膵β細胞の局所性病変を正確に同定できる方法が必要となる。これにより、初めて手術の可否や部分切除すべき膵臓の病変部位が明確となる。この目的には、 ^{18}F -DOPAという特殊な核種を用いたPET診断が有用である。しかし、この ^{18}F -DOPAを用いたPETは、岐阜県美濃加茂市の木沢記念病院でのみしか扱っておらず、さらに、自由診療で高額(200,000円)なこと、医療機関側の労力負担が大きいことなどから、その対象は、現時点では遺伝子検査上局所性病変で手術を前提とする患者さんに限られている。そこで、われわれは、浜松医科大学において、診断の継続性や患者・家族の利便性の向上を目的として、このPET診断法の開発に取り組んだ。

B. 研究方法

6- ^{18}F JF-L-DOPA(^{18}F FDOPA)は脳のドーパミン代謝を診断するPET診断薬として使用されている。現在、臨床研究での ^{18}F FDOPAは、前駆体を ^{18}F JF $_2$ の求電子置換反応により標識化する方法が一般的に用いられている。一方で、 ^{18}F JFを用いた ^{18}F FDOPA合成法も報告されている。 ^{18}F JF $_2$ を用いた場合、2段階で簡便に ^{18}F FDOPAを得ることができるものの、生成物の比放射能が極端に低くなる。これは、反応に $^{19}\text{F}_2$ を加えることに起因する。さらに、比放射能の低下は ^{18}F FDOPAだけでなく、装置全体におよび、他の薬剤の品質にも影響を与えてしまう問題点がある。一方、 ^{18}F JFを用いた場合には、反応工程数が増えるものの、安定した比放射能と高い収率で目的物を与える。

以上のような背景から、今回は ^{18}F FDOPAの合成法として、 ^{18}F JFからの合成法を選択し、GMPエリアに設置されたユニバーサル技研社製自動合成装置を用いて、 ^{18}F FDOPAを合成することを計画した。



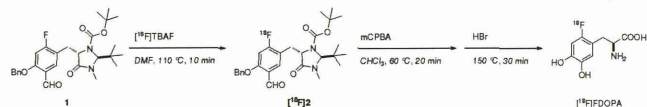
ここで、 ^{18}F JFを用いた ^{18}F FDOPA合成法は、二つの手法が既知である。これらを手合成で検討・比較し、自動合成装置での標識合成に適した手法を選択することとした。

1. 市販の原料を用いた同位体交換反応
2. キラル補助基を用いる反応

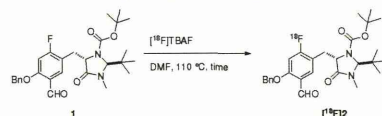
C. 研究結果

1.市販の原料を用いた同位体交換反応の検討

本反応は、2009年Wagnerらによって報告された ^{19}F - ^{18}F 同位体交換反応、Vaeyer-Billiger酸化、加水分解の3段階から成る標識反応である。前駆体**1**が、ABX社から市販されており、比較的入手しやすいという利点がある。

