

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」
平成 25 年度（研究班最終年度）ワークショップ

日時：平成 25 年 8 月 9 日（金） 14:00－17:30

場所： ホテルモントレ仙台 5階 リリー

（宮城県仙台市青葉区中央 4 丁目 1 番 8 号 Tel 022-265-7740）

プログラム

14:00－14:10

1. 研究班班長挨拶

信州大学脳神経内科、リウマチ・膠原病内科 池田修一

14:10－14:30

2. シトリン欠損症の病態解析—動物モデルでの最近の知見

熊本大学生命資源研究・支援センター疾患モデル分野 佐伯武頼

14:30－14:50

3. 思春期シトリン欠損症患者の臨床病態

兵庫医科大学遺伝学 岡野善行

14:50－15:10

4. NICCD の臨床診断基準

仙台市立病院 小児科 大浦敏博

15:10－15:30

5. CTLN2 の臨床診断基準

信州大学脳神経内科、リウマチ・膠原病内科 矢崎正英

（15:30－15:45）コーヒープレイク

特別講演

15:45－16:15 座長 佐伯武頼

熊本大学生命資源研究・支援センター疾患モデル分野

1. iPS 細胞技術を用いたシトリン欠損症に対する新規疾患モデルの作製

京都大学 iPS 細胞研究所 長船健二

16:15－16:45 座長 池田修一

信州大学脳神経内科、リウマチ・膠原病内科

2. シトリン欠損症における NAFLD 発症の分子機構探索

信州大学医学部 代謝制御学 青山俊文

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 研究班

平成 25 年度 研究報告会 プログラム・抄録集

日時：平成 26 年 1 月 31 日（金）11:00～15:00

場所：KKR ホテル東京 11 階 白鳥

（東京都千代田区大手町 1-4-1 Tel 03-3287-2921）

厚生労働科学研究費補助金 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」

研究代表者 池田修一

事務局 矢崎正英、倉科美鈴

信州大学医学部内科学（脳神経内科、リウマチ・膠原病内科）

〒390-8621 松本市旭 3-1-1

TEL 0263-37-2673 FAX 0263-37-3427

e-mail misuzuku@shinshu-u.ac.jp

11:00 開会挨拶 研究代表者 池田修一

11:10~11:40

セッション1 動物モデル, 基礎研究 (I)

座長: 呉 繁夫

11:10~11:25

1. シトリン欠損症モデルマウス **Ctrn/mGPD double-KO** マウスにおける尿中および血漿グリセロールレベルと病態・治療との関連

○^{さへきたけより}佐伯武頼¹⁾、藤本侑希¹⁾、山村研一¹⁾

熊本大学生命資源研究・支援センター疾患モデル分野¹⁾

11:25~11:40

2. シトリン欠損症モデルマウス **Ctrn/mGPD double-KO** マウスにおけるグリセロール産生増加の機構

○^{もりやまみつあき}森山光章¹⁾、牛飼美晴²⁾、黒田英志²⁾、乾 明夫²⁾、佐伯武頼³⁾

大阪府立大学大学院生命環境科学研究科統合生理学¹⁾、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科心身内科学分野²⁾、熊本大学生命資源研究・支援センター疾患モデル分野³⁾

11:40~12:25

セッション2 動物モデル, 基礎研究 (II)

座長: 小松通治

11:40~11:55

3. シトリン欠損症モデルマウスの糖質忌避の機構解析

○^{さへきたけより}佐伯武頼¹⁾、藤本侑希¹⁾、古家澄江¹⁾、山村研一¹⁾、井上可奈子²⁾、黒田英志³⁾、牛飼美晴³⁾、乾 明夫³⁾

熊本大学生命資源研究・支援センター疾患モデル分野¹⁾、徳島文理大学健康科学研究所²⁾、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科心身内科学分野³⁾

