

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）  
シトリン欠損症患者における臨床像の多様性の解明と致死性脳症の発症予防法の開発

## シトリン欠損症における脂肪肝生成機序の解析

研究分担者 小松通治 信州大学医学部内科学第二教室

共同研究者 木村岳史\*、青山俊文\*、田中榮司\*

\*信州大学医学部内科学第二教室、

\*\*同大学院医学系研究科加齢適応医科学系独立専攻代謝制御学分野、

**研究要旨** シトリン欠損症は脂肪肝を高率に合併し、慢性肝炎～肝硬変・肝細胞癌を発症することが知られている。しかし脂肪肝の生成機序は未だ不明であり、これを解明することは新たな治療法の確率に有用と考えられる。脂肪沈着の主体は中性脂肪であることに着目し、ヒト肝組織を用いて中性脂肪-脂肪酸代謝関連遺伝子を解析することにより脂肪肝生成メカニズムを明らかにする。

### A. 研究目的

シトリン欠損症の肝組織を用いて脂質代謝遺伝子の発現変化を解析することにより、脂肪肝の生成機序を解明する。

### B. 研究方法

シトリン欠損症で脂肪沈着の程度により軽度／重度の症例を9例／5例を対象とし、コントロールとして正常肝7例を用いて脂質代謝関連遺伝子を解析した。

（倫理面への配慮）

研究対象者に十分なインフォームドコンセントを行い、肝組織を使用した研究に対し書面で同意を頂いた。検体は番号化し個人が特定できないように配慮して取り扱った。

### C. 研究結果

脂肪酸の取り込み系、輸送系、分解系、分泌系で関連遺伝子のmRNAレベルの発現低下を認めた。これらの遺伝子発現の調節因子であるPPAR- $\alpha$ の低下を認め、脂肪肝の生成にPPAR- $\alpha$ が関連することを明らかにした。またその制御にはJNK系が関与していることも解明した。

### D. 考察

脂肪酸の $\beta$ ・ $\omega$ 酸化、血清ケトン体は脂肪肝の進行により低下しており、脂肪酸の分解が最も影響を受けると考えられた。このため PPAR- $\alpha$  低下

の一因として、シトリン欠損症患者の偏食が関連している可能性がある。またエネルギー産生の主要な回路である TCA 回路を動かすためには多量の ATP が必要であり、慢性的な ATP 欠乏により TCA 回路が効率よく働かないために脂肪酸・中性脂肪の分解が進まない可能性が考えられた。

### E. 結論

シトリン欠損症の脂肪肝生成機序の一因として PPAR- $\alpha$  の低下が重要である。

### F. 健康危険情報

本研究では認めませんでした。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

なし

#### 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

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）  
シトリン欠損症患者における臨床像の多様性の解明と致死的脳症の発症予防法の開発

## シトリン欠損症遺伝子検査サービスの提供と類似症状を示す疾患の 遺伝的背景の検索

研究分担者 呉 繁夫 東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野 教授

共同研究者 菊池敦生 東北大学大学院 小児病態学分野

市野井那津子 東北大学大学院 小児病態学分野

坂本 修 東北大学大学院 小児病態学分野

大浦敏博 仙台市立病院小児科

**研究要旨** シトリン欠損症（以下、本症）は症状や化学診断のみでは診断できない症例が多く、診断確定には SLC25A13 変異検索が重要である。本症の診断効率化を目的として、日本人に高頻度に認められる 11 種類の SLC25A13 遺伝子変異を迅速、簡便に検出する検査法を 2 年前に確立した（Kikuchi A, Mol Genet Metabol, 2012）。本研究では、これまでシトリン欠損症が疑われる全国の症例に提供してきた診断サービスを評価した。これまで、169 名の遺伝子検査を実施し、80 例で遺伝子変異を少なくとも一方のアレルで変異を同定した。そのうち、84%は両方のアレルに変異を認めた。一方のアレルのみに変異を同定した症例の SLC25A13 遺伝子の全エクソンをシークエンス解析したところ、その 69%で稀な遺伝子変異を認め、本診断法で一方のアレルのみに変異を認める症例の大部分はシトリン欠損症の可能性が高いと考えられた。以上からこの迅速遺伝子検査は、シトリン欠損症の診断確定に有用と考えられた。

### A. 研究目的

シトリン欠損症（以下、本症）は症状や化学診断のみでは診断できない症例が多く、診断確定には SLC25A13 変異検索が重要である。本症の診断効率化を目的として、日本人に高頻度に認められる 11 種類の SLC25A13 遺伝子変異を迅速、簡便に検出する検査法を 2 年前に確立した（Kikuchi A, Mol Genet Metabol, 2012）。以来、全国の本症が疑われる症例に対し遺伝子検査サービスを提供してきた。本研究では、これまで提供してきた診断サービスの結果を評価し、本性を疑われながら SLC25A13 変異を検出できない症例の遺伝的背景を検索することを目的とする。

### B. 研究方法

現在までに、当科に本症の遺伝子検査を依頼された 169 名を検索対象とした。各症例の臨床症状は検査依頼書に記載の症状・検査所見に基づいた。高頻度遺伝子変異の検出には、real-time PCR による融解温度解析法を、SLC25A13 遺伝子の全エクソン変異解析にはキャピラリー・シークエン

サーABI310 を用いた。エクソーム解析には、SureSelect（Agilent 社）にてエクソン領域を分取し、IonProton 次世代シークエンサー（Life Technology 社）にて遺伝子配列の決定を行なった。（倫理面への配慮）

本研究は東北大学医学部倫理委員会の承認を受け、書面でのインフォームドコンセントを得た上で実施した。

（倫理面への配慮）

本研究は東北大学医学部倫理委員会の承認を受け、書面でのインフォームドコンセントを得た上で実施した。

### C. 研究結果

11種類の高頻度遺伝子変異のスクリーニングを 169 症例で行い、80 例に少なくとも 1 個の遺伝子変異を検出した。そのうち、67 例（84%）では高頻度変異を 2 個認め、13 例（16%）では 1 個の高頻度変異を認めた。この 13 例において SLC25A13 遺伝子の全エクソン・シークエンスを実施し、9 例（69%）

で2つ目の遺伝子変異を同定できた (図参照)。高頻度変異を1個も認めなかった89例のうち、脂肪肝、黄疸、血中シトルリン高値 (>50 micromole/L)、など特徴的な症状を有する7例を選び、エクソーム解析を行っている。現在までに5例の解析を終了したが、複数の症例で変異が認められる遺伝子は同定されていない。

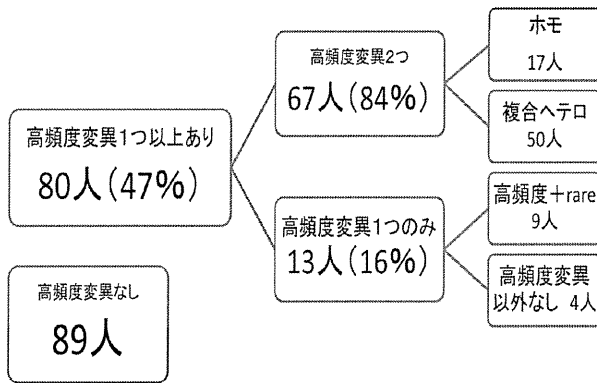


図 シトルリン欠損症を疑われた日本人 169 名の遺伝子検査結果

#### D. 考察

高頻度変異スクリーニングで一方のアレルのみに高頻度変異を認めた症例の 69%は、full sequence 解析でもう一つの遺伝子変異を認めることから、大部分は本症と考えられる。高頻度変異スクリーニングで変異を認めない症例は遺伝的背景が異なると考えられ、本症と類似した症状を示す症例のエクソーム解析により、本性との鑑別に重要な疾患群が特定できる可能性があると考えられる。

#### E. 結論

日本人に高頻度に認められる SLC25A13 遺伝子 1 種類を簡便・迅速に検出する検査法を確立し、平成 24-25 年度に臨床的にシトルリン欠損症が疑われた 169 名の遺伝子検査を実施した。その結果、80 例で遺伝子変異を少なくとも一方のアレルで変異を同定した。本法は、シトルリン欠損症の診断に有用と考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

Wongkittichote P, Sukasem C, Kikuchi A, Aekplakorn W, Jensen LT, Kure S, Wattanasirichaigoon D. Screening of SLC25A13 mutation in the Thai population. *World J Gastroenterol.* 2013 Nov 21;19(43):7735-42.

Numata Y, Morimura T, Nakamura S, Hirano E, Kure S, Goto YI, Inoue K. Depletion of molecular chaperones from the endoplasmic reticulum and fragmentation of the Golgi apparatus associated with pathogenesis in Pelizaeus-Merzbacher disease. *J Biol Chem.* 2013 Mar 15;288(11):7451-66.

Horino S, Uchiyama T, So T, Nagashima H, Sun SL, Sato M, Asao A, Haji Y, Sasahara Y, Candotti F, Tsuchiya S, Kure S, Sugamura K, Ishii N. Gene therapy model of X-linked severe combined immunodeficiency using a modified foamy virus vector. *PLoS One.* 2013 Aug 21;8(8):e71594.

Watanabe Y, Sasahara Y, Ramesh N, Massaad MJ, Yeng Looi C, Kumaki S, Kure S, Geha RS, Tsuchiya S. T-cell receptor ligation causes Wiskott-Aldrich syndrome protein degradation and F-actin assembly downregulation. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Sep;132(3):648-655.e1.

Kakisaka Y, Ohara T, Hino-Fukuyo N, Uematsu M, Kure S. Abdominal and lower back pain in pediatric idiopathic stabbing headache. *Pediatrics.* 2014 Jan;133(1):e245-7.

Horino S, Sasahara Y, Sato M, Niizuma H, Kumaki S, Abukawa D, Sato A, Imaizumi M, Kanegane H, Kamachi Y, Sasaki S, Terui K, Ito E, Kobayashi I, Ariga T, Tsuchiya S, Kure S. Selective expansion of donor-derived regulatory T cells after allogeneic bone marrow transplantation in a patient with IPEX syndrome. *Pediatr Transplant.* 2014 Feb;18(1):E25-30.

#### 2. 学会発表

Kure S. Identification of a susceptibility gene for Moyamoya disease (MMD), RNF213, 3rd

Inetrnational Moyamoya Meeting, July 12-13, 2013,  
Sapporo.

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

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）  
シトルリン欠損症患者における臨床像の多様性の解明と致死的脳症の発症予防法の開発

## II型シトルリン血症（CTLN2）における中鎖脂肪酸療法について

研究分担者 早坂 清 山形大学医学部小児科

共同研究者 沼倉周彦 山形大学医学部小児科

**研究要旨** 新生児肝内胆汁うっ滞症の治療経験から、中鎖脂肪酸の投与がシトルリン欠損症の基本的病態を改善している事が強く示唆された。II型シトルリン血症への有効性を確認することを目的とし、6症例を対象とし、低炭水化物高脂肪食のもと中鎖脂肪酸を投与した。高アンモニア脳症の再発は認めず、Fischer比および血漿シトルリンが経時的に改善してきた。治療効果の判定には、食後の血中アンモニア値、Fischer比および血漿シトルリンなどが指標となると考える。中鎖脂肪酸の有効性が確認され、更なる対象症例数を増やして効果を確認する必要がある。

### A. 研究目的

新生児肝内胆汁うっ滞症（neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: NICCD）4症例の治療経験から、中鎖脂肪酸の投与がシトルリン欠損症の基本的病態を改善している事が強く示唆された。II型シトルリン血症（adult-onset type II citrullinemia: CTLN2）への有効性を確認することを目的とする。

### B. 研究対象および方法

症例1 51歳（男性）

1年前より体重が1kg程減少した。1ヶ月前より羽ばたき振戦あり。入院。  
兄CTLN2のため53歳時に死亡した。

症例2 62歳（男性）

3ヶ月前に退職し、体重が4kg程減少した。1ヶ月前より徘徊、失禁、羽ばたき振戦あり、入院。

症例3 53歳（男性）

37歳時にアンモニア脳症を起こし、組織像はNASHを示したことから、症例報告されている。安息香酸療法と食事療法が行われていた。しかし疲労感が持続し、夕食後には計算間違いをしたり、頭痛を認めた。

症例4 62歳（女性）

震災により10ヶ月前から高蛋白食から高炭水化物食となった。6ヶ月前より物忘れ、傾眠を認め、3

ヶ月前より更に意識水準が低下し、痙攣なども出現し、入院。

症例5 38歳（男性）

25～32歳までに、興奮、徘徊、意識障害を呈するエピソードを4回認めた。32歳時に、シトルリン欠損症と診断され、アルギニン、ピルビン酸、ラクツロース、ウルソなどの投与と低炭水化物療法を受けた。治療間もなく、高トリグセリド血症を呈し、ベサフィブラートの投与を受けた。

症例6 41歳（男性）

症例5の兄。NICCDの既往有り。遺伝子解析から症例4と同様の変異を有していることが判明。肝機能検査により障害を認めた。

[治療]

高脂肪低炭水化物食とし、更に中鎖脂肪酸を投与した。

（倫理面への配慮）

倫理面では、中鎖脂肪酸は健康食品であるが、治療法に関して山形大学医学部倫理委員会の承認を得ている。患者さんには副作用を含めて詳細に説明し了解を得ている。

### C.D. 研究結果および考察

いずれも入院後には、高アンモニア脳症を認めず、アンモニアも徐々に低下した。経過から、治

療効果の判定には、アンモニアの日内変動が有用な指標となることが判明した。経時的に、Fischer比および血漿シトルリンが正常化してくるが、発症早期の治療がより有効であった。また、長期効果として、症例1 & 2においては、肝エコー検査により脂肪肝の改善が確認された。

#### E. 結論

中鎖脂肪酸補充療法の有効性は確認された。療法の普及を計る必要がある。

#### F. 健康危険情報

中鎖脂肪酸の摂取法によっては、下痢を認めた。しかし、摂取法の改善により速やかに消失した。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Hayasaka K, Numakura C, Toyota K, Kimura T, Kakizaki S, Watanabe H, Haga H, Takahashi H,

Takahashi Y, Kaneko M, Yamakawa M, Nunoi H, Kato T, Ueno Y, Mori M: Medium-chain triglyceride supplementation under a low-carbohydrate formula is a promising therapy for adult-onset type II citrullinemia. *Molecular Genetics and Metabolism Reports* 1:42-50, 2014.

##### 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

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）  
シトリン欠損症患者における臨床像の多様性の解明と致死性脳症の発症予防法の開発

## 成人型シトルリン血症患者の内科的治療戦略：低炭水化物食と経口ピルビン酸の有効性

研究分担者 池田修一 信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科

共同研究者 矢崎正英\*、小松通治\*\*、中村未生\*\*\*、丸山陽子\*\*\*

\*信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科、\*\*同消化器内科、

\*\*\*信州大学附属病院栄養科

**研究要旨** [目的] 成人型シトルリン血症(CTLN2)は、シトリン欠損症患者の臨床病型で最重症型であり、以前は多くの患者が、脳症の悪化から死亡していた。肝移植療法は、本症に対して非常に有効な治療法として確立されている。一方、本症に対する内科的な治療戦略は、未だ確立できておらず、今回自験例 CTLN2 患者の治療経験から、内科的治療法、特に低炭水化物食と経口ピルビン酸ナトリウム療法の有効性について検討した。CTLN2 患者 15 名（男性 9 名；女性 6 名）に対し、炭水化物制限食（炭水化物熱量比 40-45%）と経口ピルビン酸（平均  $7.65 \pm 3.45 \text{g/day}$ : 4-15g/day）の投与を行い、臨床経過の観察から、治療法の有効性を検討した。15 名の CTLN2 患者において、最短で 2 か月、最長で 6 年経過観察を行った。投与前後の肝性昏睡度（1-5 度：犬山分類）の比較では、投与前の平均昏睡度が  $3.87 \pm 0.64$  度であったが、治療開始後は  $2.07 \pm 1.75$  と有意に改善した ( $p < 0.01$ )。10 名の患者（67%）で、脳症発作頻度の低下、脳波所見の改善が認められた。5 名については、投与後も発作を繰り返し、このうち 3 名については、肝移植を施行している。また 5 名中 2 名の患者は慢性腎不全症例であった。全例重篤な副作用は、今のところ認められていない。約 70 % の患者に有効性が認められた。重篤な副作用もなく、炭水化物制限食と経口ピルビン酸投与は、まず試みられる治療法と考えられる。

### A. 研究目的

シトリン欠損症は、小児期に新生児肝炎 (NICCD) を引き起こし、その後、一見健康な状態期を経て、致死性脳症である成人型シトルリン血症 (CTLN2) を引き起こす常染色体劣性遺伝病である。本症はミトコンドリア膜蛋白(シトリン)の欠損に起因する。CTLN2 は、シトリン欠損症患者の臨床病型で最重症型であり、以前は多くの患者が、脳症の悪化から死亡していた。肝移植療法は、本症に対して非常に有効な治療法として確立されている。一方、本症に対する内科的な治療戦略は、未だ確立できておらず、今回自験例 CTLN2 患者の治療経験から、内科的治療法、特に低炭水化物食と経口ピルビン酸ナトリウム療法の有効性について検討した。

### B. 研究方法

CTLN2 患者 15 名（表 1：男性 9 名；女性 6

名）に対し、炭水化物制限食（炭水化物熱量比 40-45%）と経口ピルビン酸（平均  $7.65 \pm 3.45 \text{g/day}$ : 4-15g/day）の投与を行い、臨床経過の観察から、治療法の有効性を検討した。

（倫理面への配慮）

成人型シトルリン血症患者に対する経口ピルビン酸投与に関しては、信州大学医学部倫理委員会の承認のもと、患者には十分なインフォームドコンセントを行い投与している。

### C. 研究結果

15 名の CTLN2 患者において、最短で 2 か月、最長で 6 年経過観察を行った。投与前後の肝性昏睡度（1-5 度：犬山分類 1981 年）の比較では、投与前の平均昏睡度が  $3.87 \pm 0.64$  度であったが、治療開始後は  $2.07 \pm 1.75$  度と有意に改善した (表 2) ( $P < 0.01$ )。10 名の患者（67%）で、有効性（最重症昏睡度の

低下、脳症発作頻度の低下、脳波所見の改善などが認められた。このうち、6名では(40%)、脳症発作をほとんど起こさなくなっている。しかしながら、15例中5名については、投与後も発作を繰り返しており、3名については肝移植を施行した。2名については、慢性腎不全患者であった。

血液検査では、血漿アンモニア値は、治療前の平均が $245.5 \pm 90$   $\mu\text{g/dl}$ で、治療後の平均値が $125.7 \pm 133.2$   $\mu\text{g/dl}$ と有意に低下したが( $p < 0.01$ )、血漿シトルリン値、Fisher比などは有意に低下しなかった(表2)。

ピルビン酸投与が有効であった2名と、肝移植施行3名のピルビン酸投与前に施行した肝生検組織を用いて、尿素回路酵素であるASSの免疫染色を施行した所、有効例では門脈域周辺にASSの発現が比較的保たれていたが、非有効例では、2例でほとんど発現がなく、1例でも発現が弱かった。

本治療による副作用に関しては、全例で重篤な副作用は、今のところ認められていない。

#### D. 考察

血液検査上では、血漿シトルリン値は、有意に低下しなかったが、血漿アンモニアの低下や肝性昏睡度は、食事療法とピルビン酸投与により有意に低下・改善した。約70%の患者で、有効性が認められたが、5名では、脳症発作を繰り返しており、3名で肝移植を施行した。また2名では慢性腎不全患者であった。以上の結果から、低炭水化物食と経口ピルビン酸投与は、多くの患者に有効で、脳症の発作消失も期待できるが、残存肝ASSの極めて低い患者や、腎不全患者に有効性が劣る可能性が示された。

#### E. 結論

約70%の患者に有効性が認められた。重篤な副作用もなく、炭水化物制限食と経口ピルビン酸投与は、まず試みられる治療法と考えられる。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Yazaki M, Kinoshita M, Ogawa S, Fujimi S, Matsushita A, Hineno A, Tazawa K, 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 115:1542-1545, 2013

2) Tazawa K, Yazaki M, Fukushima K, Ogata S, Makuuchi M, Morita K, Hiraishi H, Iwasaki Y, Kita J, Kubota K, **Ikeda S**: Patient with adult-onset type II citrullinemia beginning 2 years after operation for duodenal malignant somatostatinoma: indication for liver transplantation. Hepatol Res 43:563-568, 2013

##### 2. 学会発表

1) 矢崎正英、池田修一：成人型シトルリン血症の臨床病理像と遺伝子変異の対応。第54回日本神経学会総会、東京、5月、2013

2) 木下朋実、田澤浩一、下条久志、矢崎正英、小柳清光、池田修一：成人発症2型シトルリン血症の中樞神経系：2剖検例の免疫組織検討。第54回日本神経病理学会総会学術研究会、東京、4月、2013

3) Yazaki M, **Ikeda S**, Saheki T. Therapeutic strategy for patients with adult onset type II citrullinemia (CTLN2). The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), Chiba, 11月, 2013

#### 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



	Sex	Age at treatment	Mutation	Daily dose (g)	Encephalopathy of pre-treatment	Encephalopathy of post-treatment	Attacks of encephalopathy after treatment	Duration (year)	Liver-transplant	Arginine	Prognosis (yrs from LT)
1	M	51	I/IV	7.5	IV	II	4	6	-	+	alive
2	M	48	I/I	4	IV	0	0	6	-	+	alive
3	M	52	I/II	7.5	III	0	0	4.5	-	+	alive
4	F	50	III/IV	9	IV	IV	8	1	+	+	alive(4)
5	F	49	I/II	6	IV	IV	1	4	-	-	alive
6	M	38	II/XXIX	6	III	0	0	4	-	+	alive
7	F	54	II/II	7.5	III	I	1	3	-	+	alive
8	F	35	I/II	15	V	III	10	2.5mo	+	+	alive(3)
9	F	73	I/II	9	V	II	unclear	1.5	-	+	died
10	M	38	I/Q357R	9	IV	IV	5	2mo	+	+	alive(2)
11	F	57	III/II	6	IV	IV	8	3	-	+	alive
12	M	44	I/III	6	IV	0	0	1.5mo	+	+	alive (2)
13	M	43	VI/VI	7.5	III	0	0	1	-	+	alive
14	M	54	III	6	IV	IV	6	1	-	-	alive
15	M	35	I/IV	15	IV	III	4	2mo	-	+	alive

表1 ピルビン酸投与 15 名患者の臨床像。患者 4,8,10 では、投与後も脳症の発作あり、肝移植を施行した。患者 12 では、脳症にて、麻痺や失調などの脳卒中様となり、肝移植を施行したが、脳症の発作抑制には有効であった。患者 5,11,14 は慢性腎不全患者で、患者 11,14 で脳症発作を繰り返している。

	投与前	投与後	有意差
最重症昏睡度	3.87±0.64	2.07±1.75	p<0.01
血漿アンモニア (μg/dL)	245.5±90	125.7±133.2	P<0.01
血漿シトルリン (nmol/mL)	639.3±513.9	454.3±325.8	NS
血漿Fischer比	2.63±1.68	2.28±0.58	NS

表2 ピルビン酸投与前後の平均肝性昏睡度(犬山分類)・血液検査結果

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）  
シトリン欠損症患者における臨床像の多様性の解明と致死性脳症の発症予防法の開発

## シトリン欠損症スクリーニングの検討 ～食嗜好に注目して～

研究分担者 栗山 進一 東北大学災害科学国際研究所 災害公衆衛生学分野  
共同研究者 石黒 真美<sup>1</sup>、成川 洋子<sup>1</sup>、小原 拓<sup>1</sup>、目時 弘仁<sup>1</sup>、菊谷 昌浩<sup>1</sup>  
坂本 修<sup>2</sup>、呉 繁夫<sup>2</sup>、大浦 敏博<sup>3</sup>

1 東北大学東北メディカル・メガバンク機構

2 東北大学病院 小児科

3 仙台市立病院 小児科

**研究要旨** シトリン欠損症の確定診断には遺伝子検査が必要であり、簡易な方法でシトリン欠損症をスクリーニングする方法は未だ確立されていない。しかし、シトリン欠損症では高たんぱく・脂質を好み、糖質を嫌うという特徴的な食嗜好があることが知られており、適応・代償期でも同様の食嗜好が認められている。本研究では5歳以上のシトリン欠損症患者またはその保護者6名に無記名の自記式アンケート調査を実施し、食嗜好によるシトリン欠損症のスクリーニング方法を検討した。糖質を多く含む食品については「食べない（飲まない）」、「食べる（飲む）と具合が悪くなる」傾向が認められた。しかし、基礎特性等との関連については認められなかった。シトリン欠損症のスクリーニングには「あんこの入った和菓子」、「リンゴジュース」を嫌う傾向、脂質・タンパク質を好む傾向の組み合わせを用いた食嗜好の調査が有用である可能性が示唆されるが、スクリーニングの確立には至らなかった。

### A. 研究目的

代謝性疾患の一つであるシトリン欠損症は、尿素合成に必要なアスパラギン酸が低下し、種々の代謝系が影響を受けてシトルリン血症と高アンモニア血症を引き起こすため、生命に関わる重大な疾患である。シトリン欠損症は、新生児肝内胆汁うっ滞症（neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: NICCD）及び成人発症Ⅱ型シトルリン血症（adult onset type Ⅱ citrullinemia: CTLN2）を含む疾患概念である。日本ではヘテロ保有者が60人に1人であり、諸外国に比較して多い。また、実際に約17,000人に1人が罹患すると報告されている。しかし、CTLN2の発症率は100,000人に1人であり、確定診断を受けていない人々が相当数存在すると推測されている。NICCDでは低出生体重、遷延性/遅発性黄疸や胆汁うっ滞などが認められる。新生児マススクリーニングではメチオニン、フェニルアラニン、ガラクトースなどの高値により精査をして発見されることもあるが、約半数に止まる。また、

多くの場合は6か月～1歳頃までに正常化したり、中には無症状のまま経過するケースもあるため見過ごされやすい。現在ではタンデムマス・スクリーニングの対象疾患とされているが、タンデムマスは導入が開始されたばかりであり、診断に至っていない人々が存在していると考えられる。一方、CTLN2の発症時期は10歳代から70歳代と幅広く報告されている。

シトリン欠損症の確定診断には遺伝子検査が必要であり、簡易な方法でシトリン欠損症をスクリーニングする方法は未だ確立されていない。しかし、シトリン欠損症では高たんぱく・脂質を好み、糖質を嫌うという特徴的な食嗜好があることが知られており、適応・代償期でも同様の食嗜好が認められている。そこで、本研究では食嗜好によるシトリン欠損症のスクリーニング方法を検討する。

### B. 研究方法

○対象

医療機関を受診している5歳以上のシトリン欠損症患者または患者の保護者8名。

#### ○研究デザイン

本研究は無記名の自記式アンケート票による横断調査である。アンケートは原則として中学生以上の場合には本人に記入してもらうが、小学生以下や筆記が困難な場合は保護者記入してもらう。

#### ○調査期間

2013年12月16日-2014年1月17日

#### ○調査実施方法

対象者のリクルートは医療機関内で実施する。本研究は無記名で実施するアンケート調査であるため、説明書をアンケート票に添付してアンケートの回答をもって同意とみなす。説明書を基に本研究代表者又は研究分担者、共同研究者が対象者へ郵送又は来院時に対面で調査の説明をする。その上で調査に参加可能な対象者にはアンケートに記入してもらい、郵送または対面で回収する。

#### ○調査項目

- ・対象者の属性：性別、年齢、出生時体重、在胎週数、現在の身長・体重 等
- ・食事嗜好：羊羹、リンゴジュースなどの糖質を多く含む食品と枝豆、ピーナッツなどたんぱく質や脂質を多く含む11項目の食品について、それぞれの摂取頻度を問う（「非常によく食べる」、「よく食べる」、「普通に食べる」、「あまり食べない」、「全く食べない」）。さらに、「食べる（飲む）と具合がわるくなる」食品があればチェックをつけてもらう。その他の食品で好きなもの、嫌いなものを自由記載で回答を得る。

#### ○分析方法

糖質、たんぱく質、脂質を多く含む食品それぞれの食嗜好について摂取頻度を5段階（「非常によく食べる=5」、「よく食べる=4」、「普通に食べる=3」、「あまり食べない=2」、「全く食べない=1」）で評価する。また、タンパク質・脂質を好み、糖質を嫌う傾向が強いほど高得点になる計算式を用いた得点分布を特定する（図1）。統計ソフトはSAS ver9.3を使用する。

#### （倫理面への配慮）

本研究は無記名で実施するため、研究結果を公表する際の情報は連結不可能匿名化されている。

### C. 研究結果

8名のシトリン欠損症患者またはその保護者にアンケートを配布し、6名から回答を得た。6名のうち2名は保護者による回答であった。年齢は大きくばらついているが、body mass index (BMI)や出生体重に一定の傾向は認められなかった（表1）。個々の食品毎に摂取頻度を検討した結果、「あんこのはいた和菓子」については摂取頻度の平均が1.0（0）であり、全員が「全く食べない」と回答していた。しかし、あんこの入った和菓子について6人中4人が「食べると具合が悪くなる」と回答していた。「リンゴジュース」では、平均が1.2（0.4）であり、「飲むと具合が悪くなる」と回答している人は6人中5人であった。一方、たんぱく質・脂質を多く含む食品については食べる人、食べない人のばらつきがあった。また、計算式を用いた得点については基礎特性との関連は認められなかった（23-52点）。

### D. 考察

本研究の結果から、シトリン欠損症の患者では糖質を多く含む食品では「あまり/全く食べない（飲まない）」や「食べる（飲む）と具合が悪くなる」と回答する傾向が認められた。スクリーニングには「あんこの入った和菓子」、「リンゴジュース」を嫌う傾向、脂質・タンパク質を好む傾向の組み合わせを用いた食嗜好の調査が有用である可能性が示されたが、スクリーニング方法の確立には至らなかった。今後は健常者との比較を進めるとともに、大規模集団でさらに解析を進めていく必要がある。

また、今回の結果からは性別、年齢、BMI、出生体重等と計算式による得点の関連は見られなかった。食嗜好の結果と同様に本研究の対象人数が少なかったことが原因と考えられる。シトリン欠損症は把握されている患者数自体が少ないため、全国規模、さらには諸外国のデータも合わせ検討していく必要がある。

### E. 結論

シトリン欠損症のスクリーニングには「あんこの入った和菓子」、「リンゴジュース」を嫌う傾向、脂質・タンパク質を好む傾向の組み合わせを用いた食嗜好の調査が有用である可能性が示唆されるが、スクリーニングの確立には至らなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

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

**【採点法】**  
 太線内のチェック数 X +3 点  
 点線内のチェック数 X -2 点  
 二重線内のバツ数 X +5 点  
 ①+②+③の合計点数を求める。

一つ選んで下さい

	非常に よく食べる	よく 食べる	普通に 食べる	あまり 食べない	全く 食べない	
① 羊羹(ようかん)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	あてはまる場合 Xを付けて ください  食べる(飲む)と 具合が変わる くなる  <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
② 枝豆(えだまめ)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
③ リンゴジュース	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
④ とりのから揚げ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
⑤ キャンディー	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
⑥ ポテトチップス	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
⑦ ピーナッツ(落花生(らっかせい))	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
⑧ あんこの入った和菓子	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
⑨ 牛乳	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
⑩ チーズ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
⑪ キャラメル	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

図1 食嗜好の採点基準

性別	年齢	身長 (cm)	体重 (kg)	BMI <sup>2</sup> (kg/m <sup>2</sup> )	出生体重 (g)
男性	16 歳	167	53	19.0	2,940
	17 歳	178	71	22.4	3,140
	75 歳	165	55	20.2	未回答
女性	11 歳	131	26	15.2	2,560
	12 歳	152	46	19.9	2,460
	26 歳	151	50	21.9	2,600

表1 基礎特性

食品	平均 (SD)	食べると具合が悪くなる(人数)
羊羹	1.2 (0.4)	4/6
枝豆	4.2 (1.0)	0/6
リンゴジュース	1.2 (0.4)	5/6
とりのから揚げ	4.0 (0.9)	0/6
キャンディー	2.2 (1.0)	2/6
ポテトチップス	3.0 (0.9)	0/6
ピーナッツ(落花生)	4.0 (1.7)	0/6
あんこの入った和菓子	1.0 (0)	4/6
牛乳	4.2 (1.3)	1/6
チーズ	4.5 (0.8)	0/6
キャラメル	2.2 (1.0)	2/6

表2 食品摂取頻度

### [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

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
Yazaki M, Kinoshita M, Ogawa S, Fujimi S, Matsushita A, Hineno A, Tazawa K, Fukushima K, Kimura R, Yanagida M, Matsunaga H, Saheki T, <u>Ikeda S</u>	A 73-year-old patient with adult-onset type II citrullinemia successfully treated by sodium pyruvate and arginine.	Clin Neurol Neurosurg	115	1542-1545	2013
Tazawa K, Yazaki M, Fukushima K, Ogata S, Makuuchi M, Morita K, Hiraishi H, Iwasaki Y, Kita J, Kubota K, <u>Ikeda S</u>	Patient with adult-onset type II citrullinemia beginning 2 years after operation for duodenal malignant somatostatinoma: indication for liver transplantation.	Hepatol Res	43	563-568	2013
Wongkittichote P, Sukasem C, Kikuchi A, Aekplakorn W, Jensen LT, <u>Kure S</u> , Wattanasirichaigoon D	Screening of SLC25A13 mutation in the Thai population.	World J Gastroenterol.	19	7735-42	2013
Numata Y, Morimura T, Nakamura S, Hirano E, <u>Kure S</u> , Goto YI, Inoue K	Depletion of molecular chaperones from the endoplasmic reticulum and fragmentation of the Golgi apparatus associated with pathogenesis in Pelizaeus-Merzbacher disease.	J Biol Chem.	288	7451-66	2013
Horino S, Uchiyama T, So T, Nagashima H, Sun SL, Sato M, Asao A, Haji Y, Sasahara Y, Candotti F, Tsuchiya S, <u>Kure S</u> , Sugamura K, Ishii N	Gene therapy model of X-linked severe combined immunodeficiency using a modified foamy virus vector.	PLoS One.	8	e71594	2013



Watanabe Y, Sasahara Y, Ramesh N, Massaad MJ, Yeng Looi C, Kumaki S, <u>Kure S</u> , Geha RS, Tsuchiya S	T-cell receptor ligation causes Wiskott-Aldrich syndrome protein degradation and F-actin assembly downregulation.	J Allergy Clin Immunol.	132	648-655	2013
Kakisaka Y, Ohara T, Hino-Fukuyo N, Uematsu M, <u>Kure S</u>	Abdominal and lower back pain in pediatric idiopathic stabbing headache.	Pediatrics.	133	e245-7	2014
Horino S, Sasahara Y, Sato M, Niizuma H, Kumaki S, Abukawa D, Sato A, Imaizumi M, Kanegane H, Kamachi Y, Sasaki S, Terui K, Ito E, Kobayashi I, Ariga T, Tsuchiya S, <u>Kure S</u>	Selective expansion of donor-derived regulatory T cells after allogeneic bone marrow transplantation in a patient with IPEX syndrome.	Pediatr Transplant.	18	E25-30	2014
<u>Hayasaka K</u> , Numakura C, Toyota K, Kimura T, Kakizaki S, Watanabe H, Haga H, Takahashi H, Takahashi Y, Kaneko M, Yamakawa M, Nunoi H, Kato T, Ueno Y, Mori M	Medium-chain triglyceride supplementation under a low-carbohydrate formula is a promising therapy for adult-onset type II citrullinemia.	Molecular Genetics and Metabolism Reports	1	42-50	2014
Nakagawa M, Taniguchi Y, Senda S, Takizawa N, Ichisaka T, Asano K, Morizane A, Doi D, Takahashi J, Nishizawa M, Yoshida Y, Toyoda T, <u>Osafune K</u> , Sekiguchi K, Yamanaka S	A novel efficient feeder-free culture system for the derivation of human induced pluripotent stem cells.	Scientific Reports	4	3594	2014

Du J, Cleghorn W, Contreras L, Linton JD, Chan GC, Chertov AO, <u>Saheki T</u> , Govindaraju V, Sadilek M, Satrústegui J, Hurley JB	Cytosolic reducing power preserves glutamate in retina.	Proc Natl Acad Sci U S A.	110	18501-18506	2013
Song YZ, Zhang ZH, Lin WX, Zhao XJ, Deng M, Ma YL, Guo L, Chen FP, Long XL, He XL, Sunada Y, Soneda S, Nakatomi A, Dateki S, Ngu LH, Kobayashi K, <u>Saheki T</u>	LC25A13 gene analysis in citrin deficiency: sixteen novel mutations in East Asian patients, and the mutation distribution in a large pediatric cohort in China.	PLoS One	8	e74544	2013
Llorente-Folch I, Rueda CB, Amigo I, del Arco A, <u>Saheki T</u> , Pardo B, Satrústegui J	Calcium-regulation of mitochondrial respiration maintains ATP homeostasis and requires ARALAR/AGC1-malate aspartate shuttle in intact cortical neurons.	Neurosci	33	13957-13971	2013
Chen R, Wang XH, Fu HY, Zhang SR, Abudouxikuer K, <u>Saheki T</u> , Wang JS	Different regional distribution of SLC25A13 mutations in Chinese patients with neonatal intrahepatic cholestasis.	World J Gastroenterol.	19	4545-4551	2013
Llorente-Folch I, Sahún I, Contreras L, Casarejos MJ, Grau JM, <u>Saheki T</u> , 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	2013

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
前 伸一、 荒岡 利 和、長船 健二	iPS 細胞培養法.	富野康日己	分子腎臓病学 実験操作法	中外医学 社	東京	2013	27-36
Saheki T	“Animal models of enhanced oxidative stress” (especially murine model of human citrin deficiency).	Tsukahara H & Kaneko K	Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders	Springer Science and Business Media	New York	in press	

## [IV] 本年度の活動報告