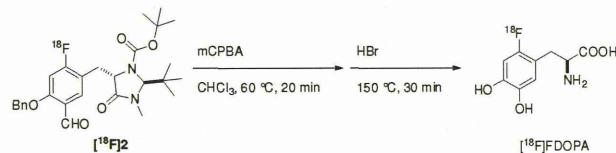


1-1. ^{18}F フッ素化の検討

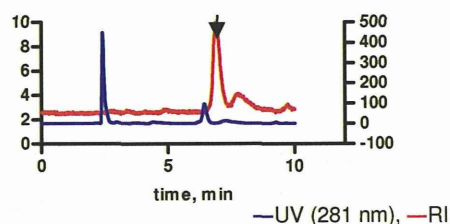


DMFを溶媒に用い、110 °Cで反応時間を検討した。その結果、反応時間を長くすることにより副生成物が増えることが明らかとなった。

1-2.Baeyer-Villiger酸化-脱保護の検討



反応混合物の分析 HPLC_1-2

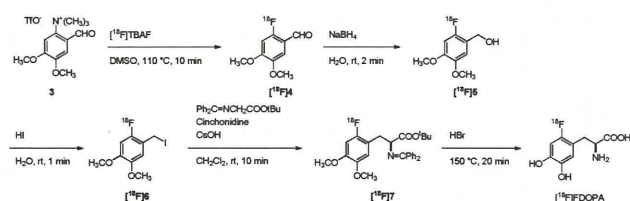


Phenomenex 4.6 x 250, 0.1% AcOH in H $_2$ O, 1 mL/min

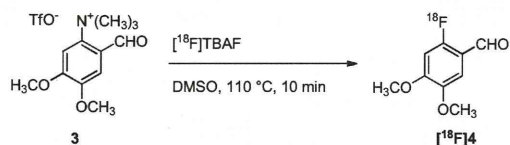
分析 HPLC から、目的とする $[^{18}\text{F}]\text{FDOPA}$ を確認できた。また、反応溶液の一部を分取したところ収率は 5% (DCY) 程度と算出され、低いことが明らかとなった。

2.キラル補助基を用いる反応の検討

本反応は、2002 年に Zhang らによって報告された、担体を必要としない $[^{18}\text{F}]\text{FDOPA}$ の合成法である。2 段階目と 3 段階目の還元・ヨード化反応をオンカラムで行う点と、丸岡らにより開発された Cinchonidine 触媒を利用した不斉合成を行う点が特徴である。

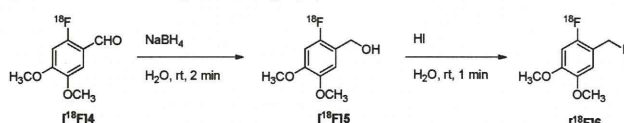


2-1. $[^{18}\text{F}]$ フッ素化の検討



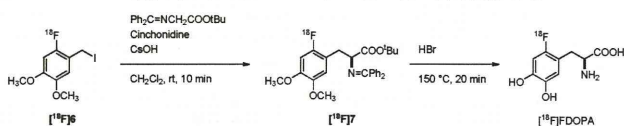
既知の方法に従い合成した前駆体 **3** のフッ素化は、DMSO 中 110 °C で 10 分間反応させることにより効率良く進行し、 $[^{18}\text{F}]\text{4}$ を与えた。

2-2. オンカラム反応の検討



C18 カートリッジに担持したベンズアルデヒド $[^{18}\text{F}]\text{4}$ を、水素化ホウ素ナトリウムで還元したところ、ベンジルアルコール体 $[^{18}\text{F}]\text{5}$ を与えた。続いて、C18 カラムにヨウ化水素酸を加えヨード化した。

2-3. キラル補助基を用いる反応と脱保護反応



C18 カートリッジからジクロロメタンを用いて $[^{18}\text{F}]\text{6}$ を取り出し、Cinchonidine 存在下、水酸化セシウムを塩基とし、グリシン誘導体との付加反応を行った。その後、ジクロロメタンを減圧下留去し、臭化水素酸を加えて 150 °C で 20 分間加熱することにより目的と

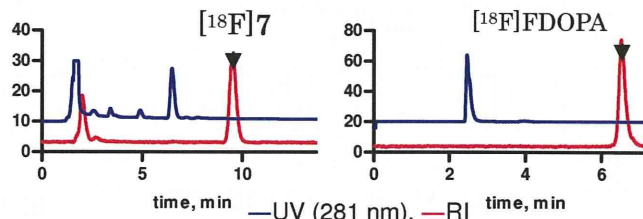
する $[^{18}\text{F}]\text{FDOPA}$ を得た。また、収率は 25% (DCY) と算出された。