11:55~12:10

4. 成人型シトルリン血症特異的 **iPS** 細胞を用いた新規疾患モデルの作製

○^{おさふねけんじ}長船健二¹⁾、吉利エレナ幸江¹⁾、小高真希¹⁾、矢崎正英²⁾、池田修一²⁾

京都大学 iPS 細胞研究所¹⁾、信州大学医学部第三内科²⁾

12:10~12:25

5. シトルリン欠損症の肝組織を用いた炎症・脂肪代謝関連遺伝子の解析

○こまつみちはる小松通治¹⁾、木村岳史¹⁾、青山俊文²⁾、田中榮司¹⁾

信州大学医学部第二内科¹⁾、信州大学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²⁾

昼食 12:30-13:30 (班構成員会議)

13:30~14:15

セッション3 診断と治療

座長：佐伯武頼

13:30~13:45

6. シトル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

○くれしげお呉 繁夫¹⁾、市野井那津子¹⁾、菊池敦生¹⁾、坂本修¹⁾、大浦敏博²⁾

東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野¹⁾、仙台市立病院小児科²⁾

13:45~14:00

7. 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

○はやさか きよし早坂 清、沼倉周彦

山形大学医学部小児科

14:00~14:15

8. 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

○やぎまさひで矢崎正英¹⁾、池田修一¹⁾、小松通治²⁾、中村未生³⁾、丸山陽子³⁾

信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科¹⁾、消化器内科²⁾、附属病院栄養部³⁾

14:15～14:30

セッション4 疫学調査、その他

座長：早坂 清

14:15～14:30

9. 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～

○栗山進一^{1),2)}、石黒真美²⁾、成川洋子²⁾、小原拓²⁾、目時弘仁²⁾、菊谷昌浩²⁾、坂本修³⁾、呉 繁夫³⁾、大浦敏博⁴⁾

東北大学災害科学国際研究所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⁴⁾

14:30

閉会挨拶 研究代表者 池田修一

抄 録 集

1

平成 25 年度

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 抄録

[演題名] シトリン欠損症モデルマウス Ctrn/mGPD double-KO マウスにおける尿中および血漿グリセロールレベルと病態・治療との関連

[演者] 佐伯武頼¹⁾、藤本侑希¹⁾、山村研一¹⁾

[所属] 熊本大学生命資源研究支援センター疾患モデル分野¹⁾

[目的]

シトリン欠損症モデルマウスの解析からショ糖投与などの発症要因の最も大きな代謝上の影響は、肝内 glycerol 3-phosphate (G3P)濃度の著しい上昇である。しかし、この検出には NMR などの大掛かりな機器を必要とし、手軽に診断に用いることはできません。そこで、肝内 G3P の変化が血漿や尿中の G3P またはグリセロールとして検出可能かどうかを検討した。

[方法]

実験には 13 から 24 週齢の野生型、Ctrn-KO、mGPD-KO および Ctrn/mGPD double-KO マウスを用いた。マウスをメタボリックケージに入れ、尿を、CE-2 摂食下、または 8 時間絶食後、夜間 17 時から朝 9 時まで 16 時間採取した。生理的食塩水、または 25%ショ糖を胃管を通して 20ml/kg (5g/kg) 投与し、1 時間後に採血し、血漿を分離した。尿と血漿のグリセロールは酵素法で定量した。

[結果および考察]

尿中において G3P およびグリセロールともに検出可能であった。また、摂食条件下ではいずれも double-KO マウスのレベルが他のマウス（野生型、citrin-KO および mGPD-KO マウス）に比し、有意に高値だったが、絶食条件下では、G3P レベルには有意差は得られなかった。血漿では G3P は検出限界以下の値であったが、グリセロールは検出可能であった。が、マウス間には有意な差はなかった。しかし、ショ糖を投与した 1 時間後の血漿グリセロールレベルは double-KO マウスにおいてのみ上昇していた。さらに、ショ糖にトリプトン、ピルビン酸ナトリウム、アラニンなど肝内 G3P レベルに効果がある物質はショ糖投与で上昇した血漿グリセロールを低下させた。また、血漿グリセロールレベルは血中アンモニアと弱い相関が得られた。

[結論]

以上の結果から、尿および血漿中のグリセロールレベルはシトリン欠損症の診断に有効である可能性を見出すことができた。尿グリセロールはシトリン欠損症存在の可能性を、血漿グリセロールは重症のシトリン欠損症存在の可能性および治療薬の検定に用いることができる可能性を示唆している。

