

平成 25 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）
新しい新生児代謝スクリーニング時代に適応した先天代謝異常症の診断基準作成と
治療ガイドラインの作成および新たな薬剤開発に向けた調査研究
分担研究報告書

研究課題：「先天性有機酸代謝異常症診療ガイドラインに関する研究」

研究分担者 高柳 正樹 千葉県こども病院副病院長

研究要旨

有機酸代謝異常症においては、迅速な診断とそれに伴う早期治療が患者の生命的及び神経学的予後を決定する。このため充実した治療ガイドラインの作成は重要である。

日本先天代謝異常学会の診断基準策定委員会にてメチルマロン酸血症 プロピオン酸血症 イソ吉草酸血症 グルタル酸血症 I 型 グルタル酸血症 II 型 ムルチプルカルボキシラーゼ欠損症 メチルクロトニルグリシン尿症 β ケトチオラーゼ欠損症 について治療ガイドラインを作成している。

このたび治療ガイドラインを検討した疾患は多岐にわたり、画一的なガイドラインは構築できない。しかしながら共通な治療法として、栄養療法、ビタミン療法、血液浄化法、肝移植術などが挙げられている。これら治療法はそのエビデンスレベルの評価が C ランクのものもある。今後日本全体で共同してエビデンスの構築を図っていく必要があると考える。

A. 研究目的

平成 24 年 4 月から全国的に施行されている拡大新生児マススクリーニングにおいて、有機酸代謝異常症も対象疾患となった。それに伴い有機酸代謝異常症の診断基準作成と治療ガイドライン作成は急ぎ行わなければならない重要な課題である。診断基準は平成 24 年度の本研究班の研究成果として報告した。本年は治療ガイドラインの作成を行う。

B. 研究方法

日本先天代謝異常学会に設置されている、岐阜大学深尾敏幸教授をチームリーダーとする、診断基準策定委員会が作成した治療ガイドラインを基礎に、その妥当性と有効性を検討した。

これまで診断基準策定委員会が作成した、または作成途中の疾患名とガイドライン作成者の一覧をいかに示す。

1. メチルマロン酸血症 広島大学但馬剛
2. プロピオン酸血症 慈恵医科大学小林博司
3. イソ吉草酸血症 島根大学長谷川有紀

4. グルタル酸血症 I 型 島根大学長谷川有紀
5. グルタル酸血症 II 型 島根大学小林弘典
6. ムルチプルカルボキシラーゼ欠損症 東北大学坂本修
7. メチルクロトニルグリシン尿症 島根大学長谷川有紀
8. β ケトチオラーゼ欠損症 岐阜大学深尾敏幸

（倫理面への配慮）

本研究はこれまでの論文等に報告されたエビデンスの集約化を目指したものであり、倫理面で
の問題点はない。

C. 研究結果

治療ガイドライン作成に当たっては、それぞれの治療法のエビデンスレベルを I から VI に評価し、それに基づき治療の推奨度を A から E に段階的に位置づけた。

推奨度：

A：I～III のエビデンスに基づく推奨で行うべきもの

- B: 生化学的、病態的に妥当性があり、症例で効果があると報告されており行うべきもの
- C: 生化学的、病態的に妥当性があり、症例で効果があると報告されており行うべきもの
- D: 生化学的、病態的に妥当性はあるが反対意見もあるもの
- E: 科学的根拠や症例報告などに基づいて行ってはいけないこと

以下に広島大学但馬剛先生が作成したメチルマロン酸血症の治療ガイドラインの概要を示す。

(1) 新生児マス・スクリーニングでメチルマロン酸血症を疑われた場合

- ①診断確定までの対応 (B)
- ②診断確定後の治療

- (1)ビタミン B12 内服 (B)
- (2)食事療法 (B)

(2) 急性代謝不全を発症してメチルマロン酸血症を疑われた場合

- ①状態の安定化 (重篤な場合)
 - (1)気管内挿管と人工換気 (必要であれば)
 - (2)静脈ルートの確保:
- ②異化亢進の抑制 (B)
- ③代謝性アシドーシスの補正 (B)
- ④ L-カルニチン投与 (B)
- ⑤水溶性ビタミン投与 (B)
- ⑥高アンモニア血症の薬物療法 (C)
- ⑦血液浄化療法 (B)

(3) 急性発症型症例の急性期離脱後および慢性進行型症例の場合

◎急性期治療から慢性期の管理への移行：退院の計画

自宅での栄養療法メニューを設定する。

経腸栄養のための胃瘻または経鼻胃管を留置する。

カルニチンを経口投与へ移行させる。

腸内細菌叢をコントロールする治療について教育し、便秘の予防を図る。

心エコー、心電図、聴力スクリーニング、視野検査 (脳、その他の眼科的検査を含む)、スクリー

ニング検査を実施する。

理学療法・作業療法を可及的速やかに開始する。両親に対して、退院に先立って必要な訓練を施す。

◎治療

- ①低タンパク食による食事療法 (B)
- ②L-カルニチン (B)
- ③腸内細菌によるプロピオン酸産生の抑制 (B)
- ④ビタミン B12 (B)
- ⑤肝移植・腎移植 (C or D?)
- ⑥精神発達・神経症状の治療管理 (B)
- ⑦基底核梗塞様エピソードの管理 (B)

◎治療経過の評価

- ①栄養状態に関する臨床検査
- ②画像検査 (MRI/MRS)

D. 考察

このたび治療ガイドラインを検討した疾患は多岐にわたり、画一的なガイドラインは構築できない。

しかしながら共通な治療法として、栄養療法、ビタミン療法、血液浄化法、肝移植術などが挙げられている。これら治療法はそのエビデンスレベルの評価がCランクのものもある。今後日本全体で共同してエビデンスの構築を図っていく必要があると考える。

さらに新しい薬剤、未承認の薬剤に関して、

1. 有機酸代謝異常症急性期のカルニチン静注療法のコンセンサス形成
2. メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症のカルバグルの使用法

3. NTBC グリシン ベタインなどの承認認可などに検討すべき問題があると考ええる。

今回取り上げた有機酸血症の生命予後は必ずしもよくなく、成人に達する症例は多いとは言えない。多くの症例は肝臓、腎臓移植などの適応の問題などを抱えることとなる。症例数が好きないことから治療経験の集約化を図るために、全国に5-10か所の成人先天代謝異常症外来などの設立を目指して努力すべきであると考えられる。

E. 結論

有機酸代謝異常症においては、迅速な診断とそれに伴う早期治療が患者の生命的及び神経学的予後を決定する。これが実際の診療において行えるようにするためには、きちんとした診断基準と治療ガイドラインの整備が必須である。

G. 研究発表

1. 論文発表

高柳 正樹。Reye 症候群はどこへ行った？小児内科 45 : 2052-2055, 2013

高柳 正樹。カルニチンの臨床。生物試料分析 35 巻 : 281-292、2012

高柳 正樹。カルニチン欠乏症および2次性カルニチン欠乏症。小児科 53 巻 : 1271-1279、2012

2. 学会発表

YOSHIKO KURASHIGE, MASAKI TAKAYANAGI, TAKU OMATA, KIMIYOSHI ICHIDA. First case of isolated sulfite oxidase deficiency in Japan. JIMD 36:S150. 2013. 12th INTERNATIONAL CONGRESS OF INBORN ERRORS OF METABOLISM Barcelona 2013

