

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に関する研究

研究分担者 村山 圭 千葉県こども病院代謝科 主任医長

研究要旨

ミトコンドリア病は新生児期から成人まで幅広く発症するエネルギー産生異常に基づく遺伝性疾患であり、その頻度は5000人に1人ともいわれている。本疾患の効果的治療法は未だ確立されておらず、新しい治療薬が待たれる現状である。本研究において、主に患者エントリー・患者サンプリングに関わった。全国から依頼のあったミトコンドリア病疑い症例に対して酵素診断を行うことで本症の診断を行った。また当院でミトコンドリア病と診断し外来フォローしている5症例にピルビン酸ナトリウムの投与を行い、その効果をみた。体重増加や動きの増加など投薬の効果と思われる減少が認められた。

A．研究目的

ミトコンドリア病（MRCD）は少なくとも5000人に1人の割合で発症する、最も頻度の高い先天代謝異常症であり、その症状、臨床病型は多彩である。これまで有効な治療法がない小児難病である。本研究の目的は、MRCDの酵素診断を確実にし、新しい治療として出てきたピルビン酸ナトリウム（以下ピルビン酸Na）治療へと結びつけて行くことである。

B．研究方法

診断について

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26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988症例から1573検体（皮膚線維芽細胞765検体、肝臓313検体、筋肉315検体、心臓119検体、その他腎臓・脾臓など61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。

試料は、組織については-80℃にて保存された肝臓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あと、界面活性剤であるドデシルマルトシドまたはTriton Xによって可溶化を行った。酵素活性は分光光度計を用い、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、イムノプ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。

ピルビン酸Naについて

前述の診断法にて診断された当院でフォローしている5症例について、ピルビン酸Naの投与を行った。投与量は0.5kg/kg/dayで行い、体重増加に伴い量の調整を行った。

（倫理面への配慮）

検体検査に当たっては、患者さんご家族に十分説明した上で、倫理委員会において認可された検査同意書・承諾書を頂いた後に行った。

C．研究結果

これまでにサンプルを提供して頂いた988症例のうち、322症例（33%）を、MRCDと診断した。各年度別の診断数を図1に示したが、年々増加の一途を辿っている。また各臨床診断を図2に示す。この中で、神経疾患（Leigh脳症、MELASなどのサイトパチー、神経変性疾患）は全体の42%を占めた。図3に診断した患者分布を示す。多くの都道府県で診断されている一方で、依然として診断されていない県も存在する。

ピルビン酸Naが投与された5例の患者概要を図4に示す。平均年齢が7.4歳で投与期間は約197日だった。診断の内訳はLeigh脳症が3例、MELAS、PDHC欠損症が各1例である。多くの症例でけいれんや呼吸のコントロールがしやすくなり、身体を動かしやすくなるなどの機能改善も認められた。一方、副作用として下痢が認められた症例があった。乳酸値やLP比、AKBR、血中アラニンなどのバイオマーカーは有意な変化を示さなかった（図6）。