反応混合物の分析

HPLC_2-3-1

反応混合物の分析

HPLC_2-3-2



MS-II 4.6 x 150, $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O} = 70:30$, 1 mL/min (2-3-1)

Phenomenex 4.6 x 250, 0.1% AcOH in H_2O , 1 mL/min (2-3-2)

なお、純度の低いヨウ化水素酸を用いた場合には、本反応は進行しない。ヨウ化水素のロットおよび取扱には注意が必要である。

3. 標識合成の自動化

1 および 2 の検討から、多段階ではあるものの高い収率で合成可能なキラル補助基を用いる標識法を自動合成装置に応用することとした。装置の概略図を図 2 に示す。

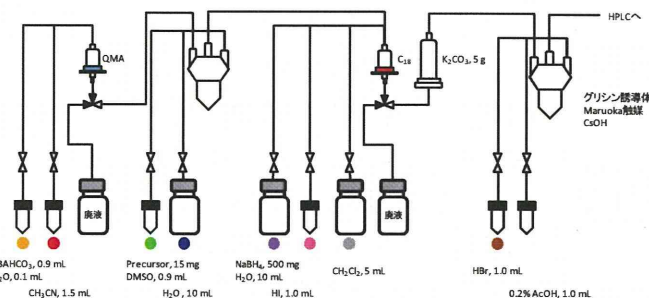


図 2. $[^{18}\text{F}]\text{FDOPA}$ 合成の自動化

用いる試薬の種類が多いことから、既存の装置では自動化は困難であり、試薬添加のためのユニットを新たに設置した。装置を用いて $[^{18}\text{F}]\text{FDOPA}$ の合成を検討したところ、収率は 3% (DCY) であった。移送の際のロスが原因と考えられ、改善中である。

D. 考察

本研究により、局所性先天性高インスリン血症の診断に必要とされる ^{18}F -DOPA を用いた PET 診断法の開発が大きく進展した。今後、合成装置を用いた最適化を行い、臨床試験に必要な放射エネルギーの確

保を目指すとともに、生成物の光学純度を算出し、より精度の高い核種の開発を進めたい。

E. 結論

研究班全体の課題である「オクトレオチド」を適切に使用するには、対象となる患者を正確に把握する必要がある。特に、局所性先天性高インスリン血症は、膵部分手術により糖尿病を発症することなく根治的治療を行うことが可能であるため、その適切な診断は必須である。しかし、これに必要とされる 18F-DOPA を用いた PET は、岐阜県美濃加茂市の木沢記念病院でのみしか扱っておらず、さらに、自由診療で高額なこと、医療機関側の労力負担が大きいことなどから、その対象は、現時点では遺伝子検査上局所性病変で手術を前提とする患者さんに限られている。そこで、われわれは、浜松医科大学において、診断の継続性や患者・家族の利便性の向上を目的として、この PET 診断法の開発に取り組み、その開発にはほぼ成功した。本研究は、研究班全体の課題である「オクトレオチド」を適切に使用する上で、大きく貢献すると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sugihara S*, Ogata T, Kawamura T, Urakami T, Takemoto K, Kikuchi N, Takubo N, Tsubouchi

K, Horikawa R, Kobayashi K, Kasahara Y, Kikuchi T, Koike A, Mochizuki T, Minamitani K, Takaya R, Mochizuki H, Nishii A, Yokota I, Kizaki Y, Mori T, Shimura N, Mukai T, Matsuura N, Fujisawa T, Ihara K, Kosaka K, Kizu R, Takahashi T, Matsuo S, Hanaki K, Igarashi Y, Sasaki G, Soneda S, Teno S, Kanzaki S, Saji H, Tokunaga K, Amemiya S, The Japanese Study Group of Insulin Therapy for Childhood and Adolescent Diabetes (JSGIT): Genetic characteristics on HLA-class II and class I among Japanese type 1A and type 1B diabetic children and their families. *Pediatr Diabetes* 13 (1): 33–44, 2012.