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

3. その他

なし

先天性高乳酸血症症候群の治療ガイドライン作成と成人期の対策の研究

研究分担者 大竹 明 埼玉医科大学小児科 教授

研究要旨

高乳酸血症を来す症例に遭遇した場合は、まず心不全他の二次的高乳酸血症症例を除外し、次いで以下に示す先天性高乳酸血症 (Congenital Lactic Acidosis: CLA) を来す症例の鑑別を行う。有機酸代謝異常症、尿素サイクル異常症、脂肪酸代謝異常症、グリコーゲン代謝異常症、糖新生系酵素異常症、ピルビン酸関連酵素異常症、TCA サイクル酵素異常症、およびミトコンドリア呼吸鎖複合体 (MRC) 異常症。

本診断基準では、直接の乳酸代謝に関係するピルビン酸関連酵素異常症 [ピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDHC) 欠損症、ピルビン酸カルボキシラーゼ (PC) 欠損症、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) 欠損症]、TCA サイクル酵素異常症、および MRC 異常症を対象とするが、MRC 異常症の詳細はミトコンドリア病の診断基準を参照していただきたい。

研究協力者

山崎 太郎 (埼玉医科大学小児科)

原嶋 宏子 (埼玉医科大学小児科)

A. 研究目的

タンデムマスを用いた新しい新生児代謝スクリーニングが全国に拡大し、対象各疾患に対する新しい診断基準の作成が急務となっている。有機酸代謝異常症とタイアップした先天性高乳酸血症もその一つであり、文献検索と自らの症例データを基に、本年度はその診療ガイドラインの作成と成人期の対策について研究した。

B. 研究方法

基本的に文献検索研究である。関連論文をエビデンスレベルに基づいて分類し内容を要約し、診療ガイドラインの素案を作成した。

これとは別に先天性高乳酸血症の最大の原因であるミトコンドリア呼吸鎖 (MRC) 異常症については、全国から集まった患者検体を以下の方法で分析した。

1) Blue Native 電気泳動を用いた Western Blot と *in gel* enzyme stain、および *in vitro* 酵素アッセイ

を用いた呼吸鎖酵素複合体蛋白レベルの解析。2) サンガーシーケンス法やライフテクノロジーズ社 Ion PGM シーケンサーによるミトコンドリア DNA 全周塩基配列の解析。3) ミトコンドリア DNA 枯渇症候群 (mitochondrial DNA depletion syndrome: MTDPS) 疑い例については、定量的 PCR (qPCR) による診断確定後、サンガーシーケンス法による頻度の高い 11 種類の原因遺伝子解析。4) 以上で病因が判明しない症例に対する次世代シーケンス法を用いた全エクソーム解析。

(倫理面への配慮)

本研究の患者解析の部分は申請番号 482 (現在更新されて 482-VI) で埼玉医科大学倫理委員会における審査を受け承認を得て行った。遺伝子解析研究についてはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号) および、医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン (日本医学会 2011 年 2 月) に基づいて行い、さらにこれとは別に各研究機関の倫理審査委員会において承認を得て行った。

C. 研究結果

高乳酸血症を来す症例に遭遇した場合は、まず心不全他の二次的高乳酸血症症例を除外し、次いで以下に示す先天性高乳酸血症 (Congenital Lactic Acidosis: CLA) を来す症例の鑑別を行う。有機酸代謝異常症、尿素サイクル異常症、脂肪酸代謝異常症、グリコーゲン代謝異常症、糖新生系酵素異常症、ピルビン酸関連酵素異常症、TCA サイクル酵素異常症、および MRC 異常症。

本研究では、直接の乳酸代謝に関係するピルビン酸関連酵素異常症 [ピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDHC) 欠損症、ピルビン酸カルボキシラーゼ (PC) 欠損症、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) 欠損症]、TCA サイクル酵素異常症、および MRC 異常症を対象とするが、MRC 異常症の詳細はミトコンドリア病の診断基準 (後藤班) を参照のこと。

診療ガイドラインは未完成であり、ここには各疾病の疾患概要のみ記す。

1) ピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDHC) 欠損症

PDHC はミトコンドリア内に存在し、嫌気性解糖系でブドウ糖から産生されたピルビン酸をアセチル-CoA に変換して TCA 回路に送り込む大切な酵素である。原因遺伝子として複合体の構成成分である、*E1 α* (PDHA1), *E1 β* (PDHB), *E2* (DLAT), *E3* (DLD), *PDP1-2*, *PDK1-4*, *PDHX*, (*LIAS*) の 8 種類が報告されており、世界で 400 例余りの報告がある。このうち最も多いのは X 連鎖遺伝形式を呈する *E1 α* 遺伝子異常症で、PDHC 欠損症全体の 6 割近くを占める。

臨床症状を形作るのはエネルギー産生不足と乳酸アシドーシスで、症状の重篤度により 3 病型に分類される。(1) 重症新生児型: 新生児期から乳児早期に、多呼吸、けいれん、意識障害、嘔吐、脳室拡大などの症状と重症高乳酸血症で発病し、いわゆる乳児致死型ミトコンドリア病 (LIMD) の主たる病因の 1 つである。女兒に多い。(2) 乳幼児型: 精神運動発達遅滞、けいれん、筋緊張低下、中枢神経奇形、顔貌異常などの症状と高乳酸血症で乳幼児期に発病する。画像上 Leigh 脳症を呈する患者も多い。(3) 遅発型: 軽い筋緊張低下、失調と高乳酸血症で幼児期から学童期に発病する。男児に多い。

診断にはまず乳酸 (L) /ピルビン酸 (P) 比が 10

前後と正常な高乳酸血症の存在を確認することが重要で、軽症型では糖負荷テストも有効である。確定診断には皮膚線維芽細胞を用いた酵素活性測定と遺伝子解析が必要となる。

治療は急性期と慢性期に大別される。急性期の主対策は乳酸アシドーシスの是正で、糖質負荷は厳禁であり、乳酸を含まない輸液、アルカリ剤、呼吸・循環管理を行い、時には透析も必要となる。慢性期は乳酸の蓄積防止とエネルギー産生不足の解消であり、糖質は制限し PDHC を介さずにエネルギーを産生できる高ケトン食、高脂肪食が有効である。ビタミン B1 の大量投与に反応する症例も軽症例には存在する。基本的に予後不良な疾患であるが、B1 反応例には予後良好で成人期に移行するものも存在する。

2) ピルビン酸カルボキシラーゼ (PC) 欠損症

PC はミトコンドリア内に存在する糖新生系の律速酵素であり、ピルビン酸からオキザロ酢酸を生成する。原因遺伝子は 11q13 に局在する常染色体劣性遺伝病である。

臨床症状を形作るのは、低血糖と、オキザロ酢酸の低値がもたらす TCA 回路の作動不全によるエネルギー不足である。重症例ではオキザロ酢酸由来のアスパラギン酸の不足による尿素サイクル作動不全による高アンモニア血症も問題になる。症状の重篤度により Robinson は 3 病型に分類している。Group A: 乳児型は、主に生後 5 か月以内に発症し、低血糖、高乳酸血症、精神運動発達遅滞、腎尿細管性アシドーシスが高頻度に認められる。Group B: 重症新生児型は、新生児期発症で多くは 3 か月以内に死亡し、低血糖、高アンモニア血症、高シトルリン血症、高リジン血症を伴い、いわゆる乳児致死型ミトコンドリア病 (LIMD) の病因の 1 つである。Group C: 軽症型は生化学上は Group A に似るが精神発達遅滞のほとんど認められない良性型である。

診断にはまず L/P 比が 20 以上と高値の高乳酸血症にもかかわらず 3-ヒドロキシ酪酸/アセト酢酸比は正常ないし低値を取ることが重要で、確定診断には皮膚線維芽細胞を用いた酵素活性測定と遺伝子解析が必要となる。

治療は急性期と慢性期に大別される。急性期の主対

策は低血糖と乳酸アシドーシスの是正で、糖質負荷は行っても一次的とすべきであり、乳酸を含まない輸液、アルカリ剤、呼吸・循環管理を行い、時には透析も必要となる。慢性期は乳酸の蓄積防止とエネルギー産生不足の解消であり、糖質は制限しビタミン B1、ビオチン、クエン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸などが試みられている。Group C 以外は基本的に予後不良な疾患であるが、Group C では成人期移行例も認められる。

3) ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) 欠損症

PEPCK はオキサロ酢酸をホスホエノールピルビン酸へ変換する酵素であり、ミトコンドリア PEPCK (PEPCK2) と細胞質 PEPCK (PEPCK1) の 2 つのアイソザイムが存在する。PEPCK2 は 14q11.2 に局在し主に乳酸からの糖新生を、PEPCK1 は 20q13.31 に局在し主にアミノ酸からの糖新生を司る。どちらも糖新生系の重要な酵素であり、その欠損症では、新生児期または乳児期早期に、成長障害、筋緊張低下、発達障害、けいれん、傾眠、肝腫大などで発症する。低血糖、代謝性アシドーシス、高乳酸血症 (L/P 比正常) を呈し、肝障害、尿酸管性アシドーシス、心筋症などの多臓器障害が進行し 2 才までに死亡する例が多い。

酵素活性測定と遺伝子解析で診断できるが、今までに遺伝子異常の報告例はない。治療は低血糖、代謝性アシドーシスへの対症療法が中心であるが、有効な根本療法はなく、成人期への移行症例の報告はない。

4) TCA サイクル酵素異常症

フマラーゼ欠損症

フマラーゼ欠損症は、フマル酸をリンゴ酸に変換する TCA 回路の主要構成酵素であるフマラーゼの遺伝的欠損に基づく先天代謝異常症である。まれな病気で、報告例は世界で 50 例前後のみである。フマラーゼは細胞質とミトコンドリアに 2 つの酵素が存在するが、遺伝子は 1q42.1 に存在する 1 つのみで 2 つの酵素は N 末端の数個のアミノ酸が異なるだけであり、報告された患者は全て 2 つの酵素の活性が共に欠損している。症状は、(時に胎生期からの) 脳奇形、精神運動発達遅滞、筋緊張低下、顔面奇形、けいれん、発育障

害、哺乳障害などの脳神経・筋症状が中心である。血球減少、消化管奇形、肝腫大、視覚障害などの合併は報告があるが、心筋症や心伝導障害の報告はない。高乳酸血症や高アンモニア血症などによる代謝性クライシスは希である。中枢神経症状と尿有機酸分析でのフマル酸著明増加 (正常対照の 15~1,000 倍) が特徴である。

症状と尿中フマル酸増加から本症を疑い、酵素診断と遺伝子診断で確定する。酵素診断対象組織としては、皮膚線維芽細胞、リンパ芽球様細胞、リンパ球、筋肉、肝臓が用いられている。

治療は対症療法のみであり多くが生後数年以内に死亡するか、生存しても重度の精神運動発達遅滞を残す非常に予後不良な疾患である。低タンパク療法が試みられたが有効ではなかった。

スクシニル-CoA リガーゼ (SUCL) 欠損症

SUCL 欠損症は、TCA サイクルの一因でもある SUCL の活性欠損によりミトコンドリア呼吸鎖異常とメチルマロン酸の尿中への少量排泄を伴う常染色体劣性遺伝性疾患であり、古くはメチルマロン酸尿を伴う Leigh 脳症と呼ばれていた。SUCL は TCA サイクルでは α -ケトグルタル酸に、それ以外は主にメチルマロニル-CoA に由来するスクシニル-CoA をコハク酸に転換する酵素で、GDP/GTP 系 (G-SUCL) と ADP/ATP 系 (A-SUCL) の 2 つのタイプが存在する。共に α サブユニットと β サブユニットから成るが、 α サブユニットは 2 つのタイプの酵素で共通の *SUCLG1* がコードし、 β サブユニットはそれぞれ *SUCLG2* と *SUCLA2* がコードする。現在までに *SUCLG1* 異常症 (ミトコンドリア DNA 枯渇症候群 (MTDPS) 9) と *SUCLA2* 異常症 (MTDPS 5) とが報告されている。典型例では生後数日から著名な乳酸アシドーシスを来し、致死型乳児ミトコンドリア病 (LIMD) と言われる経過を取る。G-SUCL、A-SUCL の活性が共に低下する *SUCLG1* 異常症の方がより重症で、画像上の基底核病変 (いわゆる Leigh 様症候群)、脂肪肝から肝不全も合併し、多くは乳児期早期までに死亡する。これに対し A-SUCL のみ低下する *SUCLA2* 異常症は、時には LIMD としての重症病型をとる者もあるが、乳児期に運動発達遅滞、筋緊張低下、ジストニア、難聴などの神経症状で発症し、画像上の基底核病変

も顕著な者が多く、メチルマロン酸排泄を除けば Leigh 脳症と鑑別できない。感染などを契機とし死亡する例も多いが成人期まで生存例の報告もある。SUCLG1 異常症と異なり肝障害はないが、これは A-SUCL が肝臓での発現が低いことで説明できる。

神経症状を伴い高乳酸血症で発症する例が多く、他のミトコンドリア呼吸鎖異常症との鑑別が必要となる。LIMD として嵐の様な経過で亡くなった場合でも、できるだけ多くの臓器、組織を診断のために生で凍結保存することを忘れてはならない。尿 GC/MS では、メチルマロン酸、メチルクエン酸、3-ヒドロキシプロピオン酸の排泄がありメチルマロン酸尿を来す各疾患との鑑別が必要になるが、その排泄量は極めて微量であり、患児では TCA サイクル中間代謝産物も一緒に検出される。血中に蓄積する C3、C4DC カルニチンもタンデムマス分析で検出できる。組織・臓器を用いてミトコンドリア呼吸鎖酵素活性を測定し複合型の酵素活性低下を認めたら、ミトコンドリア DNA の定量を行う。確定診断のためには SUCL 酵素活性、もしくは遺伝子解析が必要である。

有効な治療法はない。急性期にはミトコンドリアレスキュー療法を考慮し、慢性期には有効とされる各種治療薬を一つ一つ慎重に試すことが必要になる。

D. 考察

いずれの症例も重篤で調べ得た限り成人期移行例は少ない。しかも移行した者も身体的・精神的にハンディを背負う患者ばかりであり、医療の進歩で今後は長期生存例も増加するものと考えられる。今後も文献検索と実際の例数を重ね、より臨床に添うように順次改訂してゆきたい。

E. 結論

先天性高乳酸血症症候群 (Congenital Lactic Acidosis: CLA) の診療ガイドラインを作成中であり、成人期への移行対策を検討中である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

原著

1) Yamazaki T, Murayama K, Compton AG, Sugiana C, Harashima H, Amemiya 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): in press, 2014

2) 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.

3) 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* 55 (4): e103-6, 2013.

4) 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 7. doi:pii: S0387-7604 (13) 00286-6. 10.1016/j.braindev.2013.09.005. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

(国際学会のみ)

1) Ohtake A: Diagnosis and treatment for mitochondrial disorders: an update. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD)/the 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Educational lecture-7. November 27-29. Tokyo Bay Maihama Hotel Club Resort (Chiba, Japan), 2013

2) Ohtake A, Murayama K, Mori M, Okazaki Y: Diagnosis and molecular basis of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan: exome sequencing for the disease gene identification. International Symposium on Mitochondria 2013/The 13th Conference of Japanese Society of Mitochondrial Research and Medicine (J-mit). Symposium 3: Next Generation Technologies for Mitochondrial Disorders. November 6-7. Roppongi Academyhills 49 (Roppongi Hills Mori Tower 49F, Tokyo, Japan), 2013

3) Ohtake A: Diagnosis and treatment for mitochondrial disorders: an update. The 1st International ALA and Porphyrin Symposium (IAPS1). Invited lecture-2. October 28. King Hamad University Hospital (Kingdom of Bahrain), 2013

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 in Japan: exome sequencing for disease gene identification. The 12th Annual Asian and Oceanian Myology Center (AOMC) Scientific Meeting. Invited lecture. June 6 - 8, Sofitel Xi' an on Renmin Square (Xi' an, China), 2013

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

スクリーニング・化学診断、および脂肪酸カルニチン代謝異常症に関する研究

研究分担者 山口清次(島根大学医学部小児科教授)

研究要旨

脂肪酸β酸化経路は、炭水化物からのエネルギー供給が低下した時に作動する代謝系である。カルニチンによる脂肪酸の転送・活性化、β酸化回路、電子伝達、ケトン体生成の代謝群に大別される。本研究では前年度に作成した脂肪酸代謝異常症の診断基準を元に、新生児マススクリーニングの対象となる8疾患について、それぞれの診断、治療、フォローアップに関する指針案を作成した。

研究協力者

深尾敏幸 (岐阜大学医学部小児科)

窪田 満 (埼玉医療センター総合診療科)

村山 圭 (千葉こども病院内分泌科)

小林弘典 (島根大学医学部小児科)

化)、(d)電子伝達(アシル-CoA脱水素酵素反応から電子を受け取り呼吸鎖に転送する経路)、および(e)ケトン体生成(アセチル-CoAとアセトアセチル-CoAからケトン体を生成する経路)である。

脂肪酸代謝異常症は全国的な普及を控えるタンデムマスによる新生児マススクリーニングの対象疾患群の1つである。従って、スクリーニング陽性者に対して迅速かつ適切に対応する必要性が高まっている。前年度はこのような背景を踏まえ、新しい時代に対応するための脂肪酸代謝異常症全体としての診断基準を作成した。一方で、稀少疾患である脂肪酸代謝異常症患者の診療を全国で一定レベルの質を保ち、地域格差のない診療体制を作る必要がある。今年度は、前年度の成果を発展させ、新生児マススクリーニングで発見される脂肪酸代謝異常症について、エビデンスに基づいた各疾患における診療指針の策定を目指した。

A. 研究目的

ミトコンドリアβ酸化系は、ブドウ糖からのエネルギー供給が低下した時に代替エネルギー産生系として作動する代謝経路である。β酸化系は表1に示すように大きく5つの代謝系に分けられ、それぞれの酵素欠損症、輸送蛋白の異常が知られている。すなわち(a)カルニチン回路(長鎖脂肪酸をカルニチンによってミトコンドリアに転送しアシル-CoAまで活性化する)、(b)長鎖脂肪酸β酸化(炭素鎖C16~C12までβ酸化で短縮する)、(c)中鎖・短鎖β酸化(C10~C4までβ酸

表1. β 酸化各群の主な代謝異常症

代謝群	主な疾患
(a) カルニチン回路	全身性カルニチン欠乏症 CPT1 欠損症 CPT2 欠損症 CACT 欠損症
(b) 長鎖脂肪酸 β 酸化回路	VLCAD 欠損症 TFP/LCHAD 欠損症
(c) 中鎖脂肪酸酸化回路	MCAD 欠損症 SCAD 欠損 SCHAD 欠損症 SCKAT 欠損症
(d) 電子伝達	グルタル酸血症 2 型 (ETF 欠損症) (ETFDH 欠損症)
(e) ケトン体生成	HMGS 欠損症 HMGL 欠損症

略字は、参考図（文末）と同じ。ETF 欠損症、ETFDH 欠損症はいわゆるグルタル酸血症 2 型（GA2）である。SCKAT 欠損症はいわゆる β ケトチオラーゼ欠損症（T2 欠損症）である。HMGL 欠損症はいわゆるヒドロキシメチルグルタル酸血症（HMG 血症）である。

B. 研究方法

脂肪酸代謝異常症のうち、表 2 に示す 8 疾患を対象に診療指針を作成した。診断基準策定にあたっては、研究分担者研究協力者 4 名が中心となり、国内外のエキスパートオピニオン、報告等を参考にして素案を作成した（文末の[参考資料]を参照）。これらは先天代謝異常学会の評議員からなる診断基準策定委員会の委員間での相互査読を経て、日本先天代謝異常学会の理事会に稟議される予定である。診療指針案は診断基準と同様に、日本先天代謝異常学会のホームページを通じて学会員および一般公開、評価を受け付けた後、最終的に学会ホームページ等を通じて公開する予定である。

表 2. 診断基準策定対象 8 疾患

1. 極長鎖アシル CoA 脱水素酵素(VLCAD)欠損症
2. 三頭酵素(TFP)欠損症
3. 中鎖アシル CoA 脱水素酵素(MCAD)欠損症
4. カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1 (CPT1)欠損症
5. カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-2(CPT2)欠損症
6. カルニチンアシルカルニチトランスカーゼ (CACT)欠損症
7. 全身性カルニチン欠乏症 (OCTN2 異常症)
8. グルタル酸尿症 2 型

C. 研究結果

前述の様に、タンデムマス・スクリーニング対象疾患について個々の疾患における診療指針案を策定した。2014年1月末時点での素案は参考資料の通りである。現在、基準策定委員会の委員間での相互査読期間であり、25年度中に日本先天代謝異常学会の理事会に稟議され、パブリックコメントを受け付ける予定である。診断・治療については、現時点での保険適応有無を記

載した。脂肪酸代謝異常症の治療においてはエビデンスの集積が十分といえない場合も少なくないが、利用者が現在の標準的な治療を知る事が出来るように、エビデンスレベルの記載に加えて、推奨度を加える事で本疾患群の治療経験が少ない場合であっても国内における標準的治療が選択しやすい様に配慮した。本診療指針案で採用した保険適応の記載法、エビデンスレベルの定義、推奨度の定義は下記の通りである。

治療指針案に記載したエビデンスレベル、推奨度等

保険適応について

治療薬

- * 保険適応であるもの
- ** 医薬品として認められているが、現時点で保険適応でないもの
- *** 試薬など医薬品でないため、倫理委員会等を経て用いるべきもの

検査

- * 保険適応であるもの
- ** 保険適応ではなく、研究レベル、自費レベルであるもの

エビデンスレベル 基づいているエビデンス

- I systematic review/ RCTのメタアナリシス
- II 1つ以上のランダム化比較試験
- III 非ランダム化比較試験
- IV コホート、症例対象研究
- V 症例報告やケースシリーズ
- VI 患者データに基づかない専門家意見

推奨度

- A I～IIIのエビデンスに基づく推奨で行うべきもの
- B 生化学的・病態的に妥当性があり、症例で効果があると報告されており行うべきもの
- C 症例で効果があると報告されており、考慮すべきもの
- D 生化学的、病態学的に妥当性はあるが反対意見もあるもの
- E 科学的根拠や症例報告などに基づいて、行ってはいけないこと