2

平成 25 年度

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 抄録

〔演題名〕 シトリン欠損症モデルマウス Ctrn/mGPD double-KO マウスにおけるグリセロール産生増加の機構

〔演者〕 森山光章¹⁾、牛飼美晴²⁾、黒田英志²⁾、乾 明夫²⁾、佐伯武頼³⁾

〔所属〕 大阪府立大学大学院生命環境科学研究科統合生理学¹⁾、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科心身内科学分野²⁾、熊本大学生命資源研究・支援センター疾患モデル分野³⁾

〔目的〕

Ctrn/mGPD double-KO マウスを用いたこれまでの解析から、ショ糖負荷後の血中グリセロール濃度が増加すること、さらに尿中へのグリセロール放出が絶食・摂食時にかかわらず見られることが明らかとなってきている。この増加が肝臓でのグリセロール産生によるものかを灌流肝を用いて明らかにすることを目的とする。

〔方法〕

実験には 13 から 24 週齢の野生型、Ctrn-KO、mGPD-KO および Ctrn/mGPD double-KO マウスを用いた。24 時間絶食したマウスの肝臓を Krebs-bicarbonate buffer を用いて灌流し、フルクトース (5 mM) から合成されるグリセロール量を評価した。

〔結果および考察〕

フルクトース添加後に産生されるグルコース量は 4 群間で差は見られなかった。mGPD-KO 群、double-KO 群ともフルクトース添加後のグリセロール産生は増加したが、mGPD-KO 群では添加後 10 分以内に元のレベルに戻るのに対し、double-KO 群では高い値を維持した。Double-KO 群におけるグリセロール産生の増加は、細胞質内酸化還元状態の指標である乳酸/ピルビン酸比 (L/P 比) の増加を伴っていた。Double-KO 群において、ピルビン酸や酸化剤である phenazine methosulphate の添加は、L/P 比を低下させ、グリセロール産生も減少させた。また、リンゴ酸-アスパラギン酸シャトルの阻害剤である aminooxyacetate を添加することにより L/P 比を上昇させると、mGPD-KO 群においてもグリセロール産生を増加させることができた。これらの結果から、細胞質内の酸化還元状態がグリセロール産生の調節因子であると考えられる。

〔結論〕

Ctrn/mGPD double-KO マウスにおいて、糖質であるフルクトースからのグリセロール産生の増加は肝臓に起因することが明らかとなった。シトリン欠損症患者において、糖質摂取後の血中および尿中グリセロール濃度は増加している可能性がある。

3

平成 25 年度

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 抄録

〔演題名〕シトリン欠損症モデルマウスの糖質忌避の機構解析

〔演者〕佐伯武頼¹⁾、藤本侑希¹⁾、古家澄江¹⁾、山村研一¹⁾、井上可奈子²⁾、黒田英志³⁾、牛飼美晴³⁾、乾 明夫³⁾

〔所属〕熊本大学生命資源研究・支援センター疾患モデル分野¹⁾、徳島文理大学健康科学研究所²⁾、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科心身内科学分野²⁾

〔目的〕

シトリン欠損症では糖質の摂取により、細胞質 NADH が上昇し、高アンモニア血症を起こす。また、その他細胞質 NADH 上昇を起こすアルコール摂取、脳浮腫治療に使用されてきたグリセロール（グリセロール+フルクトース）の輸液も同様に成人発症シトルリン血症（CTLN2）発症をもたらす要因である。これらの CTLN2 発症要因がどのように作用するのか、糖質を嫌う（忌避する）機構は何か、の解明を目指す。

〔方法〕

実験には 13 から 24 週齢の野生型、Ctrn-KO、mGPD-KO および Ctrn/mGPD double-KO マウスを用いた。溶液飲用実験では、濃度変化した溶液（ショ糖、エタノール、グリセロール）と水を 2 本のボトルに入れ、マウスが自由に摂取可能とし、1 日に摂取した溶液量を重量変化で算出した。また、試験溶液と水の合計の全溶液摂取量における試験溶液の摂取割合を preference として算出した。肝臓における代謝中間体変化は、胃管による強制的な溶液投与 1 時間後に肝臓を freeze-clamp 法によって採取し、PCA 抽出液中の代謝物を酵素法、LC 法または LC/MS 法によって定量した。

〔結果および考察〕

ショ糖摂取実験では double-KO マウスでのみ高濃度溶液の摂取忌避が観察された。一方、エタノールおよびグリセロール摂取では double-KO マウスに加え、mGPD-KO マウス、さらには citrin-KO マウスも高濃度溶液の摂取を忌避した。この忌避の機構を解明するために、Saheki et al.(2011)によって明らかにされたショ糖の強制投与に伴って生じる代謝中間体の濃度変化（glycerol 3-phosphate、citrulline、citrate、glutamate、glutamine、aspartate、lysine）、および ATP レベルの変化を検討した。その結果、ショ糖、エタノール、グリセロールの摂取忌避を来す条件下では共通して、細胞質 NADH 蓄積を示す glycerol 3-phosphate の上昇と ATP の低下が同時に見られること、一方のみの異常では忌避が起こらないことを確認した。

〔結論〕

Ctrn/mGPD double-KO マウスにおける糖質摂取忌避の機構には、同様に摂取忌避を起こすエタノールおよびグリセロールを用いた実験と併せて、細胞質 NADH 上昇を示す G3P の蓄積と ATP レベルの低下が同時に起こることが重要と考えられる。それらの代謝変動がどのように脳神経系に作用するのか、今後の研究が必要である。

[演題名] 成人型シトルリン血症特異的 iPS 細胞を用いた新規疾患モデルの作製

[演者] 長船健二¹⁾、吉利エレナ幸江¹⁾、小高真希¹⁾、矢崎正英²⁾、池田修一²⁾

[所属] 京都大学 iPS 細胞研究所¹⁾、信州大学医学部第三内科²⁾

[目的]

尿素サイクル関連分子である Citrin の欠損で発症する常染色体劣性疾患である成人型シトルリン血症は、肝細胞内の脂肪変性と肝線維症から肝硬変に至る非アルコール性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis; NASH) の病態を呈する。シトルリン血症と NASH の病態解明や新規治療法の開発研究に遺伝子改変マウスなどが使用されているが、ヒトの病態に完全には合致していないため、病態を正確に模倣した新規疾患モデルの開発が望まれている。本研究の目的は、成人型シトルリン血症患者体細胞から疾患特異的 iPS 細胞を樹立し試験管内で肝細胞に分化誘導することによって、同疾患の病態を再現する新規の試験管内疾患モデルを開発することである。そして、肝移植以外に根治的治療法のない致死性代謝性脳症であるシトルリン血症と NASH の治療法開発に繋げることである。

[方法]

信州大学医学部附属病院に通院加療中の成人型シトルリン血症 3 例の患者からレトロウイルスまたはエピゾーマルベクターによる初期化誘導因子の遺伝子導入にて疾患特異的 iPS 細胞を樹立する。次に、樹立された iPS 細胞を成人型シトルリン血症の罹患細胞種である肝細胞に試験管内で分化誘導することにより、病態を模倣する試験管内疾患モデルの作製を行う。併せて既報のヒト ES/iPS 細胞から肝細胞への分化誘導法を改良し、より効率よくかつより成熟した肝細胞の作製方法も検討する。

[結果および考察]

成人型シトルリン血症特異的 iPS 細胞から罹患細胞種である肝細胞への試験管内での分化誘導を行った。そして、RT-PCR 法と免疫染色法にて、ALBUMIN, AFP, AAT, CYP3A4, CYP3A5 などの肝細胞マーカーに加え、Citrin や ASL (argininosuccinate lyase), ARG1 (arginase 1), ASS (argininosuccinate synthetase), OTC (Ornithine transcarbamoylase) などの尿素サイクル関連遺伝子の発現を確認した。現在、アンモニア負荷後の尿素産生能の評価および肝組織の作製を行っている。

本疾患に対するマウスなどの動物モデルは複数開発されているが、ヒトの病態を完全に模倣できる動物モデルは存在しておらず、本研究で確立した疾患肝細胞モデルは成人型シトルリン血症の病態を解析する上で有用なツールになるものと考えられる。

[結論]

成人型シトルリン血症の患者体細胞から疾患特異的 iPS 細胞は樹立可能であり、樹立された iPS 細胞から分化誘導された肝細胞は試験管内疾患モデル作製に使用可能である。

[演題名] シトリン欠損症の肝組織を用いた脂肪代謝・炎症関連遺伝子の解析

[演者] 小松通治¹⁾、木村岳史¹⁾、青山俊文²⁾、田中榮司¹⁾

[所属] 信州大学医学部第二内科¹⁾、信州大学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²⁾

[目的]

シトリン欠損症は脂肪肝を高率に合併し、PPAR- α の活性低下が脂肪肝生成の機序である可能性を報告した。今回は PPAR を中心とした遺伝子解析に加え、活性低下の原因を検索するためにこれまでに PPAR- α の活性低下に関係すると言われていた炎症に関する遺伝子群、また組織中の炎症所見等を検討し、PPAR- α の活性低下の原因を明らかにすることを目的とした。

[方法]

シトリン欠損症患者より肝生検等で得られた肝組織 14 検体を脂肪沈着 <33% である 9 検体、>33% である 5 検体に分けて脂質代謝関連遺伝子・炎症関連遺伝子について解析した。Normal control として肝移植ドナーより得た 7 検体も同様に解析した。

[結果および考察]

脂質代謝関連遺伝子については前回と同様で、シトリン欠損症肝では PPAR- α に影響を受ける遺伝子群の活性低下を認めた。また脂肪酸の酸化についても評価し、 β 酸化の低下や血清ケトン体の低下を認めた。炎症マーカーについては TNF で脂肪沈着が多い群で活性上昇を認めたが、その他では有意な差は認めなかった。

これらの結果よりシトリン欠損症では脂肪酸の分解がより抑制されている可能性があり、そのために肝細胞内に脂肪が蓄積する可能性が示唆された。

[結論]

今回の解析結果では脂肪酸分解の活性低下が脂肪肝形成の一因となっており、PPAR- α の活性低下に関しては炎症等の影響は少なかった。

[演題名]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

[演者] 呉 繁夫¹⁾、市野井那津子¹⁾、菊池敦生¹⁾、坂本¹⁾ 修、大浦敏博²⁾

[所属] 東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野¹⁾、仙台市立病院小児科²⁾

[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。

[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・シーケンサーを、エクソーム解析には IonProton 次世代シーケンサー(Life Technology 社)を、用いた。

[結果および考察]

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・シーケンスを実施し、9 例（69%）で 2 つ目の遺伝子変異を同定できた。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 3 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。

[結論]

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可能と考えられる。

平成 25 年度

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性脳症の発症予防法の開発 抄録

[演題名] 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

[演者] 早坂 清, 沼倉 周彦

[所属] 山形大学医学部小児科

[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.

[症例]

症例 1 51 歳 (男性) アンモニア脳症. 兄 CTLN2 のため 53 歳時に死亡.

症例 2 62 歳 (男性) アンモニア脳症.

症例 3 53 歳 (男性) アンモニア脳症. NASH

症例 4 62 歳 (女性) アンモニア脳症.

症例 5 38 歳 (男性) アンモニア脳症.

症例 6 41 歳 (男性) 症例 5 の兄. 肝機能障害.

[治療]

高脂肪低炭水化物食とし, 更に中鎖脂肪酸を毎食事時に投与した. 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.

[結果および考察]

いずれも治療開始後には, 疲労感は消失し, アンモニア脳症の再発を認めず, 食後の高アンモニア血症は 2, 3 ヶ月かけて徐々に低下した. 治療効果の判定には, 食後の血中アンモニア値, Fischer 比, 血漿シトルリン値が指標となることが示唆された. 発症早期の治療がより有効と考えられた.

[結論]

中鎖脂肪酸の有効性は確認されたが, 更に対象症例数を増やして効果を確認する必要がある.

[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.