2. Moritani M, Yokota I, Tsubouchi K, Takaya R, Takemoto K, Minamitani K, Urakami T, Kawamura T, Kikuchi N, Itakura M, Ogata T, Sugihara S, Amemiya S: Identification of INS and KCNJ11 gene mutations in type 1B diabetes in Japanese children with onset of diabetes before 5 yr of age. *Pediatr Diabetes* 14 (2): 112–120, 2012.

2. 学会発表

省略

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

オクトレオチド血中濃度測定系の検討

分担研究者

依藤 亨（大阪市立総合医療センター小児代謝・内分泌内科）

研究要旨

オクトレオチド皮下注射療法の先天性高インスリン血症に対する治療では、従来から体重あたりの投与量として、成人承認量よりも多い量が使用されている。また、新生児乳児における本剤の薬物動態は検討されたことがなく、血中濃度と薬効・副作用の関連は不明である。そのため、前向き介入試験にあたり、オクトレオチド血中濃度の測定を計画しているが、現時点で受託検査を行っている検査センターは存在しない。今回、実際の患者リクルートに先立ち、血清中オクトレオチドの測定系を研究班として立ち上げるための検討をおこなった。その結果、EIA 法を用いた ELISA により良好な測定が可能であることを確認した。

A. 研究目的

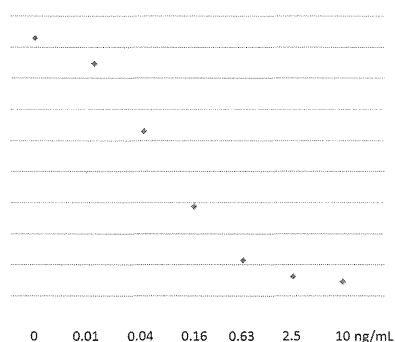
先天性高インスリン血症に対するオクトレオチド皮下注射では 1–25 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ のオクトレオチドが使用されることが多い。成人での承認容量は 300 $\mu\text{g}/\text{日}$ であり、およそ 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ に相当するため、相対的に多い量を使用することとなる。また、本剤は現在まで新生児、乳児において血中動態が検討されたことがなく、今回の前向き介入試験では血中濃度の測定を行い、その有効性、有害事象との関連を検討する予定である。しかしながら、オクトレオチド血中濃度は現在外部受託検査機関や製薬会社での測定が不可能であるため、患者リクルートに先立ち研究班内での測定を計画した。

B. 研究方法

Peninsula Laboratories 社の EIA キット S-1341 を用いた ELISA 法により、オクトレオチド希釈系列の測定とともに正常乳児血清を用いて測定条件を検討した。また、実際にオクトレオチド持続皮下注射が行われている乳児を対象に血中濃度の測定を試みた。

C. 研究結果

オクトレオチド 0.01–1 ng/mL の間で良好な測定値の相関がみられた。



オクトレオチド 9.87 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ で持続皮下注射中の患児を測定したところ血中濃度 10 ng/mL 以上であった。

D. 考察

本研究により、臨床試験においてオクトレオチド血中濃度を正しく測定することが可能となった。成人における検討では 100 μg を単回投与後の血中濃度最高値が 4.8 ng/mL であったと報告されており、かなり大きく上回る数値であった。本臨床試験において、効果、有害事象との相関を検討する必要がある。

E. 結論

Peninsula Laboratories 社の EIA キット S-1341 を用いた ELISA 法により、オクトレオチド血清中濃度を正確に測定することが可能であった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

(論文・著書発表)

- 1) 依藤 亨 先天性高インスリン血症の診療最前線 医学のあゆみ 2012, 240; 232-237
- 2) 依藤 亨 低血糖 小児科診療 2012, 75; 409-415
- 3) 依藤 亨 高インスリン性低血糖症—先天性高インスリン血症を中心に— 小児科臨床 2012, 65;959-964.
- 4) 依藤 亨 新生児高インスリン血症性低血糖症の診断と治療 小児科診療 特集新生児医療-up to date 2012, 75;1553-1557.