D. 考察

今回の診療指針案策では、診断基準と同様にスクリーニング陽性者として発見された場合、及びスクリーニング以外で何らかの症状を伴い発症した場合に分けてそれぞれの対応等を記載した。

脂肪酸代謝異常症に共通する治療指針として各年齢における許容される食事間隔については、国内外のエキスパートオピニオンに我が国の養育環境等を考慮して下記のように統一した。

脂肪酸酸化異常症における食事間隔の目安

新生児期：3時間以内
6ヶ月未満：4時間以内
1才未満：6時間以内
3才未満：8時間以内
3才以上：10時間

長鎖脂肪酸代謝異常症に対するL-カルニチン投与についても検討がなされた。欧米からのエキスパートオピニオンでは長鎖脂肪酸代謝異常症に対するカルニチン投与は、主に心筋症や骨格筋症状を増悪する可能性が指摘されており、準禁忌として記載されているが、そのエビデンスに乏しい事、最近ではカルニチンの抗酸化作用などを報告するなどからガイドライン策定委員会の中でも意見が分かれた。カルニチン補充の是非については結論が得られていない事を明記した上で、投与する場合の推奨される遊離カルニチン血中濃度を 0.20 nmol/ml として記載し、投与する際は少量から開始し、臨床像や遊離カルニチン、アシルカルニチン値をモニターする事を記載した。

治療における指針案は、十分なエビデンスがあるとはいえず、今後も症例の情報を蓄積し、本指針案の妥当性を継続的に評価する必要がある。

E. 結論

本研究では、タンデムマスによる新生児マススクリーニングの普及に伴い今後増加すると予想される。本

研究では診断、治療、フォローアップ指針等を含んだ診療指針案を作成した。診療指針案は今後パブリックコメントを受け付けた後、学会ホームページ等により公開予定である。

F. 健康危険情報

特記すべき事項はなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ihara K, Yoshino M, Hoshina T, Harada N, Kojima-Ishii K, Makimura M, Hasegawa Y, Watanabe Y, Yamaguchi S, Hara T: Coagulopathy in patients with late-onset ornithine transcarbamylase deficiency in remission state: A previously unrecognized complication. *Pediatrics* 131(1): e327-30, 2013 (January)
- 2) Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamada K, Takahashi T, Takayanagi M, Fukao T, Fukuda S, Yamaguchi S: Intracellular in vitro probe acylcarnitine assay for identifying deficiencies of carnitine transporter and carnitine palmitoyltransferase-1. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405(4): 1345-1351, 2013 (February)
- 3) Tomatsu S, Fujii T, Fukushi M, Oguma T, Shimada T, Maeda M, Kida K, Shibata Y, Futatsumori H, Montañó AM, Mason RW, Yamaguchi S, Suzuki Y, Orii T: Newborn screening and diagnosis of mucopolysaccharidoses. *Molecular Genetics and Metabolism* 110(1-2): 42-53, 2013 (September-October)
- 4) Yamaguchi S, Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Mushimoto Y, Yamada K, Takahashi T, Furui M, Taketani T, Fukuda S, Fukao T, Shigematsu Y: Expanded newborn mass screening with MS/MS and medium-chain acyl-CoA dehydrogenase

- (MCAD) deficiency in Japan. 日本マススクリーニング学会誌 23(3): 270-276, 2013 (12月)
- 5) 山口清次: MS 解析による代謝障害の診断. 分子消化器病 10(1): 72-78, 2013 (1月)
 - 6) 山口清次: 新生児スクリーニングの新時代 ; タンデムマス法の導入. 日本周産期・新生児医学会雑誌 48(4): 827-829, 2013 (1月)
 - 7) 山田健治, 長谷川有紀, 吉川陽子, 高橋知男, 小林弘典, 虫本雄一, Jamiyan Purevsuren, 山口清次: 成人後に診断された有機酸・脂肪酸代謝異常症の臨床的検討. 臨床神経学 53(3): 191-195, 2013 (3月)
 - 8) 山口清次: タンデムマススクリーニングとは. チャイルドヘルス 16(2): 81-87, 2013 (2月)
 - 9) 山口清次: タンデムマスを用いた新生児マススクリーニングによる先天代謝異常症の早期診断. 小児科臨床 66(2): 193-198, 2013 (2月)
 - 10) 山口清次: 日常診療における代謝異常の豆知識. 香川県小児科医会会誌 34: 32-35, 2013
 - 11) 花井潤師, 吉永美和, 高橋広夫, 佐々木泰子, 野町祥介, 佐々木純子, 磯部充久, 石毛伸之, 穴沢昭, 安片恭子, 木下洋子, 山上祐次, 酒本和也, 田崎隆二, 小林弘典, 山口清次, 重松陽介: タンデムマス・スクリーニングのカットオフ値(2) - 患者データ, 再採血率, 精査率から考える-. 日本マス・スクリーニング学会誌 23(1): 61-67, 2013
 - 12) 高橋知男, 山田健治, 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, ジャミヤン・プレブスレン, 坂本修, 大浦敏博, 山口清次: 新生児マススクリーニングで発見された軽症型プロピオン酸血症: 有機酸とアシルカルニチンの推移. 日本マス・スクリーニング学会誌 23(1): 49-53, 2013
 - 13) 山口清次: タンデムマスと新生児マススクリーニング. 小児科診療 UP-to-DATE ラジオ NIKKEI 放送内容集 1: 42-47, 2013 (5月)
 - 14) 山口清次: 小児科領域におけるタンデムマスと GC/MS の臨床応用: 最近の進歩. 臨床病理 61(9): 817-824, 2013 (9月)
- ## 2. 学会発表
- 1) Kobayashi H, Yamada K, Hasegawa Y, Takahashi T, Minohata T, Yamaguchi S: Rapid analysis of orotic acid in dried blood spots using liquid chromatography – tandem mass spectrometry (MS/MS). MSACL (Mass Spectrometry Applicatios to the Clinical Lab) 2013. San Diego, USA, February 2013
 - 2) Yamaguchi S, Purevsuren J, Hasegawa Y, Kobayashi H, Mushimoto Y, Yamada K, Takahashi T, Furui M, Fukao T, Shigematsu Y, Fukuda S: Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency and newborn screening in Japan. 2013 Joint Meeting of the Newborn Screening and Genetic Testing Symposium (NBS>S) and the International Society for Neonatal Screening (ISNS). Atlanta, USA, May 2013
 - 3) Yamaguchi S: Diagnosis and treatment of mitochondrial fatty acid oxidation defects. The Second Forum of International Translational Medicine of Clinical Genetics in Beijing - Development and Application of Genetic Technology 講演. Beijing, China, August 2013
 - 4) Yamada K, Kobayashi H, Takahashi T, Hasegawa Y, Purevsuren J, Fukuda S, Ito M, Yamaguchi S: Responsiveness of bezafibrate for neonatal onset form of glutaric acidemia type II: comparison with milder form using in vitro probe assay. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, September 2013
 - 5) Yamaguchi S, Yamada K, Kobayashi H, Takahashi T, Hasegawa Y, Purevsuren J, Ohkubo T, Watanabe M, Tsunemi T, Ishii A, Takuma H, Tamaoka A, Shigematsu Y, Fukuda S: Two Japanese cases of adult onset myopathic form of gulutaric acidemia type II. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, September 2013
 - 6) Vu D, Nguyen K, Khu D, Bich N, Bui T, Nguyen H, Nguyen L, Fukao T, Kondo N, Yamaguchi S: Spectrum of inbone errors of

- metabolism in referral center of north Vietnam. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, September 2013
- 7) Nguyen KN, Chi DV, Nguyen HT, Can NBT, Bui TP, Yamaguchi S, Fukao T: Report of 23 cases with betaketothiolase deficiency in a Vietnam center. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, September 2013
 - 8) Vatanavicham N, Furui M, Aoyama Y, Fukao T, Sathienkijkanchai A, Wasant P, Yamaguchi S: Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency: two neonatal cases with common splicing mutation and in vitro bezafibrate response. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, September 2013
 - 9) Bijarnia-Mahay S, Puri RD, Vema J, Shigematsu Y, Yamaguchi S, Haberle J, Kohli S, Babbar D, Gupta D, Verma I C: Biochemical and molecular diagnosis of urea cycle enzyme defects in Indian population. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, September 2013
 - 10) Nguyen KN, Chi DV, Can NBT, Bui TP, Yamaguchi S: The first continuous venous-venous hemofiltration with a Vietnamese newborn onset urea cycle disorder. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, September 2013
 - 11) Yamaguchi S: A new treatment option for mitochondrial fatty acid oxidation defects: Bezafibrate, a PPAR agonist. 12th Asian Oceanian Congress on Child Neurology. Riyadh, Saudi Arabia, September 2013
 - 12) Yamaguchi S: Beriberi (Vitamin B1 deficiency) of young children lurking in modern life: A new approach for biochemical detection. 2013 Joint Meeting of 13th Asian Pan-Pacific Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition and 40th Japanese Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition シンポジウム. 東京, October 2013
 - 13) Watanabe K, Nakagawa S, Yotsumata K, Sameshima K, Yonee C, Yamada K, Yamaguchi S: Two siblings with very long chain acyl-CoA dehydrogenase (VLCAD) deficiency developed rhabdomyolysis after supplementation of L-carnitine. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, November 2013
 - 14) Yamada K, Kobayashi H, Takahashi T, Hasegawa Y, Yamaguchi S: Effect and toxicity of high-dose bezafibrate on mitochondrial fatty acid oxidation in cultured cells. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, November 2013
 - 15) Dung VC, Ngoc CTB, Khanh NN, Yamada K, Furui M, Yamaguchi S: Genotype and phenotype of primary carnitine deficiency: a case report. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, November 2013
 - 16) Hasegawa Y, Kobayashi H, Yamada K, Takahashi T, Yamaguchi S: Selective screening for organic acidemias by urinary organic acids analysis using GC/MS in Asian countries. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, November 2013
 - 17) Dash P, Bijarnia-Mahay S, Yamaguchi S, Shigematsu Y, Puri RD, Kotecha U, Verma J, Saxena R, Kohli S, Movva S, Gupta D, Vyas B, Verma IC: Diagnosis of small molecule

- disorders using TMS and GCMS-experience from one center in North India. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, November 2013
- 18) Khanh NN, Dung VC, Mai NC, Yamaguchi S: Newborn onset urea cycle disorders in a referral center of Vietnam: Clinical features and outcom. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, November 2013
 - 19) Liu L, Yamada K, Takahashi T, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S: Hypothermia improves oxidation ability in cultured fibroblasts with fatty acid β -oxidation disorders: Evaluation by vitro probe assay. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, November 2013
 - 20) Tomatsu S, Fujii T, Fukushi M, Oguma T, Shimada T, Maeda M, Kida K, Shibata Y, Futatsumori H, Montano AM, Mason RW, Yamaguchi S, Suzuki Y, Orii T: Newborn screening and diagnosis of Mucopolysaccharidoses. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, November 2013
 - 21) Yamaguchi S: Screening, diagnosis, and treatment of organic and fatty acid disorders. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD) Educational lecture. Chiba, November 2013
 - 22) Kguyen NK, Dung VC, Fukao T, Hoan NT, Ngoc CTB, Thao BP, Yamaguchi S: Betaketothiolase deficiency in a referral center of Vitnam: Clinical feature and outcom. The 3rd Asian Congress for inherited Metabolic Diseases (ACIMD) The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, November 2013
 - 23) Yamaguchi S: GC-MS for diagnosis of Organic Acidurias. International Conference on Inborn Errors of Metabolism 2013 講演. New Delhi, India, April 2013
 - 24) Yamaguchi S: Fatty acid oxidation defects. International Conference on Inborn Errors of Metabolism 2013 講演. New Delhi, India, April 2013
 - 25) 山口清次: タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングの諸問題. 第 36 回日本小児遺伝学会学術集会 特別講演 特別講演. 広島, 2013 年 4 月
 - 26) 山田健治, 小林弘典, 高橋知男, 長谷川有紀, 中村信, 山口清次: シベレスタット (エラスポール®) 投与中のピバロイルカルニチン上昇の検討. 第 116 回日本小児科学会. 広島, 2013 年 4 月
 - 27) 山口清次: タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングの諸問題. 第 36 回日本小児遺伝学会学術集会 特別講演 特別講演. 広島, 2013 年 4 月
 - 28) 小村有紀, 小林弘典, 山田健治, 高橋知男, 山口清次: 新生児マス・スクリーニング対象疾患に対する出生前診断の経験. 第 40 回日本マス・スクリーニング学会. 大阪, 2013 年 8 月
 - 29) 山田健治, 小林弘典, 高橋知男, 長谷川有紀, 山口清次: ろ紙血中アシルカルニチン値とヘマトクリットの関連性. 第 40 回日本マス・スクリーニング学会. 大阪, 2013 年 8 月
 - 30) 小林弘典, 箕畑俊和, 山田健治, 長谷川有紀, 高橋知男, 三渕浩, 中村公俊, 遠藤文夫, 山口清次: タンデムマス法によるオルニチントランスカルバミラーゼ (OTC) 欠損症スクリーニングの可能性に関する検討. 第 40 回日本マス・スクリー

ニング学会. 大阪, 2013年8月

- 31) 桑原優, 岡本典子, 城賀本敏弘, 元木崇裕, 寺岡いづみ, 中野威史, 林正俊, 小林弘典, 山口清次: 突然死したカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (CPT2) 欠損症の9カ月男児例. 第40回日本マス・スクリーニング学会. 大阪, 2013年8月
- 32) 高橋知男, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: SIDS, ALTE 様症状で発症し先天代謝異常症と判明した10例の検討. 第40回日本マス・スクリーニング学会. 大阪, 2013年8月
- 33) 小林弘典, 長谷川有紀, 山田健治, 高橋知男, 山口清次, 大野耕策, 神崎 晋: 山陰両県におけるタンデムマス・スクリーニングの現状. 第92回山陰小児科学会. 米子, 2013年9月
- 34) 山口清次: 小児のカルニチン代謝と抗菌薬. 第40回日本小児臨床薬理学会学術集会 セミナー. 横浜, 2013年11月
- 35) 小林弘典, 箕畑俊和, 山田健治, 高橋知男, 長谷川有紀, 山口清次: ろ紙血を用いた普及型LC/MS/MSによる副腎ステロイド分析の検討. 第38回日本医用マススペクトル学会年会. 神戸, 2013年9月
- 36) 高橋知男, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: サリチル酸の β 酸化に及ぼす影響: *in vitro* probe assay による評価. 第38回日本医用マススペクトル学会年会. 神戸, 2013年9月
- 37) 高橋知男, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: SIDS, ALTE 様症状で発症し先天代謝異常症と判明した10例の検討. 第65回中国四国小児科学会. 米子, 2013年11月
- 38) 山田健治, 小林弘典, 高橋知男, 長谷川有紀, 山口清次: グルタル酸血症2型の2例に対するベザフィブラートの治療経験. 第27回日本小児脂質研究会. 福井, 2013年11月
- 39) 古居みどり, 竹谷健, 永瀬真弓, 長谷川有紀, 小林弘典, 山田健治, 山口清次: マイクロサテライトマーカーによる個人識別を組み入れた先天代謝異常症の出生前診断. 日本人類遺伝学会 第58回大会. 仙台, 2013年11月
- 40) 山口清次: 新しい新生児マススクリーニングと遺伝カウンセリング. 日本人類遺伝学会 第58回大会 講演. 仙台, 2013年11月
- 41) 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 中村信, 立石浩, 山口清次: 新生児タンデムマス・スクリーニングでイソ吉草酸血症の診断マーカーが偽陽性を示した2例: シベレスタット投与例と母体への抗菌薬投与例. 第58回日本未熟児新生児学会. 金沢, 2013年11.12月
- 42) 長谷川有紀, 古居みどり, 小林弘典, 山田健治, 高橋知男, 竹谷 健, 山口清次: ミトコンドリア三頭酵素 (TFP) 欠損症の出生前診断5症例の経験. 第11回中国四国出生前医学研究会. 岡山, 2014年2月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

糖原病の診断基準作成と成人期の対策の研究
研究分担者 杉江秀夫 自治医科大学小児科 教授

研究要旨

診断基準の設定は患者の診断に一定の基準を提示し、臨床場面で医師の診断支援をし、それによって患者が均てん化された治療を受けられるようにする事が目的である。本分担研究では糖原病を肝型糖原病・筋型糖原病・その他の糖原病に分類し、糖原病および糖新生異常症について診断基準を作成した。この診断基準が臨床現場で利用され、診断・治療の開始が的確に行われることが期待できる。また糖原病の治療は主に小児期から行われるが、成人になった場合の成人診療科へのトランジションをいかに行ってゆくかが今後重要な課題であり、患者、成人診療科領域との連携を進めるための指針も今後策定が必要である。

研究協力者

福田 冬季子 浜松医科大学 小児科 准教授

A. 研究目的

糖原病は 16 種類の酵素あるいはグリコーゲン合成に関わるコア蛋白の欠損などにより生じるグリコーゲンの代謝異常症である。臓器特異性の酵素発現などから肝型、筋型、肝筋型、脳型などに分類されている。これらの症状は乳児期早期から始まることが多く、早期診断と早期の治療開始が望まれる。しかしながら本症自体が希少疾患であることもあり、専門性の高い医療施設でないと診断に至らない症例も存在する事が推測される。本症は新生児マススクリーニング対象疾患ではないが、今回診断基準策定に含まれるべき疾患として検討対象とした。本分担研究では、糖原病および糖新生異常症につき、診断方法の標準化をめざす目的で、診断基準を作成することとした。治療を含めた診断・治療ガイドライン（基準）については同時に検討を行った。

B. 研究方法

1. 診断基準（案）の作成について

日本先天代謝異常学会ガイドライン作成委員会において糖原病を担当し、委員間での議論を深めた。なお II 型はリソゾーム病の中で扱うため、除外し

た。

1) 糖原病の症状による分類にそった診断基準の策定：

糖原病の症状は均一ではなく病型によって臨床症状、臨床検査所見が異なるため、前景に出る罹患臓器の症状から、肝型、筋型、その他の糖原病に分類し、肝型はさらに、(1) 空腹時の低血糖を主要症状とする群 (I 型、III 型、VI 型、IX 型) と、(2) 低血糖を発症しない群 (IV 型) に分類し、診断基準を作成した。その他の糖原病として、0 型、グルコーストランスポーター 2 欠損症 (GLUT2) を診断基準作成の対象疾患とした。糖新生異常症については、フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ (FBPase) 欠損症を対象とした。

2) 診断基準作成の基本項目：

(a) 主要症状、(b) 参考となる検査所見、(c) 診断の根拠となる特殊検査、(d) 鑑別すべき疾患の 4 項目について掲載する方式を採用した。特に特殊検査については検査の安全性を最も考慮し、患者の状態の悪化を招く検査には推奨しないことを記載した。

3) 診断基準の記載方法：

診断基準として確定診断の基準を記載し、疾患によっては疑診の基準を記載した。

4) 診断基準のブラッシュアップ：

日本先天代謝異常学会ガイドライン作成委員会

および本研究班において、診断基準案のブラッシュアップを行った。

2. 小児科から成人診療科へのトランジションについて

国内外におけるトランジションの状況を調査した

(倫理面への配慮)

糖原病の酵素診断および遺伝子診断については自治医科大学遺伝子倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1. 診断基準(案)の作成について

◇ 肝型糖原病

疾患の概要:

グリコーゲン代謝経路の酵素や、トランスポーターの異常により起こる疾患で、多くは組織にグリコーゲンが蓄積するが、蓄積しない病型もある。I型、III型、IV型、VI型、IX型があり、症状には程度の差がある。頻度としてはIX型が最も多く、I型、III型がそれに次ぐ。

I型は、グルコース-6-ホスファターゼ(G6Pase)機構の障害による疾患で、Ia型(グルコース-6-ホスファターゼ欠損症)とIb型(グルコース-6-ホスフェート トランスロカーゼ欠損症)がある。肝臓、腎臓、腸管に多量のグリコーゲンが蓄積し、低血糖と高脂血症、高尿酸血症などの二次性代謝障害を呈する。Ib型では顆粒球減少と易感染性を伴う。

III型はグリコーゲン脱分枝酵素の欠損による疾患で、組織にグリコーゲン限界デキストリンが蓄積する。欠損活性の種類と罹患臓器(肝臓、骨格筋、心筋)によりサブタイプに分類される。III型の多くはIIIa型であり、低血糖、肝腫大、筋症状および症例によっては心症状を伴う。

IV型はグリコーゲン分枝鎖酵素欠損症である。組織に分枝鎖の少ないアミロペクチン様グリコーゲンが蓄積する。肝脾腫、筋力低下などが認められる。低血糖は認めない。

VI型は肝グリコーゲン ホスホリラーゼ欠損症、糖原病 IX型はホスホリラーゼキナーゼ欠損症である。肝腫大と軽度の低血糖を生じる。なおIX型にはまれに筋症状や心筋症状と呈する型が存在する。

空腹時に低血糖を認める群における基本項目:

(a) I型、III型、VI型、IX型に共通する主要症状

① I型

空腹時の低血糖症状、人形様顔貌、成長障害、肝腫大、出血傾向(鼻出血)。

Ib型では易感染性がみられる。

② III型

空腹時の低血糖症状、肝腫大、低身長。(I型に比し症状が軽度である)。IIIa型とIIId型では経過中に筋力低下を伴い、心筋障害を伴うこと症例もある。

③ VI型

空腹時の低血糖症状、肝腫大、低身長(I型に比し症状が軽度で、無症状例もある)。

④ IX型

空腹時低血糖症状、肝腫大、低身長。(I型に比し症状が軽度で、無症状例もある。)IXb型では軽度のミオパチー症状を伴う。

(b) 参考となる検査所見

① 空腹時低血糖

② 血中乳酸の上昇(I型では空腹時に上昇。III型、VI型、IX型では食後に上昇)

③ 肝機能異常

④ 低血糖時の代謝性アシドーシス(I型)

⑤ 高尿酸血症

⑥ 好中球減少(Ib型)

⑦ 高CK血症(IIIa型およびIIId型)

⑧ 画像検査

超音波検査、CT、MRIで肝腫大。肝超音波検査のエコー輝度上昇。肝臓CTの信号強度の上昇。高脂血症の程度により脂肪沈着のためCT値が低下する場合もある。

(c) 診断の根拠となる特殊検査

① 乳酸値あるいはグルコース負荷試験:

空腹時に高乳酸血症を呈する症例ではI型の疑いが強く、I型では食後もしくはグルコース負荷で乳酸値が低下する。III型、VI型、IX型では食後もしくはグルコース負荷で乳酸値が上昇する場合が多い。

② グルカゴン負荷試験(I型が疑われる症例では実施は推奨しない):

III型では空腹時の試験では血糖が上昇しない。食後2時間の試験で血糖が上昇する。VI型では空腹時および食後2時間の血糖が上昇しない。IX型では空腹時および食後2時間の血糖が上昇する。

③ 肝生検

肝組織にグリコーゲンの著明な蓄積および脂肪肝を認める。

④ 酵素診断

白血球、赤血球もしくは生検肝組織、生検筋組織（肝筋型糖原病）で酵素活性が欠損もしくは低下している。

【注】 IX型糖原病の一部では赤血球のホスホリラーゼキナーゼ活性低下を認めない症例があり、そのような症例をX-linked Liver glycogenosis (XLG)2型としている。肝組織では酵素診断の信頼性が上昇するが、酵素活性低下がなくてもXLG2型は否定できない。

⑤ 遺伝子解析

遺伝子診断にて病因となる遺伝子変異の同定。Ia型にはG6PC遺伝子に日本人好発変異(727g>t変異 [現行表記c. 648G>T])がIb型にはG6PT1遺伝子に好発変異p. W118Rがある。

(d) 鑑別すべき疾患

糖原病を含む肝腫大、低血糖を示す疾患や肝炎など。

以上の基本項目を基に作成した診断基準(案)

疑診

- ① 主要症状または参考となる検査所見のうち、肝腫大を認め、肝機能障害、もしくは低血糖のいずれか1つが存在し、グルコース負荷試験で乳酸低下を認めた場合は、糖原病I型の疑診例とする。
- ② 主要症状または参考となる検査所見のうち、肝腫大を認め、肝機能障害、もしくは低血糖のいずれか1つが存在し、グルコース負荷試験で糖原病I型の疑診例とならなかった症例は、I型以外の肝型糖原病の疑診例とする。

確定診断

酵素診断あるいは遺伝子診断で確定した

もの。

【補記1. 負荷試験についての注意】

問う原病を診断する際に行われるFernandesの負荷試験は必ずしも生化学的診断結果と合致しないこともあるので注意が必要である。特にI型ではグルカゴン負荷試験で急激な代謝性アシドーシスをきたした事例の報告があるため、I型が疑われる場合にはグルカゴン負荷試験は基本的には行わない。遺伝子検査などその他の検査を優先して行う方が望ましい。そのため負荷テストとしては、グルコース負荷試験の結果により、酵素測定あるいは遺伝子解析を行うことが推奨される。

【補記2. 肝腫大について】

I型、III型、VI型、IX型糖原病における肝腫大は乳児期には発現するが、発現時期は様々であることを考慮して診断を進める必要がある。

空腹時に低血糖を認めないIV型の基本項目：

IV型には以下の病型が報告されている。

臨床病型

- ① 肝型（重症肝硬変型）
- ② 非進行性肝型
- ③ 致死新生児神経・筋型
- ④ 幼児筋・肝型
- ⑤ 成人型（ポリグルコサン小胞体病）

(a) 主要症状

- ① 肝型（重症肝硬変型）
低血糖は認めず、乳児期に進行する肝不全、肝硬変、脾腫、筋緊張低下を示す。徐々に肝硬変、門脈圧が亢進する。
- ② 非進行性肝型
肝機能異常のみで肝硬変を示さない。
- ③ 致死新生児神経・筋型
重度の神経症状。
- ④ 幼児筋・肝型
筋力低下および肝機能異常。
- ⑤ 成人型
おおむね40歳以降に認知症や神経症状を呈する。

(b) 参考となる検査所見

① 肝機能障害

② 肝組織化学所見

光顕所見で間質の線維化、肝細胞の腫大。細胞質内に好塩基性のジアスターゼ耐性のPAS陽性の封入体を認める。

(c) 診断の根拠となる特殊検査

① 赤血球または肝臓におけるグリコーゲン分枝鎖酵素活性の低下

② 遺伝子解析で病因となる遺伝子変異の同定

③ 電顕所見で肝あるいは筋組織にアミロペクチン様グリコーゲンが凝集蓄積する。

(d) 鑑別すべき疾患

肝硬変を呈する疾患

致死新生児神経・筋型では他のフロッピーインファントを示す疾患

◇ 筋型糖原病

疾患の概要：

筋症状を呈する糖原病を筋型糖原病とよぶ。III型、IV型では肝症状も伴う（肝型糖原病の項参照）。V型（McArdle病）、VII型（垂井病）、IXd型（ホスホリラーゼキナーゼ欠損症）、ホスホグリセリンキナーゼ（PGK）欠損症、筋ホスホグリセリンキナーゼ（PGAM）欠損症、乳酸デヒドロゲナーゼAサブユニット（LDH-Aサブユニット）欠損症、アルドラーゼA欠損症、β-エノラーゼ欠損症などがある。筋型糖原病の中ではII型（Pompe病）、III型、V型が多い。糖原病II型はリゾゾーム病にも分類されるため、本診断基準では取り扱わない。

筋型糖原病の病型：

1) 運動誘発性に筋症状（筋痛、筋硬直、横紋筋融解症）を示す病型：

V型（筋ホスホリラーゼ欠損症）

VII型（筋ホスホフルクトキナーゼ欠損症、垂井病）

IXd型（ホスホリラーゼキナーゼ欠損症d型）
PGK欠損症（ホスホグリセリンキナーゼ欠損症）

PGAM欠損症（筋ホスホグリセリンキナーゼ欠損症）

LDH-Aサブユニット欠損症

アルドラーゼA欠損症

β-エノラーゼ欠損症

2) 固定性の筋症状（筋力低下）を示す型

III型（IIIa, IIId）（グリコーゲン脱分枝酵素欠損症）

IV型（グリコーゲン分枝鎖酵素欠損症）
アルドラーゼA欠損症

筋型糖原病における基本項目：

(a-1) 主要症状

① 運動誘発性に筋症状を示す型：

運動不耐、運動時痛性筋けいれん、横紋筋融解症（ミオグロビン尿症）。特に強度の短時間の等尺性運動で運動不耐、筋痛、痛性筋けいれんが生じやすい。

② 固定性筋症状を示す型：

非進行性/進行性の筋力低下を呈する。

(a-2) その他の特徴的症状または随伴症状

① V型では運動を続けるうちに、突然筋痛や痛性筋けいれんが軽快し再び運動の持続が可能となる“セカンドウィンド現象”を高率に認める。

② VII型では溶血を認めることがある。

③ PGK欠損症では溶血、および中枢神経症状（てんかん、精神遅滞など）を伴う例がある。

④ アルドラーゼA欠損症では溶血、精神遅滞を伴う例がある。

(b) 参考となる検査所見

① 血清CK高値

運動などで筋崩壊が進行すれば著明に上昇する。

② 尿中・血中ミオグロビン、血清尿酸値の上昇

③ ミオグロビン尿が見られる場合は血清BUN、クレアチニンの上昇。

④ 糖原病VII型、PGK欠損症、アルドラーゼA欠損症では溶血所見、高ビリルビン血症、網状赤血球の増加

(c) 診断の根拠となる特殊検査

① 阻血下前腕運動負荷試験または非阻血下前腕運動負荷試験：