図1. 年度別 MRCD 診断数

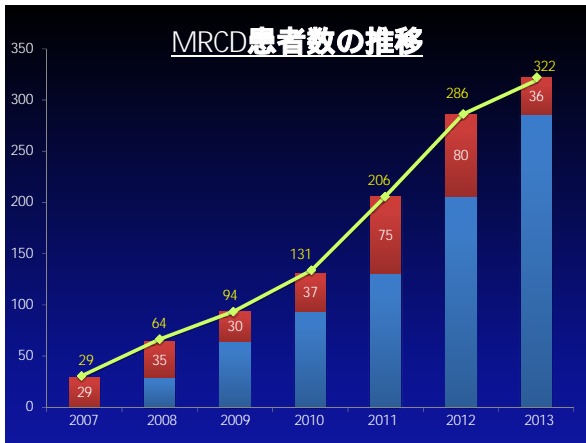


図2 MRCD の臨床分類別の症例数

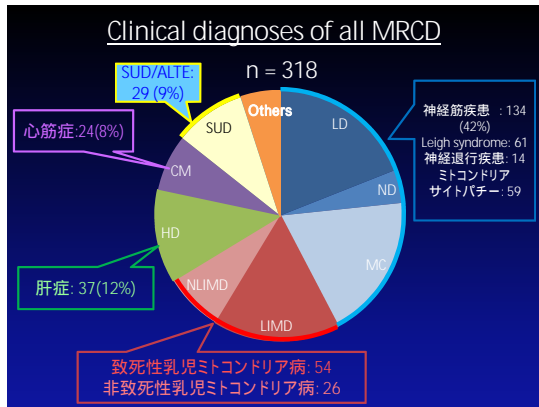


図3 MRCD の都道府県別診断数

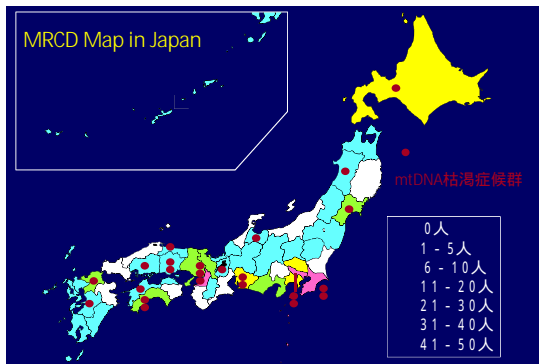


図4 ビルビン酸Na投与の患者概要



図5 ビルビン酸Na 投与 5 症例のまとめ

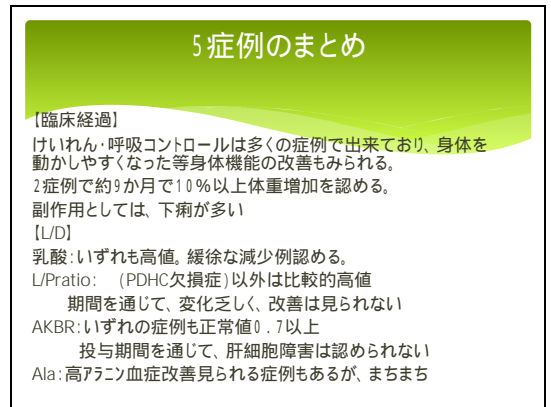
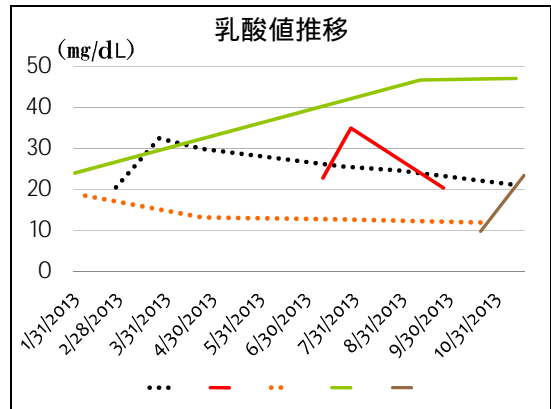
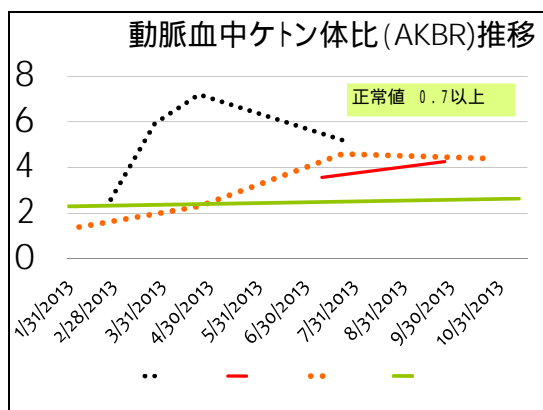
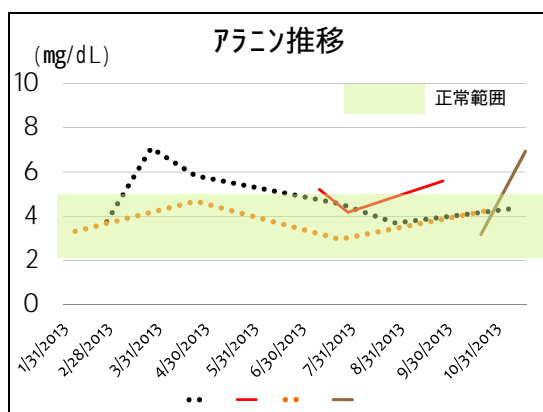
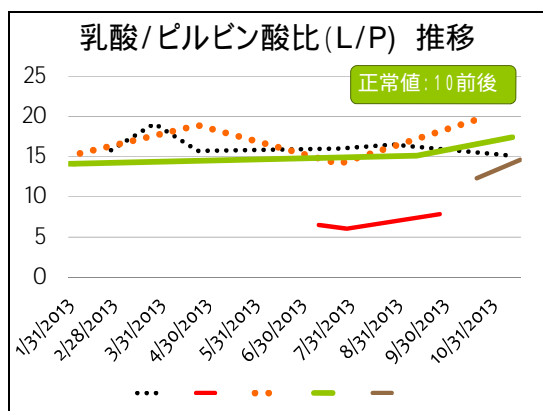


図6 各バイオマーカーの推移(4 枚)





D. 考察

MRCDDは、非常に多い先天代謝異常症であり、発症年齢も様々である。酵素診断から包括的遺伝子診断といった診断システムの確立は、早期治療にも結びつくことになり、非常に重要である。特に日本を挙げた診断システムの確立とそれに先立つ診断基準の作成や、診療ガイドラインの作成が待たれるところである。また、ピルビン酸Naを投与したケースは大きな副作用なく投与できている。有意なバイオマーカーの改善はみられなかったが、ご両親の主観的な要因による肯定的な評価もみられた。特に呼吸サポートやけいれんコントロールの改善は客観的な評価であり、それなりの効果が認められたといえる。新しいバイオマーカーの開発とともに、本剤の早期の実用化が求められる。

E. 結論

MRCDDの診断数は着実に増加しており、見過ごせない先天代謝異常症である。酵素解析を中心に、確実に診断をしていくことが重要である。ピルビン酸Na

はMRCDDにおいて臨床的効果を認めている。本剤を含めた新しい治療薬の開発が待たれる。

F. 研究発表

以上に関連した論文として、2014年3月までに文献1-9)を発表した。

1. 論文発表

- 1) Yamazaki T, **Murayama K**, Compton AG, Sugiana C, Harashima H, Amemiya S, Ajima M, Tsuruoka T, Fujinami A, Kawachi E, Kurahige 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.* 2013 Nov [Epub ahead of print]
- 2) Ohtake A, **Murayama K**, Mori M, Harashima H, Yamazaki T, Tamaru S, Yamashita I, Kishita Y, Kohda, Tokuzawa Y, Mizuno Y, Moriyama Y, Kato H, Okazaki Y: Diagnostics disorders: exome sequencing for disease gene identification. *Biochim Biophys Acta (General Subjects on Special Issue: Frontiers of Mitochondria.)* in press, 2014.
- 3) Kondo H, Tanda K, Tabata C, Hayashi K, Kihara M, Kizaki Z, Taniguchi-Ikeda M, Mori M, **Murayama K**, Ohtake A. Leigh syndrome with Fukuyama congenital muscular dystrophy: A case report. *Brain Dev.* 2013 Oct. doi:p11: S0387-7604(13) [Epub ahead of print]
- 4) Enkai S, Koinuma S, Ito R, Igaki J, Hasegawa Y, **Murayama K**, Ohtake A. Case of an infant with hepatic cirrhosis caused by mitochondrial respiratory chain disorder. *Pediatr Int.* 2013 Aug;55(4):e103-6.
- 5) 齋藤朋子、大山牧子、川滝元良、猪谷泰史、**村山 圭**: 出生直後から代謝性アシドーシス、肝機能障害をきたした新生児期発症のミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症の1例. *日未熟児新生児会誌* 2014 (26) 131-137
- 6) 森 雅人、**村山 圭**、大竹 明: 特集 実地臨床に役立つ先天代謝異常症の知識 1. 専門医に確定診断を依頼するポイント ミトコンドリア病. *小児科診療* 76(1): 11-19, 2013
- 7) 川内恵美、**村山 圭**、伏見拓矢、市本景子、鶴岡智子、高柳正樹、大竹 明: ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症における消化器症状についての検討. *日本小児栄養消化器肝臓学会雑誌* 27(2) 148 - 154, 2013
- 8) **村山 圭**: 新しい子どもの病気 先天代謝異常症 ミトコンドリア異常症のビタミンC、食事療法 *小児内科*, 45: 1072 - 1074, 2013

2. 学会発表

- 1) Fushimi T, Murayama K et al.: Diagnosis and Molecular Bases Of Mitochondrial Respiratory Chain Disorders In Japan. 12th

International Congress of Inborn Error of Metabolism, Barcelona, Spain, 3rd-6th Sep

- 2) Kawachi E, Murayama K, et al. : Gastroenterological symptoms of mitochondrial respiratory chain complex deficiency. 12th International Congress of Inborn Error of Metabolism, Barcelona, Spain, 3rd-6th Sep

G . 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