5) 依藤 亨 日本人小児の単一遺伝子性インスリン分泌異常症の実態 Diabetes Frontier 2012, 23;708-714.

6) 依藤 亨 高インスリン血症性低血糖症 小児疾患の診断治療指針第4版 「小児内科」「小児外科」編集委員会共編 東京医学社 2012 pp180-181
(学会発表)

1) 2012/9/29 依藤 亨、川北理恵、細川悠紀、藤丸季可、増江道哉、西堀弘記、松原康策、会津克哉、鈴木 滋 K_{ATP} チャンネル性先天性高インスリン血症のオクトレオチド持続皮下注療法 第46回日本小児内分泌学会学術集会 (大阪)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

本邦における先天性高インスリン血症の遺伝疫学研究

分担研究者

依藤 亨（大阪市立総合医療センター小児代謝・内分泌内科）

研究要旨

先天性高インスリン血症に対するオクトレオチド皮下注療法の実験に先立ち、わが国の先天性持続性高インスリン血症の遺伝背景を検討した。インフォームドコンセントの上で、患児本人、両親の末梢血ゲノム DNA から KATP チャネル遺伝子を含む遺伝子解析を行った。その結果、ジアゾキサイド不応例では大部分に遺伝子変異が同定され、大半が ABCC8 または KCNJ11 の KATP チャネル変異であった。また、44 例の KATP チャネル変異陽性例の内訳は、biallelic 7, paternal 36, maternal 1 で、大部分が父由来片アリル変異、すなわち局所性病変の存在を示唆する結果であった。一方、ジアゾキサイド反応性の症例では大部分変異が不明であった。父由来片アリル変異を持つものではオクトレオチド反応性が良好であることが知られており、臨床試験を組み立てるうえで有用な所見が得られた

A. 研究目的

オクトレオチド持続皮下注射療法の臨床試験では、ジアゾキサイド不応性の症例が対象である。一方、過去の検討から先天性高インスリン血症のうち KATP チャネル遺伝子異常によるものでは、両アリル変異のびまん性病変を持つものに重症例が多く、父由来片アリル変異を持つ場合は、オクトレオチド単剤でもコントロール可能な場合が多いことが知られている。臨床試験を開始するにあたり本邦症例の遺伝疫学を把握する目的で、遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

持続性先天性高インスリン血症の本邦症例 107 例について、書面によるインフォームドコンセントを得たのち、末梢血白血球よりゲノム DNA を抽出した。得られた DNA から ABCC8, KCNJ11, GCK の全 50 エクソンと GLUD1 遺伝子のエクソン 5-7, 10-13 を PCR 増幅して、磁気ビーズ法により生成した。PCR 産物

は適切なプライマーと Applied Biosystems 社 Big Dye terminator ver 3.1 を用いてシーケンシング反応を行った後、ABI prism 3100xl 自動シーケンサーを用いて直接塩基配列決定を行った。ABCC8 遺伝子についてはエクソン欠失の検討のため MRC-Holland 社キットを用いた MLPA 法にも変異の有無を検討した。本研究は研究代表者の所属施設内で倫理委員会の審査・承認を得たうえで、大阪市立総合医療センター臨床研究センターで施行した。

C. 研究結果

結果を以下に示す。ジアゾキサイド不応例では大部分に遺伝子変異が同定され、大半が ABCC8 または KCNJ11 の KATP チャネル変異であった。また、44 例の KATP チャネル変異陽性例の内訳は、biallelic 7, paternal 36, maternal 1 で、大部分が父由来片アリル変異、すなわち局所性病変の存在を示唆する結果で

あった。一方、ジアゾキサイド反応性の症例では大部分変異が不明であった。

遺伝子変異陽性率が低く、他の要因による可能性が高いことが示唆された。

| | diazoxide unresponsive | responsive or unknown |
|--------|------------------------|-----------------------|
| ABCC8 | 39 | 2 |
| KCNJ11 | 5 | 0 |
| GLUD1 | 0 | 5 |
| GCK | 1 | 0 |
| ND | 6 | 48 |

D. 考察

本研究により、ジアゾキサイド不応性本症の86.2%は K_{ATP} チャネル遺伝子異常により、うち81.8%は父由来片アリル変異、すなわち局所性病変の可能性が高いことが示唆された。父由来片アリル変異を持つものではオクトレオチド反応性が良好であることが知られており、臨床試験を組み立てるうえで有用な所見が得られた。

E. 結論

わが国の先天性持続性高インスリン血症107例の遺伝子解析を行った。ジアゾキサイド不応性本症の86.2%は K_{ATP} チャネル遺伝子異常により、うち81.8%は父由来片アリル変異、すなわち局所性病変の可能性が高いことが示唆された。他方、ジアゾキサイド反応性症例では

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

(論文・著書発表)

1) Yorifuji T, Kawakita R, Hosokawa Y, Fujimaru R, Matsubara K, Aizu K, Suzuki S, Nagasaka H, Nishibori H, Masue M. Efficacy and safety of long-term, continuous subcutaneous octreotide infusion for patients with different subtypes of K(ATP)-channel hyperinsulinism. Clin Endocrinol (Oxf). 2013;78:891-7.

(学会発表)

1) 2012/11/17 Tohru Yorifuji Investigation and Management of Acute Hypoglycemia 7th Biennial Asia Pacific Paediatric Endocrine Society (APPES) Scientific Meeting (Invited Symposium Lecture, Bali Indonesia)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

| 著者氏名 | 論文タイトル名 | 書籍全体の編集者名 | 書籍名 | 出版社名 | 出版地 | 出版年 | ページ |
|------|---------------|---------------------|----------------|-------|-----|------|---------|
| 依藤 亨 | 果糖代謝異常症 | 大関武彦、古川漸、横田俊一郎、水口雅 | 今日の小児治療指針第15版 | 医学書院 | 東京 | 2012 | 200-201 |
| 依藤 亨 | 中枢性ナトリウム喪失症 | 大関武彦、古川漸、横田俊一郎、水口雅 | 今日の小児治療指針第15版 | 医学書院 | 東京 | 2012 | 228 |
| 依藤 亨 | 高インスリン血症性低血糖症 | 「小児内科」「小児外科」編集委員会共編 | 小児疾患の診断治療指針第4版 | 東京医学社 | 東京 | 2012 | 180-181 |

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 |
|-------|---|-------------------|-----|-----------|------|
| 依藤 亨 | 先天性高インスリン血症の診療最前線 | 医学のあゆみ | 240 | 232-237 | 2012 |
| 依藤 亨 | 低血糖 | 小児科診療 | 75 | 409-415 | 2012 |
| 依藤 亨 | 新生児期発症の先天性高インスリン血症 | 小児科臨床 | 66 | 226-231 | 2013 |
| 依藤 亨 | 日本人小児の単一遺伝子性インスリン分泌異常症の実態～特にMODY, 先天性高インスリン血症につ | Diabetes Frontier | 23 | 708-714 | 2012 |
| 依藤 亨 | 新生児高インスリン血症性低血糖症の診断と治療 | 小児科診療 | 75 | 1553-1557 | 2012 |
| 依藤 亨 | 高インスリン性低血糖症—先天性高インスリン血症を中心に | 小児科臨床 | 65 | 286-290 | 2012 |

| | | | | | |
|---|--|-----------------------|----|-------|------|
| Yorifuji T, Kawakita R, Hosokawa Y, Fujimaru R, Matsubara K, Aizu K, Suzuki S, Nagasaka H, Nishibori H, Masue M. | Efficacy and safety of long-term, continuous subcutaneous octreotide infusion for patients with different subtypes of K(ATP) -channel hyperinsulinism. | Clin Endocrinol (Oxf) | 78 | 891-7 | 2013 |
| Yorifuji T, Kawakita R, Hosokawa Y, Fujimaru R, Yamaguchi E, Tamagawa N. | Dominantly inherited diabetes mellitus caused by GATA6 haploinsufficiency: variable intrafamilial presentation | J Med Genet | 49 | 642-3 | 2012 |
| Saito-Hakoda A, Yorifuji T, Kanno J, Kure S, Fujiwara I. | Nateglinide is effective for diabetes mellitus with reactive hypoglycemia in a child with a compound heterozygous ABCC8 mutation. | Clin Ped Endocrinol | 21 | 45-52 | 2012 |
| Yorifuji T, Fujimaru R, Hosokawa Y, Tamagawa N, Shiozaki M, Aizu K, Jinno K, Maruo Y, Nagasaka H, Tajima T, Kobayashi K, Urakami T. | Comprehensive molecular analysis of Japanese patients with pediatric-onset MODY-type diabetes mellitus | Pediatr Diabetes | 13 | 26-32 | 2012 |

| | | | | | |
|---|---|------------------------|-----|---------|------|
| Kasahara M, Sakamoto S, Kanazawa H, Karaki C, Kakiuchi T, Shigeta T, Fukuda A, Kosaki R, Nakazawa A, Ishige M, Nagao M, Shigematsu Y, Yorifuji T, Naiki Y, Horikawa R. | Living-donor liver transplantation for propionic acidemia | Pediatr Transplant | 16 | 230-4 | 2012 |
| Kido J, Nakamura K, Mitsubuchi H, Ohura T, Takayanagi M, Matsuo M, Yoshino M, Shigematsu Y, Yorifuji T, Kasahara M, Horikawa R, Endo F. | Long-term outcome and intervention of urea cycle disorders in Japan. | J Inherit Metab Dis | 35 | 777-785 | 2012 |
| Nagano N, Urakami T, Mine Y, Watanabe H, Yoshida A, Suzuki J, Saito H, Ishige M, Takahashi S, Mugishima H, Yorifuji T. Diabetes caused by Kir6.2 mutation: | Diabetes caused by Kir6.2 mutation: successful treatment with oral glibenclamide switched from continuous subcutaneous insulin infusion in the early phase of the disease. | Pediatr Int | 54: | 277-9 | 2012 |

| | | | | | |
|--|---|------------------------|-----|---------|------|
| Nagasaka H, <u>Yorifuji T</u> , 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 | 75-81 | 2013 |
| Nagasaka H, Miida T, Inui A, Inoue I, Tsukahara H, Komatsu H, Hiejima E, Fujisawa T, <u>Yorifuji T</u> , Hiranao KI, Okajima H, Inomata Y | Fatty liver and anti-oxidant enzyme activities along with peroxisome proliferator-activate d receptors γ and α expressions in the liver of Wilson's disease | Mol Genet Metab | 107 | 542-7 | 2012 |
| Itoh S, Matsuoka H, Yasuda Y, Miyake N, Suzuki K, <u>Yorifuji T</u> , Sugihara S | DEND syndrome due to V59A mutation in KCNJ11 gene: unresponsive to sulfonylureas | Pediatr Endocr Met | 26 | 143-146 | 2013 |
| Inoue H, Mukai T, Sakamoto Y, Kimura C, Kangawa N, Itakura M, <u>Ogata T</u> , Ito Y, Fujieda K | Identification of a novel mutation in the exon 2 splice donor site of the POU1F1/PIT-1 gene in Japanese identical twins with mild combined pituitary | Clin Endocrinol | 76 | 78-87 | 2012 |

| | | | | | |
|---|--|------------------------------|-----------|--------------|-------------|
| <p>Sugihara S, <u>Ogata T</u>, Kawamura T, Urakami T, Takemoto K, Kikuchi N, Takubo N, Tsubouchi K, Horikawa R, Kobayashi K, Kasahara Y, Kikuchi T, Koike A, Mochizuki T, Minamitani K, Takaya R, Mochizuki H, Nishii A, Yokota I, Kizaki Y, Mori T, Shimura N, Mukai T, Matsuura N, Fujisawa T, Ihara K, Kosaka K, Kizu R, Takahashi T, Matsuo S, Hanaki K, Igarashi Y, Sasaki G, Soneda S, Teno S, Kanzaki S, Saji H, Tokunaga K, Amemiya S, The Japanese Study Group of Insulin Therapy for Childhood and Adolescent Diabetes (JSGIT)</p> | <p>Genetic characteristics on HLA-cass II and class I among Japanese type 1A and type 1B diabetic children and their families</p> | <p>Pediatr Diabetes</p> | <p>13</p> | <p>33–44</p> | <p>2012</p> |
|---|--|------------------------------|-----------|--------------|-------------|

| | | | | | |
|---|---|------------------|------|-----------|------|
| Kagami M, Kato F, Matsubara K, Sato T, Nishimura G, Ogata T | Relative frequency of underlying genetic causes for the development of UPD(14)pat-like phenotype | Eur J Hum Genet | 20 | 928–932 | 2012 |
| Oto Y, Obata K, Matsubara K, Kozu Y, Tsuchiya T, Sakazume S, Yoshino A, Murakami N, Ogata T, Nagai T | Growth hormone secretion and its effect on height in pediatric patients with different genotypes of Prader-Willi syndrome | Am J Med Genet A | 158A | 1477–1480 | 2012 |
| Fuke-Sato T, Yamazawa K, Nakabayashi K, Matsubara K, Matsuoka K, Hasegawa T, Dobashi K, Ogata T. | Mosaic upd(7)mat in a patient with Silver-Russell syndrome: correlation between phenotype and mosaic ratio in the body and the placenta | Am J Med Genet A | 158A | 465–468 | 2012 |
| Stoppa-Vaucher S, Ayabe T, Paquette J, Patey N, Francoeur D, Vuissoz J-M, Deladoëy J, Samuels ME, Ogata T, Deal CL | 46, XY gonadal dysgenesis: new <i>SRY</i> point mutation in two siblings with paternal germ line mosaicism | Clin Genet | 82 | 505–513 | 2012 |

| | | | | | |
|---|---|---------------------|------|-----------|------|
| Abe Y, Aoki Y, Kuriyama S, Kawame H, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, <u>Ogata T</u> , Kure S, Niihori T, Matsubara Y | Prevalence and clinical features of Costello syndrome and cardio-facio-cutaneous syndrome in Japan: Findings from a nationwide epidemiological survey. | Am J Med Genet A | 158A | 1083–1094 | 2012 |
| Koyama Y, Homma K, Fukami M, Miwa M, Ikeda K, <u>Ogata T</u> , Hasegawa T, Murata M | Two-step biochemical differential diagnosis of classical 21-hydroxylase deficiency and cytochrome P450 oxidoreductase deficiency in Japanese infants using uUrinary Pregnanetriolone / Tetrahydrocortisone Ratio and 11 β -hydroxyandrostene by Gas chromatography - mass spectrometry. | Clin Chem | 58 | 741–747 | 2012 |
| Sekii K, Itoh H, <u>Ogata T</u> , Iwashima S | Deterioration of myocardial tissue Doppler indices in a case of fetal hydrothorax as a promising indication for clinical intervention before the development of nonimmune hydrops fetalis. | Arch Gynecol Obstet | 286 | 1079–1080 | 2012 |