

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3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、平成 25 年度中に完了しなかった。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た。

分担研究者

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

研究協力者

- (1) 飯塚高浩 北里大学医学部神経内科
- (2) 大野耕策 鳥取大学医学部脳神経小児科
- (3) 岡崎康司 埼玉医科大学・ゲム医学研究センター
- (4) 金田大太 大阪赤十字病院神経内科
- (5) 佐藤有希子 国立精神・神経医療研究センター
- (6) 佐野 輝 鹿児島大学医学部精神神経科

- (7) 砂田芳秀 川崎医科大学神経内科
- (8) 中野和俊 東京女子医科大学病院小児科
- (9) 西野一三 国立精神・神経医療研究センター
- (10) 埜中征哉 国立精神・神経医療研究センター
- (11) 村山 圭 千葉県こども病院代謝科
- (12) 森 雅人 自治医科大学小児科

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の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。

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。

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。

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：山嵜、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。

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。

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るとともに、患者で同定されたミトコンドリア DNA の ATP 6 及び ATP 8 領域に存在する変異の病因性に関する検討を加えた。その結果、新たに病因と考えられる複数の変異を同定し、報告した。〈後藤、大竹、村山〉

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对一に対応しない、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〉

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いれると患者数が 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ティ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(古賀靖敏班長)において作成されたものを基盤にして、案を作成した。

一方で、国際治験などを施行するために難病研究のグローバル化が重要とされており、診断基準とレジスティーにおける登録項目のグローバル化が望まれる。そのために、この研究班で作成した日本案を諸外国に示して統一化を図ることが望ましい。

3) 情報提供体制の整備

平成 24 年度に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)

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た。対象は、医師、認定遺伝カウンセラーなどであり、好評であったので、平成 26 年 1 月 25、26 日に 2 度目のセミナーを実施した。(遺伝カウンセリングセミナー資料参照)

患者向けのセミナーとしては、「ミトコンドリア病患者の会」主催の勉強会を、平成 25 年 6 月 2 日(川崎)と平成 25 年 10 月 12 日(大阪)に開催し、保健所主催の勉強会を平成 25 年 7 月 6 日(横浜市戸塚区役所)で開催した。

また、一般市民向けには、当研究班の主催する「市民公開講座」を福井市で実施した(9.16, 2013)

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 年度でも実施ができなかった。一方で、患者や担当医から問い合わせは、直接、研究代表者、研究分担者に行っていることが多く、日本ミトコンドリア学会 HP の「ドクター相談室」にも多数の相談が寄せられており、担当の医師（ほとんどが当研究班の研究分担者）が回答に対応した。

実態調査については、ミトコンドリア病の 1 病型である MELAS に関して、「ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中用発作に対するタウリン療法の開発」研究班(研究代表者：砂田芳秀、川崎医科大学)で行った、日本小児神経学会及び日本神経学の会員に対するアンケート調査に協力した。

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が、これも平成 25 年度に実施することが叶わなかった。認定基準案作成の遅れと調査項目のグローバルな調整に手間取った。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たが、成育医療センターが実施した主に先天代謝異常症としてのミトコンドリア病の登録事業と重なるところがあり、再計画が必要となり、次期の研究班の活動計画に組み込まれた。

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 つの領域に關与し、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。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ったが、予算立てが明確でなく、研究代表者の施設で各種ミトコンドリア DNA 変異を持つ iPS 細胞の樹立に関する研究を行ったのみである。

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、らがピルビン酸ナトリウムを、大竹らが -アミノレブリン酸を治療に用いようとする研究が進んでいる。また、MELAS 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 例で着床前遺伝子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〉

また、着床前遺伝子診断以外では、卵細胞移植と核移植が考えられ、英国では具体的な核移植の是非が問われている。提供卵子の取り扱い、安全性を含め倫理的議論および法の解釈について検討する必要がある。

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 3 年めであった。過去 2 年間と比較し、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、臨床研究が着実に進んだ。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以降の課題である。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表(主なもの)