平成 25 年度

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 抄録

[演題名] 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

[演者] 池田修一¹⁾、矢崎正英¹⁾、小松通治²⁾、中村未生³⁾、丸山陽子³⁾

[所属] 信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科¹⁾、信州大学医学部消化器内科²⁾、
信州大学医学部附属病院栄養部³⁾

[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。

[方法]

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 $7.19 \pm 2.12 \text{g/day}$: $4-15 \text{g/day}$ ）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。

[結果および考察]

15 名の CTLN2 患者において、最短で 1 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 ± 0.64 度であったが、治療開始後は 1.53 ± 1.68 と有意に改善した。12 名の患者（80%）で、脳症発作頻度の低下、脳波所見の改善が認められた。3 名については、投与後も発作を繰り返し、肝移植を施行している。全例重篤な副作用は、今のところ認められていない。

[結論]

約 80%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。

平成 25 年度

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 抄録

[演題名] 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～

[演者] 栗山進一^{1),2)}、石黒真美²⁾、成川洋子²⁾、小原拓²⁾、目時弘仁²⁾、菊谷昌浩²⁾、
坂本 修³⁾、呉 繁夫³⁾、大浦 敏博⁴⁾

[所属] 東北大学災害科学国際研究所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⁴⁾

[目的]

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。また、NICCD と CTLN2 発症の間には適応・代償期が存在し、症状が軽減されるか無症候状態となることが知られている。CTLN2 では重度の肝機能障害を合併する頻度も多く報告されており、早期発見・治療が重要であることから、特に現在適応・代償期にある小児におけるスクリーニングは課題である。しかし、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。

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。本調査はシトリン欠損症のスクリーニング方法の確立を目的としてシトリン欠損症患者に食嗜好についてのアンケート調査を実施する。

[方法]

東北大学病院又は仙台市立病院に受診している 5 歳以上のシトリン欠損症患者または患者の保護者に無記名で食嗜好に関するアンケート調査を実施している。本研究報告会では、調査の経過を報告する。また、東北大学では昨年度より小中学生を対象とした疫学研究を開始しており、糖質、たんぱく質、脂質を多く含む食品についてアンケート調査を実施している。本研究報告会では、その結果についても報告する。

市民公開

世界脳週間講演会

In Matsumoto

2014

シンポジウム講演

予約不要
参加費
無料

10:00

The Zombie in All of Us: Consciousness' Litter Helper

Oliver Carter (松本大学)

11:15

Unlocking the Secret of Memory by Looking at its Faults

Curtis Kelly (関西大学)

13:00

「ベル・マゼンディーの法則から見た 脳構造」

熊井敏文 (松本歯科大学)

14:15

「脳の不思議」

鈴木龍雄 (信州大学・医・神経可塑性学)

15:00

「運動で変化する脳ー 頭脳明晰になるか？」

川島均 (松本大学)

16:00

「脳科学と教育をつなぐー教育に対し て脳科学ができること」

有路憲一 (信州大学)

ポスター展示

「嗅覚遮断の食物識別への影響」

森泉哲次 (信州大学・医・人体構造学)

「自閉症とサバン症候群の科学:シナプスについて」

田淵克彦 (信州大学・医・分子細胞生理学)

「痛いって何だろう？」

吉山勇樹, 川真田樹人 (信州大学・医・麻酔蘇生学)

「入門 記憶とシナプス」

鈴木龍雄 (信州大学・医・神経可塑性学)

「分子が心をつくる-神経可塑性学講座の紹介」

鈴木龍雄 (信州大学・医・神経可塑性学)

「日本人に多い遺伝性肝脳疾患:成人型シトルリン血症」

矢崎正英, 池田修一 (信州大学・医・脳神経内科)

他にもポスター展示予定あり

会場への出入りは自由です。関心のある講演だけ選んでOKです。

3月16日 (日)

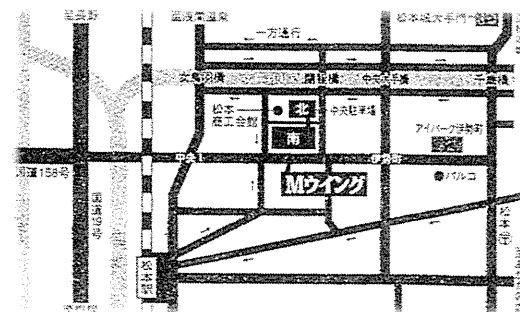
松本中央公民館 Mウイング 3階

世界脳週間とは？

毎年3月の第2週は「世界脳週間」になっています。「世界脳週間」とは、神経・心理・脳科学の、科学として及び社会にとっての重要性を一般の人に啓蒙する目的で、世界中で開催されているキャンペーンです。日本においては、「NPO法人 脳の世紀推進会議」が主体となって活動を推進しています。

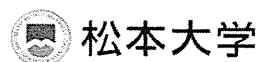
松本でも昨年から「世界脳週間」のイベントを始めました。一般人向けの脳科学に関する講演やポスター展示を行います。会場への出入りは自由ですので関心ある講演だけ選んでお聞かせください。朝のセッションは英語で行います。多くの皆様のご参加をお待ちします。どうぞお楽しみください。

会場案内図



協力

www.braincentury.org/ www.dana.org/



日本人に多い遺伝性肝脳疾患：成人型シトルリン血症

信州大学医学部 脳神経内科、リウマチ膠原病内科 矢崎正英、池田修一

成人型シトルリン血症とは

成人型シトルリン血症は、細胞内でエネルギーを産生させるミトコンドリアにあるシトルリンという蛋白が、生まれつき欠損していることで発症する病気です(シトルリン欠損症)。日本人に患者が集積しています。

常染色体劣性遺伝性疾患なので、優性遺伝疾患と異なり、家系内や先祖に患者がいなくても発症します。

発症年齢は、10代から80歳代と非常に幅が広いです。

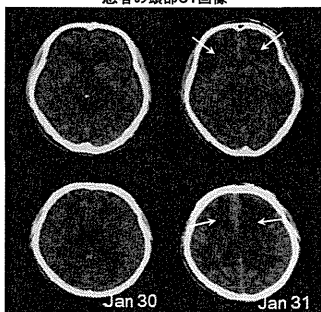
シトルリンが欠損すると、新生児期に黄疸を伴う肝炎を起こすことがあります(シトルリン欠損症関連新生児胆汁うっ滞型肝炎：NICCD)、だいたい1歳くらいで改善します。

血液中のアンモニアが上昇し、意識障害(傾眠から昏睡まで)、けいれん、異常行動、見当識障害(場所などがわからなくなる)手の震えなどを起こします。常にこのような症状が起こっているわけではなく、良くなったり悪くなったりを繰り返します。一般的に夕方から夜間に悪くなる傾向が多いようです。

子供のころから、甘い食べ物(饅頭、ごはん、砂糖菓子など)を好まず、肉、乳製品、大豆製品、ピーナッツなどを好んで食べる特徴的な食嗜好が有名です。また飲酒も好みません。

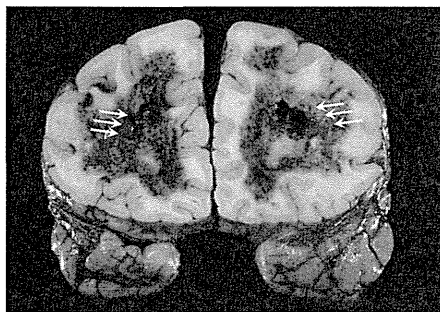
病気が進行して悪化すると意識が戻りにくくなり、脳浮腫(脳組織がむくむ)を起こして、以前は多くの患者さんが亡くなっていました(図1,2)。

図1) 脳浮腫を合併した成人型シトルリン血症患者の頭部CT画像



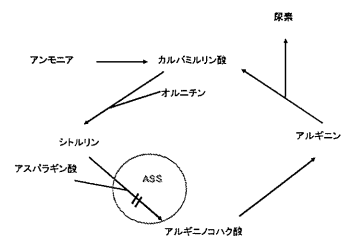
一日の経過で、脳浮腫が進行し、脳の壊死(矢印)が出現した。

図2) 亡くなられた患者さんの大脳冠状断像



大脳白質の壊死(矢印)が認められた。

図3) 肝細胞内の尿素サイクル(アンモニア解毒機構)



アンモニアは、脳に毒性が強いので、肝細胞内でカルバミルリン酸、シトルリン、アルギニンを経て、尿素に変換される。シトルリンはアルギニノコハク酸合成酵素(ASS)の機能に深く関わっており、シトルリンが欠損している成人型シトルリン血症患者では、ASS機能が低下し、シトルリンとアンモニアが上昇する。

病気の原因・頻度

この病気は、上述のように、ミトコンドリアのシトルリンという蛋白の欠損が根本の原因です。

シトルリンは、ミトコンドリアでのエネルギーの産生や、脳に対して毒性の強いアンモニアを尿素に変換する尿素サイクルの大事な酵素であるアルギニノコハク酸合成酵素(ASS)の機能に深く関わっており、このため、シトルリンが欠損している患者では、アンモニアが解毒できずに、血液中で上昇します(図3)。

甘いもの(糖質)やお酒(アルコール)をたくさん摂取すると、病態が悪化することが、マウスの実験で明らかになっており、このため患者さんは、甘いものを好まない嗜好が形成されるものと考えられています。

シトルリン欠損症は、日本を含めたアジア諸国に多く、日本人では、だいたい2万人に1人の割合で存在すると考えられています。しかし全員が成人型シトルリン血症を発症するわけではありません。成人型シトルリン血症は、約10万人に1人の割合で発症すると推定されています。ただし、この病気と正確に診断されていない方も多数いるので、正確な発症率はわかっていません。

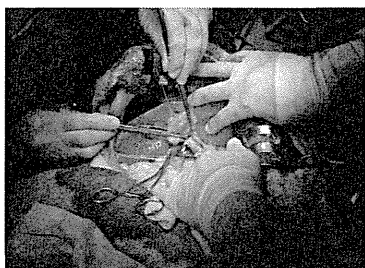
病気の診断・治療

現在、治療法が確立されてきており、きちんと診断され、適切な治療を受ければ、社会復帰も可能です。

診断ですが、高アンモニア血症による意識障害患者で、血液中のシトルリンが上昇している患者では本症を疑います。確定診断は、遺伝子解析が必要です。

治療は、肝移植療法が非常に奏功しますが(図4,5)、全員が受けれるわけではないので、現在当病院では、有効な食事療法や内服治療を開発中です。研究段階ですが、炭水化物制限食や、ピルビン酸といった物質が有効であることがわかってきています(図6)。

図4) 脳死ドナーからの肝移植療法



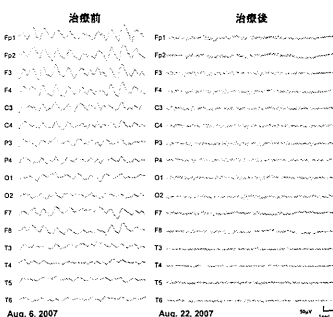
患者は、意識障害の発作を繰り返したため、肝移植を施行、術後経過は良好で、現在社会復帰されている。(信州大学医学部移植外科提供)

図5) 移植時に摘出された患者肝臓



成人型シトルリン血症が進行すると、脂肪肝になりやすいが、摘出された肝臓は、高度な脂肪変性が認められた。

図6) 食事療法が有効であった患者さんの脳波所見



治療前は、意識障害があり、脳波も徐波(ゆっくりした波)が主体であったが(左)、炭水化物制限食で、意識障害が改善し、脳波も正常化した(右)。

[V] 班構成員名簿

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研究班

区分	氏名	所属等	職名
研究代表者	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	教授
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
	栗山 進一	東北大学大学災害科学国際研究所災害公衆衛生学分野	教授
	早坂 清	山形大学医学部小児科学講座	教授
	小松 通治	信州大学医学部内科学、消化器内科	助教
	長船 健二	京都大学iPS細胞研究所	准教授
	佐伯 武頼	熊本大学生命資源研究・支援センター疾患モデル	特任教授
	乾 明夫	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科社会・行動医学講座、心療内科分野	教授
研究協力者	大浦 敏博	東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野	臨床教授
	矢崎 正英	信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科	准教授
	岡野 善行	兵庫医科大学遺伝学・臨床遺伝部	非常勤講師
	玉置 知子	兵庫医科大学遺伝学・臨床遺伝部	教授
	塚原 宏一	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科小児医科学	准教授
事務局		信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科 〒390-8621 長野県松本市旭3-1-1 TEL 0263-37-2673 FAX 0263-37-3427 e-mail mayazaki@shinshu-u.ac.jp	