1. 著書、総説
 - 1) 後藤雄一：ミトコンドリア病, pp95-111 (遺伝医学 やさしい系統講義 18 講、メディカル・サイエンス・インターナショナル、東京) 2013
 - 2) 後藤雄一：ミトコンドリア病, pp2339-2342 (内科学、第 10 版、朝倉書店、東京) 2013
 - 3) 後藤雄一：ミトコンドリア病の診断と治療．内分泌・糖尿病・代謝 37: 481-486, 2013
2. 原著論文
 - 1) Ishiyama A, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Itagaki Y, Matsuzaki K, Nakura M, Nishino I, Goto Y, Sasaki M. Unusual exocrine complication of pancreatitis in mitochondrial disease. *Brain Dev* 35:654-659, 2013
 - 2) Goto M, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Nishino I, Goto Y. MELAS phenotype associated with m.3302A>G mutation in mitochondrial tRNA-Leu(UUR) gene. *Brain Dev* 36: 180-182, 2014
 - 3) Yamazaki T, Murayama K, Compton AG, Sugiana C, Harashima H, Anemiya S, Ajima M, Tsuruoka T, Fujinami A, Kawachi E, Kurashige Y, Matsushita K, Wakiguchi H, Mori M, Iwasa H, Okazaki Y, Thorburn DR, Ohtake A: Molecular diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan: Focusing on mitochondrial DNA depletion syndrome. *Pediatr Int* 56 (2): 180-187, 2014.
 - 4) Ohtake A, Murayama, K, Mori M, Harashima H, Yamazaki T, Tamaru S, Yamashita I, Kishita Y, Kohda M, Tokuzawa Y, Mizuno Y, Moriyama Y, Kato H, Okazaki Y: Diagnosis and molecular basis of mitochondrial respiratory chain disorders: exome sequencing for disease gene identification. *Biochim Biophys Acta* (General Subjects on Special Issue: Frontiers of Mitochondria) 1840(4): 1355-1359, 2014
 - 5) Murakoshi Y, Sueoka K, Takahashi K, Sato S, Sakurai T, Tajima T, Yoshimura Y. Embryo developmental capability and pregnancy outcome are related to the mitochondrial DNA copy number and ooplasmic volume. *J Assist Reprod Genet* 30: 1367-1375, 2013
 - 6) 須藤章, 佐野仁美, 川村信明. 頻回の卒中様発作を呈した MELAS に対する L-arginine 静注療法. 脳と発達, 46: 39-43, 2014
 - 7) Katada S, Mito T, Ogasawara E, Hayashi J-I, Nakada K. Mitochondrial DNA with a large-scale deletion causes two distinct mitochondrial disease phenotypes in mice. *G3* 3: 1545-1552, 2013
 - 8) Ikawa M, Yoneda M, Muramatsu T, Matsunaga A, Tsujikawa T, Yamamoto T, Kosaka N, Kinoshita K, Yamamura O, Hamano T, Nakamoto Y, Kimura H. Detection of preclinically latent hyperfusion due to stroke-like episodes by arterial spin-labeling perfusion MRI in MELAS patients. *Mitochondrion* 13: 676-680, 2013
2. 学会発表
 1. 国際学会
 - 1) Takeshita E, Mimaki M, Ishii T, Awazu M, Shinjoh M, Hasegawa T, Miki J, Hidaka Y, Motobayashi M, Kumagai E, Goto Y. Novel mitochondrial point mutation (m.9155A>G) in two patients with chronic renal failure caused by focal glomerular sclerosis. International Congress of Pediatrics 2013, the 27th Congress of the International Pediatric Association, Melbourne, Australia, 8.24-29, 2013
 - 2) Ito S, Hirano Y, Nakano K, Goto Y, Ohtani Y, Shimada S, Ishigaki K, Funatsuka M, Oguni H, Osawa M, Nahgata S: The first case of infantile-onset spinocerebellar ataxia in Japan caused by novel autosomal recessive Twinkle/C12orf2 mutations. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan,

11.6-11.7, 2013

- 3) Matsushima Y, Hatakeyama H, Takeshita E, Kitamura T, Kobayashi K, Yoshinaga H, Goto Y: Leigh-like syndrome associated with calcification of the bilateral basal ganglia caused by mutations in mitochondrial poly(A) polymerase. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11.6-11.7, 2013
- 4) Yokota M, Hatakeyama H, Okabe S, Ono Y, Goto Y. Mitochondrial dysfunction is the barrier against cellular reprogramming, but not the maintenance of pluripotency. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11.6-11.7, 2013
- 5) Hatakeyama H, Yokota M, Okabe S, Ono Y, Goto Y. *in vitro* neural modeling of various mitochondrial disorders using patient-derived iPS cells. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11.6-11.7, 2013
- 6) Hatakeyama H, Yokota M, Okabe S, Ono Y, Goto Y. Molecular pathogenesis and iPS-cell-based disease modeling of MELAS caused by a mutation in anticodon-stem of *MTTV* gene. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11.6-11.7, 2013
- 7) Fujita Y, Ito M, Kojima T, Koga Y, Tanaka M. Identification of potential biomarkers for mitochondrial diseases by global gene expression analysis. International Symposium on Mitochondria 2013. Tokyo November 7, 2013
- 8) Tanaka M. Metabolomic and Transcriptomic analyses of MELAS hybrids for validation of pyruvate therapy and for discovery of new biomarkers. 10th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine. Seoul November 4, 2013

2. 国内学会

- 1) 竹下絵里, 石井智弘, 粟津緑, 新庄正宜, 長谷川奉延, 三木純, 日高義彦, 本林光雄, 熊谷悦子, 後藤雄一: 巣状系球体硬化症による慢性腎不全を呈したミトコンドリア DNA9155A>G 変異の 2 例. 第 116

回日本小児科学会総会, 広島, 4.20, 2013

- 2) 竹下絵里, 三牧正和, 西野一三, 埜中征哉, 後藤雄一: ミトコンドリア病の遺伝子診断には、long PCR 法、サザンプロット法、全周シーケンス法を用いた解析と総合的な判断が必要である. 第 55 回日本小児神経学会総会, 大分, 6.1, 2013
- 3) 後藤雄一. 難病に対する生殖医療の近未来—新たな対策の方向性を求めて—. ART FORUM 2013, 大分, 8.8, 2013
- 4) 太田成男: ミトコンドリア機能と老化・疾患制御 第 13 回抗加齢医学会総会, 横浜, 6.28, 2013.

3. その他

患者会等でのセミナー

- 1) ミトコンドリア病患者家族の会—東京勉強会
後藤雄一「ミトコンドリア病研究班の活動と治療研究の現況」日本医科大学武蔵小杉病院、川崎、6.2, 2013
- 2) ミトコンドリア病患者家族の会—大阪勉強会
後藤雄一「ミトコンドリア病研究班の活動と治療研究の現況」大阪市港区弁天学習センター、大阪、10.12, 2013
- 3) H25年度戸塚区特定疾患講演会
後藤雄一「ミトコンドリア病の診断と治療 —キーワードは多様性—」戸塚区役所、横浜市、7.6, 2013

市民公開講座

- 1) 「ミトコンドリア — 健康長寿から病気まで —」
福井市地域交流プラザ、9.16, 2013

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
「ミトコンドリア病診断用バイオマーカーとしての GDF15」特願2014-5391 (平成26年1月15日出願)
(分担研究者: 田中雅嗣)
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし