

specificity (i.e., binding of the probe to a perfectly matched sequence rather than to regions with sequence mismatches).

Seven primer/probe sets were designed for this study. Fig. 1 shows a schematic diagram of the strategy for mutation detection using these primer/probe sets. Tables 1 and 2 list the primer/probe sets and corresponding sequences and primer concentrations that were used to target the 11 mutations. Primer/probe sets A, B, C, D, E, and F were designed to detect mutations [I], [II], [III], [IV], [V], and [XIX], respectively. Primer/probe set G was designed to detect the five mutations clustered on exon 17: mutations [VI], [VII], [VIII], [IX], and [XXI] (Fig. 1D). All primers and probes were synthesized based on the NCBI reference SLC25A13 gene sequence (GenBank accession no. **NM\_014251**) with the exception of mutation [XIX]:IVS16ins3kb, which was designed according to [19].

Real-time PCR and subsequent melting curve analyses were performed in a closed tube using a 20- $\mu$ L mixture on a LightCycler 1.5 (Roche Diagnostics, Tokyo, Japan). The PCR mixture contained 2.0  $\mu$ L of genomic DNA (10–50 ng), 0.5  $\mu$ M of forward primer, 0.5 or 0.1  $\mu$ M of reverse primer, 0.2  $\mu$ M of each sensor and anchor probe, and 10  $\mu$ L of Pre-mix ExTaq™ (Perfect Real Time) reagent (TaKaRa Bio Inc., Otsu, Japan).

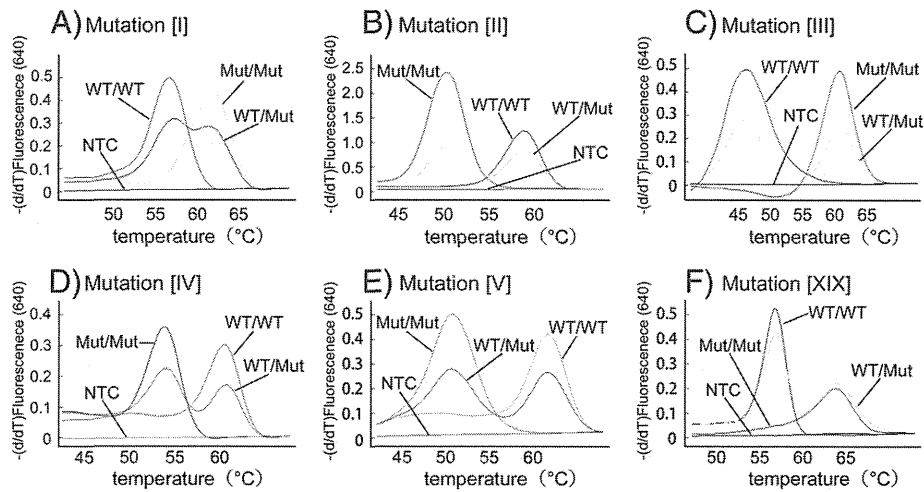
The thermal profile conditions were identical for all seven assays and consisted of an initial denaturation step (30 s at 95 °C), followed by 45 amplification cycles with the following conditions: denaturation for 5 s at 95 °C and annealing and extension for 20 s at 60 °C. The transition rate between all steps was 20 °C/s. After amplification, the samples were held at 37 °C for 1 min, followed by the melting curve acquisition at a ramp rate of 0.15 °C/s extending to 80 °C with continuous fluorescence acquisition.

**Table 2**  
Primers, probes and target amplicon sequences, target mutation sites, and primer concentrations.

Primer/probe set	Name	Sequences of PCR products, primer locations, probe sequences, and mutation sites (5' to 3')	Concentration ( $\mu$ mol/L)
A		GGCTATACTGAAATATGAGAAatgaaaaagggatgttttaaaatataatgtaaaattgtaaaattggtatattgtgctgtgtgtttttccctacagac <b>gtatg</b> acccttagcagacattgaacggattgctcctcggaaggaggaactgcccCTTAACTTGGCTGAGG (181 bp)	
	Mut1-F	GGCTATACTGAAATATGAGAA	0.5
	Mut1-R	CCTCAGCCAAGTAAAG	0.5
	Mut1-UP	ATGTAAATTGTAATAAATGGTATATTTGTTGCTGTGTT-FITC	
	Mut1-DW	LC Red640-GTTTTCCCTACAGACGACC-P	
B		GAATGCAGAACCAACGAtcaactggctcttttgggagaactcatgtataaaacagcttgactgttttaagaagtgctacgctatgaagctcttt <b>tggactgtatagaggtagtgc</b> ccatgctcaatacctgtaggtgaaataaacactcaaaagttgtttctcatcttagtgctGACATGAATTAGCAAGACTG (205 bp)	
	Mut2-F	GAATGCAGAACCAACGA	0.5
	Mut2-R	CAGTCTTGCTAATTCATGTC	0.1
	Mut2-UP	ACCTAACAGGTATTGAGCATGTG-FITC	
	Mut2-DW	LC Red640-CACTAACCTCTATACAGTCCA-P	
C		GCAGTTCAAAGCACAGTTATtttatatagtagaagtgtgaccagactgagatgggtgtgtgctctcctcgaggtatgctgcagcatcttttagtg <b>accctgctgatgttatcaagacgagattacaggtg</b> <b>gctgcccggg(gagattacaggtggctgcccggg)</b> ctggccaaccaCTTACAGCGGAGTGATAGAC (175 bp)	
	Mut3-F	GCAGTTCAAAGCACAGTTAT	0.5
	Mut3-R	GTCTATCACTCCGCTGTAAG	0.5
	Mut3-UP	ACCCCTGCTGATGTTATCAAGACGAGATTACAGGT-FITC	
	Mut3-DW	LC Red640-GCTGCCCGGGGAGATTA-P	
D		TCAATTTATTTGAGGCTGctggagttaccacatccatcaagttagtttctctattttatgattaaatgctccttaacaac <b>atggaactcattagaagatctatagcactc</b> <b>tggctggcaccaggaagattggaagtGACTAAGGGTGAGTGAGAA</b> (164 bp)	
	Mut4-F	TCAATTTATTTGAGGCTGC	0.5
	Mut4-R	TTCTCACTACCCTTAGTC	0.5
	Mut4-UP	AATGGATTTAATTCGCTCCTTAACA-FITC	
	Mut4-DW	LC Red640-ATGGAACTCATTAGAAAGATCTATAGCACTC-P	
E		TGCACAAAGATGGTTCCgtcccactgctcagcagaattcttctgctgaggtgctgtaagctctttgaagctctctcattgaaaagactgtttcac atatatcactaccatggtcaacaggtgtggactaaggtctctgttTAACCACAGATCTCGCA (162 bp)	
	Mut5-F	TGCACAAAGATGGTTCC	0.5
	Mut5-R	TGCAGGATCTGTGGTTA	0.5
	Mut5-UP	GTGAAACAAGTCTTTTCAATGAAGAGAGCTTC-FITC	
	Mut5-DW	LC Red640-AAGTACTTACGACGCTC-P	
F	normal allele	GGAGCTGGTGATGGAaataatgtttcctaactaactcttggatcaggtaaattttaaaatatctaataatctgtgattctc <b>cattttttaaagctgtgatttcgatcctcaccacagtttgg</b>	
		gtaactttgctgacttacgaattgctacagcagatggttctacattgatttggaggagtgaagtatcatgctaaatctgctgctaaattt GGCTGCTGCTAATGCTC (244 bp)	
	insertion allele	CCATCTCTCTCCTCCCTTggcagccccccccgatttctccattttttaaagctgtgatttcgatcctcaccacagtttgg gtaactttgctgacttacgaattgctacagcagatggttctacattgattt ggaggagtgaagtatcatgctaaatctgctgctaaatttGGCTGCTGCTAATGCTC (196 bp)	
	Mut19-N-F	GGAGCTGGTGATGGA	0.5
	Mut19-ins-F	CCATCTCTCTCCTCCTT	0.5
	Mut19-R	GAGCATTAGCAGCAGCC	0.5
	Mut19-UP	ACCAAACGGGGTGAGGATCGAAATACACGAGCTTAAAAAATG-FITC	
	Mut19-N-DW	LC Red640-AGAAATCAGATATAATTAGATATT-P	
	Mut19-ins-DW	LC Red640-AGAAATCGGGGGCGGGG-P	
	G		TCTTAACTAACTCTTTGGTATCAGGTaaatttttaaataatctaataatctgtgatttctccatttttaaagctg <b>tgtatttcgatcctcaccacagtttgggtgtaacttctgctgacta(a)cgaa</b> tgtctacagcga <b>tggttctacattgatttggaggagtgaagtatcatgctaaatctgctgctaaatttGGCTGCTGCTAATGCTC</b> (217 bp)
Mut6-9, 21-F	TCTTAACTAACTCTTTGGTATCAGGT	0.5	
Mut6-9, 21-R	GAGCATTAGCAGCAGCC	0.5	
Mut6-9, 21-UP	TGTATTTGATCTCTACCCAGTTTGGTGAACCT-FITC		
Mut6-9, 21-DW	LC Red640-GCGGACTTACGAATTGCTACAGCGA-P		

Upper case and underlined letters indicate the locations of primers and probes, respectively. Inserted DNA is shown in parenthesis. Nucleotides in boldface were used for mutation detection.

F: forward, R: reverse, UP: upstream, DW: downstream, N: normal allele, ins: insertion allele, FITC: fluorescein isothiocyanate, P: phosphate.



**Fig. 2.** Typical melting curves used in the detection of mutations [I–V] and [XIX]. Each assay using primer/probe sets A–F is displayed in a separate graph (A–F). WT: wild-type allele, Mut: mutant allele, NTC: no DNA template control.

### 2.3. Validation of the mutation detection system

After establishing the protocol for detecting the 11 prevalent mutations, 50 DNA samples from patients' blood were sent from Kagoshima University to Tohoku University for the validation of this system in a single-blind manner. Similarly, 26 DNA samples purified from paper-filter blood samples were analyzed in the same manner as the blood DNA samples.

### 2.4. Estimation of the carrier frequency

For the estimation of the heterozygous carrier frequency, 420 genomic DNA samples from healthy volunteers were screened using the HybProbe analysis for the 11 prevalent mutations. All detected mutations were confirmed by direct sequencing.

### 2.5. Ethics

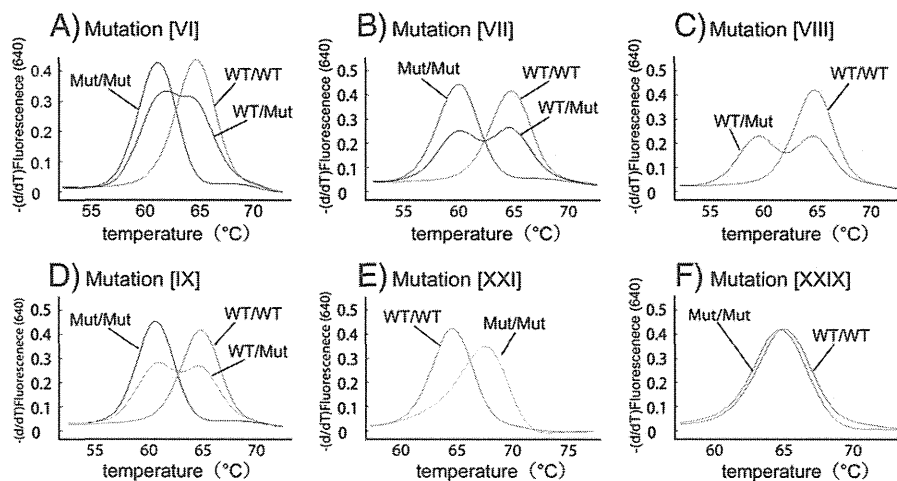
This study was approved by the Ethical Committees of Tohoku University School of Medicine and Kagoshima University. Written informed consent was obtained from all participants or their guardians.

## 3. Results

### 3.1. Development of the mutation detection system

In primer/probe sets B, D, and E, the reporter probes were designed to be complementary to the wild-type allele (Fig. 1A). To allow for an improved detection of the mutations, primer/probe sets A and C were designed to be complementary to the mutant allele (Figs. 1B, C). In the primer/probe set F, two forward PCR primers, which were specific to the wild-type and the mutant alleles, were used with a common reverse primer for the co-amplification of the wild-type and 3-kb insertion alleles (Fig. 1E). Two reporter probes, which had a common anchor probe, were used for the detection of the wild-type and mutant alleles. Because the two reporter probes had different melting temperatures, we were able to identify the allele that was amplified. Fig. 2 shows representative results of the melting curve analyses using the primer/probe sets A–F, in which all of the mutant alleles generated distinct peaks corresponding to the wild-type alleles.

In the primer/probe set G, we used a reporter probe that was complementary to the mutant [XXI] allele (Fig. 1D). All five mutations in exon 17 were successfully differentiated from the wild-type allele (Figs. 3A–E). The [XXIX] mutation is an additional mutation in exon



**Fig. 3.** Typical melting curves used in the detection of mutations [VI–XI], [XXI], and [XXIX] on exon 17. Genotyping was performed using primer/probe set G. Each melting curve for a target mutation is displayed in a separate graph (A–F). Note that mutation [XXIX] (F) is a non-target mutation on the anchor probe. WT: wild-type allele, Mut: mutant allele.

17 that is not listed in Table 1. The [XXIX] mutation is located in the anchor-probe binding site and not on the reporter-probe binding site (Fig. 1D). To examine the effect of mutations on the anchor probe, we genotyped a patient with a heterozygous [XXIX] mutation using primer/probe set G (Fig. 3F). We found no change in the melting curves between the wild-type allele and the [XXIX] allele, thereby suggesting that point mutations within the anchor probe sequence have little effect on the melting curve analysis.

### 3.2. Validation

The genotypes determined at Tohoku University using the proposed method and those determined at Kagoshima University using a previously published method were identical for the 11 common mutations (Table S1 in supplementary material). We performed a similar test using DNA samples purified from filter-paper blood samples to determine if this method could be used for newborn screening. The genotypes determined in both laboratories were identical for all 26 DNA samples (Table S2 in supplementary material).

### 3.3. Frequency of eleven prevalent mutations

We found four heterozygous carriers of mutation [I], three of mutation [II], and two of mutation [V]. In addition, primer/probe set G detected one heterozygous mutation, which was confirmed as mutation [VIII] by direct sequencing. Altogether, 10 mutations were detected in 420 Japanese healthy controls.

## 4. Discussion

We developed a simple and rapid genetic test using real-time PCR combined with the HybProbe system for the 11 prevalent mutations in *SLC25A13*: mutations [I], [II], [III], [IV], [V], [VI], [VII], [VIII], [IX], [XIX], and [XXI]. This genetic test is a closed-tube assay in which no post-PCR handling of the samples is required. In addition, the genotyping is completed within 1 h. This test can utilize DNA samples purified from both peripheral blood and filter-paper blood. The reliability of the test was confirmed by genotyping 76 blind DNA samples from patients with citrin deficiency, including 50 peripheral blood and 26 filter-paper blood DNA samples. Because screening for the 11 targeted mutations would identify 95% of mutant alleles in the Japanese population [19], both, one, and no mutant alleles are expected to be identified in 90.4%, 9.3%, and less than 0.3% of patients, respectively. This genetic test would be useful not only in Japan but also other East Asian countries, including China, Korea, Taiwan and Vietnam, in which the same mutations are prevalent. Our test is expected to detect 76–87% of the mutant alleles in the Chinese population [12,19,25], 95–100% in the Korean population [12,19,26], 60–68% in the Taiwanese population [27,28], and 100% in the Vietnamese population [12,19]. If we were to prepare a primer/probe set for mutation [X]:g.IVS6+5G>A [12], which is prevalent in Taiwan, the estimated sensitivity would exceed 90% in the Taiwanese population [27,28].

Recently, the high resolution melting (HRM) method was reported to be suitable for the screening of mutations in the diagnosis of citrin deficiency [28]. HRM analysis is a closed-tube assay that screens for any base changes in the amplicons. The presence of SNPs anywhere on the amplicons can affect the melting curve, thereby suggesting that HRM is not suitable for screening for known mutations, but rather, is best suited to screening for unknown mutations. When we detected one heterozygous prevalent mutation, we performed HRM screening for all 17 exons of *SLC25A13*. After HRM screening, only the HRM-positive exons were subjected to direct sequencing analysis. Several mutant alleles were identified using this approach.

The frequency of homozygotes, including compound heterozygotes, presenting *SLC25A13* mutations in the population at Kagoshima (a prefecture in the southern part of Japan) has been calculated to be 1/17,000 based on the carrier rate (1/65) [19]. The prevalence of NICCD has been also reported to be 1/17,000–34,000 [29]. In this study, the carrier rate in Miyagi (a prefecture in northern Japan) was 1/42 (95% confidential interval, 1/108–1/26), thereby yielding an estimated frequency of patients with citrin deficiency of 1/7,100. Our result, together with the previous report [19], suggests that a substantial fraction of the homozygotes or compound heterozygotes of *SLC25A13* mutations was asymptomatic during the neonatal period.

The early and definitive diagnosis of citrin deficiency may be beneficial for patients with citrin deficiency by encouraging specific dietary habits and avoiding iatrogenic worsening of brain edema by glycerol infusion when patients develop encephalopathy [30,31]. Because the screening of blood citrulline levels by tandem mass analysis at birth does not detect all patients with citrin deficiency, the development of a genetic test would be welcomed. In this study, we demonstrated that genomic DNA extracted from filter paper blood samples was correctly genotyped, thereby indicating the feasibility of newborn screening using this genetic test. If 100,000 babies in the northern part of Japan were screened by this method, we would detect 14 homozygotes or compound heterozygotes with *SLC25A13* mutations and 2400 heterozygous carriers. In 2400 heterozygous carriers, we would expect to observe only 1 to 2 compound heterozygotes with one target and one non-target mutation. The estimated frequency of babies with two non-target mutations is 0.04/100,000. Our genetic method would therefore allow us to screen newborn babies efficiently. If we performed this genetic test in a high-throughput real-time PCR system, such as a 384- or 1,536-well format, the cost per sample could be lowered.

In conclusion, we have established a rapid and simple detection system using the HybProbe assay for the 11 prevalent mutations in *SLC25A13*. This system could be used to screen newborns for citrin deficiency and may facilitate the genetic diagnosis of citrin deficiency, especially in East Asian populations.

Supplementary materials related to this article can be found online at doi:10.1016/j.jymgme.2011.12.024.

## Acknowledgments

The authors acknowledge the contribution of Dr. Keiko Kobayashi, who passed away on December 21th, 2010. Dr. Kobayashi discovered that the *SLC25A13* gene is responsible for citrin deficiency and devoted much of her life to elucidating the mechanism of citrin deficiency. This work was supported by grants from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology and the Ministry of Health, Labor, and Public Welfare.

## References

- [1] K. Kobayashi, D.S. Sinasac, M. Iijima, A.P. Boright, L. Begum, J.R. Lee, T. Yasuda, S. Ikeda, R. Hirano, H. Terazono, M.A. Crackower, I. Kondo, L.C. Tsui, S.W. Scherer, T. Saheki, The gene mutated in adult-onset type II citrullinemia encodes a putative mitochondrial carrier protein, *Nat. Genet.* 22 (1999) 159–163.
- [2] T. Ohura, K. Kobayashi, Y. Tazawa, I. Nishi, D. Abukawa, O. Sakamoto, K. Iinuma, T. Saheki, Neonatal presentation of adult-onset type II citrullinemia, *Hum. Genet.* 108 (2001) 87–90.
- [3] Y. Tazawa, K. Kobayashi, T. Ohura, D. Abukawa, F. Nishinomiya, Y. Hosoda, M. Yamashita, I. Nagata, Y. Kono, T. Yasuda, N. Yamaguchi, T. Saheki, Infantile cholestatic jaundice associated with adult-onset type II citrullinemia, *J. Pediatr.* 138 (2001) 735–740.
- [4] T. Tomomasa, K. Kobayashi, H. Kaneko, H. Shimura, T. Fukusato, M. Tabata, Y. Inoue, S. Ohwada, M. Kasahara, Y. Morishita, M. Kimura, T. Saheki, A. Morikawa, Possible clinical and histologic manifestations of adult-onset type II citrullinemia in early infancy, *J. Pediatr.* 138 (2001) 741–743.
- [5] T. Shigeta, M. Kasahara, T. Kimura, A. Fukuda, K. Sasaki, K. Arai, A. Nakagawa, S. Nakagawa, K. Kobayashi, S. Soneda, H. Kitagawa, Liver transplantation for an

- infant with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency using heterozygote living donor, *Pediatr. Transplant.* 14 (2009) E86–88.
- [6] M. Kasahara, S. Ohwada, T. Takeichi, H. Kaneko, T. Tomomasa, A. Morikawa, K. Yonemura, K. Asonuma, K. Tanaka, K. Kobayashi, T. Saheki, I. Takeyoshi, Y. Morishita, Living-related liver transplantation for type II citrullinemia using a graft from heterozygote donor, *Transplantation* 71 (2001) 157–159.
- [7] Y. Takashima, M. Koide, H. Fukunaga, M. Iwai, M. Miura, R. Yoneda, T. Fukuda, K. Kobayashi, T. Saheki, Recovery from marked altered consciousness in a patient with adult-onset type II citrullinemia diagnosed by DNA analysis and treated with a living related partial liver transplantation, *Intern. Med.* 41 (2002) 555–560.
- [8] A. Tamamori, Y. Okano, H. Ozaki, A. Fujimoto, M. Kajiwara, K. Fukuda, K. Kobayashi, T. Saheki, Y. Tagami, T. Yamano, Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: severe hepatic dysfunction in an infant requiring liver transplantation, *Eur. J. Pediatr.* 161 (2002) 609–613.
- [9] T. Ohura, K. Kobayashi, Y. Tazawa, D. Abukawa, O. Sakamoto, S. Tsuchiya, T. Saheki, Clinical pictures of 75 patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD), *J. Inherit. Metab. Dis.* 30 (2007) 139–144.
- [10] T. Yasuda, N. Yamaguchi, K. Kobayashi, I. Nishi, H. Horinouchi, M.A. Jalil, M.X. Li, M. Ushikai, M. Iijima, I. Kondo, T. Saheki, Identification of two novel mutations in the SLC25A13 gene and detection of seven mutations in 102 patients with adult-onset type II citrullinemia, *Hum. Genet.* 107 (2000) 537–545.
- [11] N. Yamaguchi, K. Kobayashi, T. Yasuda, I. Nishi, M. Iijima, M. Nakagawa, M. Osame, I. Kondo, T. Saheki, Screening of SLC25A13 mutations in early and late onset patients with citrin deficiency and in the Japanese population: identification of two novel mutations and establishment of multiple DNA diagnosis methods for nine mutations, *Hum. Mutat.* 19 (2002) 122–130.
- [12] Y.B. Lu, K. Kobayashi, M. Ushikai, A. Tabata, M. Iijima, M.X. Li, L. Lei, K. Kawabe, S. Taura, Y. Yang, T.-T. Liu, S.-H. Chiang, K.-J. Hsiao, Y.-L. Lau, L.-C. Tsui, D.H. Lee, T. Saheki, Frequency and distribution in East Asia of 12 mutations identified in the SLC25A13 gene of Japanese patients with citrin deficiency, *J. Hum. Genet.* 50 (2005) 338–346.
- [13] E. Ben-Shalom, K. Kobayashi, A. Shaag, T. Yasuda, H.-Z. Gao, T. Saheki, C. Bachmann, O. Elpeleg, Infantile citrullinemia caused by citrin deficiency with increased dibasic amino acids, *Mol. Genet. Metab.* 77 (2002) 202–208.
- [14] J. Takaya, K. Kobayashi, A. Ohashi, M. Ushikai, A. Tabata, S. Fujimoto, F. Yamato, T. Saheki, Y. Kobayashi, Variant clinical courses of 2 patients with neonatal intrahepatic cholestasis who have a novel mutation of SLC25A13, *Metab. Clin. Exp.* 54 (2005) 1615–1619.
- [15] A. Luder, A. Tabata, M. Iijima, K. Kobayashi, H. Mandel, Citrullinaemia type 2 outside East Asia: Israeli experience, *J. Inherit. Metab. Dis.* 29 (2006) 59.
- [16] T. Hutchin, M. Preece, K. Kobayashi, T. Saheki, R. Brown, D. Kelly, P. McKiernan, A. Green, U. Baumann, Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD) in a European patient, *J. Inherit. Metab. Dis.* 29 (2006) 112.
- [17] J.-S. Sheng, M. Ushikai, M. Iijima, S. Packman, K. Weisiger, M. Martin, M. McCracken, T. Saheki, K. Kobayashi, Identification of a novel mutation in a Taiwanese patient with citrin deficiency, *J. Inherit. Metab. Dis.* 29 (2006) 163.
- [18] J.M. Ko, G.-H. Kim, J.-H. Kim, J.Y. Kim, J.-H. Choi, M. Ushikai, T. Saheki, K. Kobayashi, H.-W. Yoo, Six cases of citrin deficiency in Korea, *Int. J. Mol. Med.* 20 (2007) 809–815.
- [19] A. Tabata, J.-S. Sheng, M. Ushikai, Y.-Z. Song, H.-Z. Gao, Y.-B. Lu, F. Okumura, M. Iijima, K. Mutoh, S. Kishida, T. Saheki, K. Kobayashi, Identification of 13 novel mutations including a retrotransposal insertion in SLC25A13 gene and frequency of 30 mutations found in patients with citrin deficiency, *J. Hum. Genet.* 53 (2008) 534–545.
- [20] P.S. Bernard, R.S. Ajioka, J.P. Kushner, C.T. Wittwer, Homogeneous multiplex genotyping of hemochromatosis mutations with fluorescent hybridization probes, *Am. J. Pathol.* 153 (1998) 1055–1061.
- [21] C.N. Gundry, P.S. Bernard, M.G. Herrmann, G.H. Reed, C.T. Wittwer, Rapid F508del and F508C assay using fluorescent hybridization probes, *Genet. Test.* 3 (1999) 365–370.
- [22] T. Saheki, K. Kobayashi, I. Inoue, Hereditary disorders of the urea cycle in man: biochemical and molecular approaches, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 108 (1987) 21–68.
- [23] K. Kobayashi, M. Horiuchi, T. Saheki, Pancreatic secretory trypsin inhibitor as a diagnostic marker for adult-onset type II citrullinemia, *Hepatology* 25 (1997) 1160–1165.
- [24] Y. Tazawa, K. Kobayashi, D. Abukawa, I. Nagata, S. Maisawa, R. Sumazaki, T. Iizuka, Y. Hosoda, M. Okamoto, J. Murakami, S. Kaji, A. Tabata, Y.B. Lu, O. Sakamoto, A. Matsui, S. Kanzaki, G. Takada, T. Saheki, K. Iinuma, T. Ohura, Clinical heterogeneity of neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: case reports from 16 patients, *Mol. Genet. Metab.* 83 (2004) 213–219.
- [25] H.Y. Fu, S.R. Zhang, X.H. Wang, T. Saheki, K. Kobayashi, J.S. Wang, The mutation spectrum of the SLC25A13 gene in Chinese infants with intrahepatic cholestasis and aminoacidemia, *J. Gastroenterol.* 46 (2011) 510–518.
- [26] K. Kobayashi, Y.B. Lu, M.X. Li, I. Nishi, K.-J. Hsiao, K. Choeh, Y. Yang, W.-L. Hwu, J.K.V. Reichardt, F. Palmieri, Y. Okano, T. Saheki, Screening of nine SLC25A13 mutations: their frequency in patients with citrin deficiency and high carrier rates in Asian populations, *Mol. Genet. Metab.* 80 (2003) 356–359.
- [27] T. Saheki, K. Kobayashi, M. Iijima, M. Horiuchi, L. Begum, M.A. Jalil, M.X. Li, Y.B. Lu, M. Ushikai, A. Tabata, M. Moriyama, K.-J. Hsiao, Y. Yang, Adult-onset type II citrullinemia and idiopathic neonatal hepatitis caused by citrin deficiency: involvement of the aspartate glutamate carrier for urea synthesis and maintenance of the urea cycle, *Mol. Genet. Metab.* 81 (Suppl 1) (2004) S20–S26.
- [28] J.T. Lin, K.J. Hsiao, C.Y. Chen, C.C. Wu, S.J. Lin, Y.Y. Chou, S.C. Shiesh, High resolution melting analysis for the detection of SLC25A13 gene mutations in Taiwan, *Clin. Chim. Acta* 412 (2011) 460–465.
- [29] Y. Shigematsu, S. Hirano, I. Hata, Y. Tanaka, M. Sudo, N. Sakura, T. Tajima, S. Yamaguchi, Newborn mass screening and selective screening using electrospray tandem mass spectrometry in Japan, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 776 (2002) 39–48.
- [30] M. Yazaki, Y.-i. Takei, K. Kobayashi, T. Saheki, S.-I. Ikeda, Risk of worsened encephalopathy after intravenous glycerol therapy in patients with adult-onset type II citrullinemia (CTLN2), *Intern. Med.* 44 (2005) 188–195.
- [31] H. Takahashi, T. Kagawa, K. Kobayashi, H. Hirabayashi, M. Yui, L. Begum, T. Mine, S. Takagi, T. Saheki, Y. Shinohara, A case of adult-onset type II citrullinemia—deterioration of clinical course after infusion of hyperosmotic and high sugar solutions, *Med. Sci. Monit.* 12 (2006) CS13–CS15.

## Reye 症候群はどこへ行った？

高柳正樹\*

### はじめに

インフルエンザ感染はミトコンドリアの機能障害をきたすことはよく知られている。インフルエンザ感染後発症する脳症はインフルエンザ脳症として精力的にその病態が検討されている。

Reye 症候群はミトコンドリア機能障害が認められ、インフルエンザ感染後の発症も多く報告されていたので、Reye 症候群とインフルエンザ感染との関連についても多くの報告がされている。

最近の若い小児科医では、Reye 症候群という症例を経験をしたことのない人が多くなってきている。筆者が小児科医になった35年ぐらい前は、Reye 症候群の患者が連続して運び込まれるような経験をしたことがある。

医学中央雑誌の和文の論文検索システムにより、「ライ症候群 (Reye 症候群)」というキーワードで検索すると、1983～1987の5年間で検索された論文数は295件であり、2008～2012の5年では96件と明らかにその数の減少をみている。

さて、本当に「Reye 症候群はどこへ行った？」のだろうか。

### I. Reye 症候群とは、さらにはアスピリンとの関係は？

Reye 症候群は1963年にReyeらが初めて報告した症候群で<sup>1)</sup>、日本では1967年に第1例が報告されている。

TAKAYANAGI Masaki

\* 千葉県こども病院小児救急総合診療科  
[〒266-0007 千葉市緑区辺田町 579-1]  
TEL 043-292-2111

インフルエンザ、水痘および各種ウイルス性疾患に罹患後数日後に、意識障害、嘔吐、けいれん、発熱などで発症し、臨床像は多臓器不全を呈し生命的予後や神経学的な予後のきわめて悪い疾患であった。その病理学的な特徴は、全身臓器とくに肝臓に、Reye 症候群型といってもよいほど特異的な脂肪変性とミトコンドリアの変化がみられることである。

さらに、注目すべきことはReye 症候群とアセチルサルチル酸(アスピリン)との関係である。米国におけるアスピリン投与とReye 症候群との関連に関する綿密な疫学的研究により<sup>2)</sup>、その関連性が指摘され、米国さらには日本においても、アスピリンの使用をインフルエンザ、水痘罹患時には控えるように勧告がなされている。この勧告後にアスピリンの使用頻度の減少に伴い、Reye 症候群の発生が減少してきているという報告もある。この件については筆者の総説を参照されたい<sup>3)</sup>。

それでは、最近のReye 症候群の減少はアスピリンの使用制限だけによるものなのだろうか？

### II. Reye 症候群の診断における問題点

筆者は先天代謝異常症を専門としているが、最初に先天代謝異常症にふれたのが、このReye 症候群である。1週間に何人もの患者がReye 症候群で亡くなったこともあったことから、当時はこの病気の診断法、治療法の確立が急がれていた。

Reye 症候群の診断においては、ミトコンドリアの機能異常をきたす各種の代謝性疾患を除外することが必要であることは、この疾患が初めて報告されたころから重要な問題であった。しかし、先天代謝異常症の診断は測定機器の開発や普及、さらには各種先天代謝異常疾患の一般小児科医へ

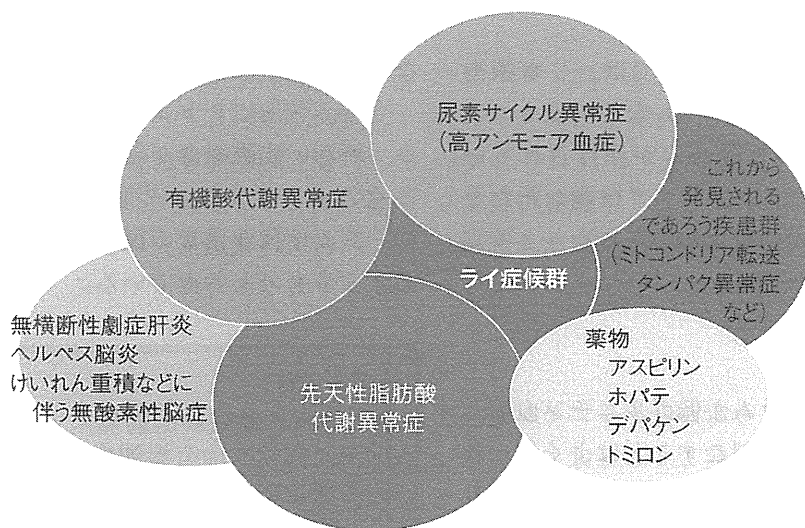


図 Reye 症候群はどこへ行った—Reye 症候群およびその周辺疾患

の教育、啓蒙が不十分であったため非常に難しく、1980年代後半までは非常に少数の症例にのみ正しい診断がつけられていたという状況であった。昭和という年号がついていたころには、脂肪酸代謝異常症は日本には存在しないとされていたが、現在、拡大新生児マススクリーニングで数多くの脂肪酸代謝異常症が次々と発見されている。つまり、アミノ酸自動分析機、ガスクロマトグラフィー質量分析機、さらにはタンデム質量分析機などが、日常診療に容易に使用できるようになってきた1990年代後半の年代になってはじめて、Reye 症候群の正確な鑑別診断が可能になってきたと考えられる。つまり、以前は尿素サイクル異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、ミトコンドリア呼吸鎖異常症などが、Reye 症候群と誤って診断されていたわけである。

筆者が1995年ころに作成したReye 症候群の周辺に存在する各種疾患の関係を図に示したものである。今からみてもこの図は、よくできているのではと筆者は思っている。歴史的なことをいえば尿素サイクル異常症から左回りに、それぞれの疾患の研究が順次進んできた経緯がある。

### 1. 尿素サイクル異常症

この疾患は高アンモニア血症、意識障害、けいれんなどを起こし、無黄疸性の肝不全となるのでReye 症候群として診断されていた症例は数多い。アミノ酸分析などで容易に診断がつくので、現在

この疾患がReye 症候群とされることはないと思われる。

### 2. 有機酸代謝異常症

この疾患は意識障害、けいれんなどが起きるので急性脳症としてReye 症候群とされることがある。ガスクロマトグラフィー質量分析機による尿有機酸分析で容易に診断がつくので、鑑別疾患として有機酸代謝異常症を上げ、有機酸分析をオーダーできれば診断を間違えることはない。

### 3. 脂肪酸代謝異常症

この疾患も急性脳症として発症するのでReye 症候群との鑑別が重要である。脂肪酸代謝異常症は肝臓に脂肪の蓄積があるが、その病理学的な特徴はReye 症候群とは異なりやや粗大である。タンデム質量分析機による血中アシルカルニチンプロファイル分析が診断に有用である。

### 4. ミトコンドリア病

最後の輪として書かれている「これから発見されるであろう疾患群」としては、最近急速な病態の解明が進んでいる、ミトコンドリア呼吸鎖異常症があげられる。ミトコンドリア病はわが国ではミトコンドリア遺伝子の病気という考えが強いが、実際はミトコンドリアの機能をつかさどっているのは核にコードされた多くのたんぱく質であり、その生化学的機能や病態の解明は驚くほどの

早さで進んでいる。ことに最近では、リポ酸や鉄・硫黄クラスター、ビタミンB<sub>2</sub>などのミトコンドリアコファクター異常症などが注目されている<sup>4)</sup>。これら最近のミトコンドリア機能の新たな解明により、新しい疾患概念がさらに次々と確立されていくものと思われる。

### 5. 各種薬剤

バルブロン酸ナトリウムが低カルニチン血症と高アンモニア血症をひき起こすことはよく知られている<sup>5)</sup>。バルブロン酸ナトリウム服用によりReye症候群がひき起こされたという報告もある<sup>6)</sup>が、先天代謝異常症の検討は十分ではない。ホパテン酸カルシウムによるReye症候群の報告もあるが、これも先天代謝異常症の検討は十分ではない<sup>7)</sup>。

## III. Reye 症候群は消えゆく病名である！

図に示されているようにReye症候群は、その周辺の各種疾患により覆い隠されつつある。問題は今後さらにミトコンドリア機能の解明が進んでいったときに、本当にReye症候群として独立した疾患特異性をもった疾患が残るかどうかである。Reye症候群というのは名前のおり症候群であり、最終的にはそれぞれのきちんとした診断名がつけられる時代が、近いうちにくるものと筆者は考えている。つまり、Reye症候群という診断名は消えていくであろうと考えている。これまで述べたように、かつてReye症候群とよばれていた病態の解明は進んでいるが、その治療法に関しては決して十分ではなく、とくにミトコンドリア病とよばれている疾患群にかんしては、有効な治療法の開発が待たれるところである。

## IV. インフルエンザ脳症も消えゆく病名か？

インフルエンザ脳症と診断された症例を精査し、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症、カルニチンパルミトイルトランスカルバミラーゼ2型やミトコンドリア呼吸鎖異常症という診断と

なった報告が散見される<sup>8,9)</sup>。

今後、さらにミトコンドリアの機能の解明が進み、新しい疾患概念が確立されてくれば、さらに多くのインフルエンザ脳症症例の発症機序として、先天性代謝異常の役割が重要視される時代が必ずくるものと考えている。

### Key Points

- ① Reye 症候群の診断においては、尿素サイクル異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、ミトコンドリア呼吸鎖異常症などを十分検討する必要がある。
- ② Reye 症候群は消えゆく病名である！問題は今後さらにミトコンドリア機能の解明が進んでいったときに、本当にReye症候群として独立した疾患特異性をもった疾患が残るかどうかである。
- ③ インフルエンザ脳症の診断においても、十分すぎるほどの先天代謝異常症の鑑別疾患が必要である。

### 文献

- 1) Reye RDK, Morgan G, Baral J, et al : Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera : A disease entity in childhood. *Lancet* **2** : 749-752, 1963
- 2) Hurtiza E, Barret MJ, Bregmen D, et al : Public healthservice study of Reye's syndrome and medications. Report of the main study. *JAMA* **257** : 1905-1911, 1987
- 3) 高柳正樹：薬物とライ症候群. *トキシコロジーフォーラム* **11** : 161-169, 1988
- 4) Lill R, Hoffmann B, Molik S, et al : The role of mitochondria in cellular iron-sulfur protein biogenesis and iron metabolism. *Biochim Biophys Acta* **1823** : 1491-508, 2012
- 5) 松田一郎, 大谷宣伸：バルブロン酸によるライ様症候群の病態. *小児科診療* **49** : 1020-1026, 1986
- 6) 杉本健郎, 西田直樹, 安原昭博, 他：バルブロン酸投与中におこった, Reye-like syndrome の1例. *脳と発達* **14** : 437-439, 1982
- 7) 杉本健郎, 安原昭博, 西田直樹, 他：ホパテン酸カルシウム投与中におこった, 急性脳症の3例. *脳と発達* **15** : 258-259, 1983
- 8) Arakawa C, Endo A, Kohira R, et al : Liver-specific mitochondrial respiratory chain complex I deficiency in fatal influenza encephalopathy. *Brain & Development* **34** : 115-117, 2012
- 9) Purevsuren J, Hasegawa Y, Kobayashi H, et al : Urinary organic metabolite screening of children with influenza-associated encephalopathy for inborn errors of metabolism using GC/MS. *Brain & Development* **30** : 520-526, 2008

〈特集：カルニチンの基礎と臨床〉

## カルニチンの臨床

高柳 正樹

### Abnormalities of carnitine metabolism in human diseases

Masaki Takayanagi

**Summary** Recently many new diseases involving abnormalities of the carnitine metabolism have been reported. It is very important for every one in the medical field to understand the role carnitine plays in such pathological conditions. I focus especially on some iatrogenic diseases. 1. Hypofrecarnitinemia in drug intake (Sodium valproate, Antibiotics containing pivoxil). 2. Hypofrecarnitinemia in formulas for special medical purposes, enteral nutrient intake, and total parenteral nutrition therapy.

**Key words:** Carnitine, Iatrogenic diseases, Formula for special medical purposes, Sodium valproate, Antibiotics containing pivoxil

#### I. はじめに

カルニチンは古くから知られているビタミン関連物質だが、最近、以下の3つのことから非常に注目を浴びるようになってきている。

ピボキシル基をもつ抗生物質、バルブロン酸などの抗けいれん剤の服用時の低フリーカルニチン血症、乳児用特殊医療用調製粉乳（ミルクアレルギー用乳、乳糖不耐用乳、先天代謝異常症用特殊ミルクなどを含む）、経腸栄養剤、経静脈的栄養剤使用時の低フリーカルニチン血症が医原性低カルニチン血症として注目を集めている。

最近、対象疾患を有機酸代謝異常や脂肪酸代

謝異常症などに広げた拡大新生児マススクリーニングが全国的な広がりを見せている。この新しいスクリーニングは血液濾紙中のアシルカルニチン（脂肪酸とカルニチンがエステル結合したものを）、タンデムマススペクトロメトリー（以後タンデムマスと略する）にて一斉分析する方法で行われている。

三番目は、L-カルニチン製剤の適応拡大が昨年なされた事である。これまでこの薬剤の適応はメチルマロン酸血症とプロピオン酸血症の2つのみであったが、カルニチン欠乏症の適応が追加され投与可能な疾患が大きく広がった。

本総説においては上に述べたようなカルニチンの臨床面におけるいくつかの話題について解



説する。

## II. カルニチンの栄養学的、生理学的意味

カルニチンの栄養学的、生理的な基礎的な問題については、他稿にて詳しく述べられるので参照いただきたい。ここでは臨床に重要な意味を持つ側面のみを簡単に述べる。

乳児のカルニチン合成能は成人の1/5程度とされ、必要量をほとんど合成できない。さらに乳児期は脂肪利用率が高い時期なのでカルニチンは必須の栄養素と考えられている。また、乳児や小児は全身の筋肉量が少ないので保持しているカルニチン量は成人に比してはるかに少ない。特に、各種疾患で痩せている病児においては、カルニチン貯蔵量は極めて少ないと考えられる。

カルニチンは以下の3つの理由から体内の代謝調節において重要な位置を占めるとされ、これらの生理的な機能の障害が疾病を発症させる。また、カルニチンを治療薬と用いるのもこのカルニチンの機能を期待して行われる。

1. 長鎖脂肪酸のミトコンドリアへの輸送に必須である。
2. ミトコンドリア内のCoA/acylCoAの比率を調整している。CoAとカルニチンの置換によりミトコンドリア内にフリーのCoAが生み出される。
3. 細胞毒であるアシル化合物をカルニチンエステルとして細胞内より除去し尿中へ排泄する。

## III. カルニチンの測定法

これまでカルニチンに関する臨床的な問題があまり注目されなかった理由として、生体のカルニチン動態を検討するためのカルニチンの測定法が、ラジオアイソトープを用いるなど面倒なことや、カルニチン測定が保険収載されていないことなどがあげられるであろう。ことに情報量の多いアシルカルニチンプロファイル分析は、量の多い尿中アシルカルニチンにたいして本邦においても、質量分析法のSIMS (Secondary Ion Mass Spectrometry) やFAB (Fast Atom Bombardment) などにより行われていたが非常

に煩雑であった。最近のタンデムマス (MS/MS) をはじめとする測定機器の発達と測定法の開発により、血中アシルカルニチンも容易に測定できるようになった。これによりこれまで困難であった脂肪酸酸化異常症の診断や病態の解析が飛躍的な進歩を遂げた。

現在、臨床の場において血中カルニチン測定は酵素サイクリング法でのフリー、アシルカルニチン2分画測定と、タンデムマス (MS/MS) 法によるフリー・アシルカルニチンプロファイルの一斉分析とが行われている。ラジオアイソトープによる測定法は放射性物質を使用するので現在臨床では用いられていない。尿中アシルカルニチンの分析はMS/MSによる血中アシルカルニチンの開発により、その臨床的意味を失った。

## IV. カルニチンの正常値

血中カルニチンは年齢や採血時間などにより変動がみられ、正常値として報告されている値はかなりの幅が認められる。村上らは酵素サイクリング法で測定した年齢別の正常値を報告している<sup>1)</sup>。全年齢まとめた平均値はフリー $47.8 \pm 12.9 \mu\text{mol/l}$ 、アシル $5.8 \pm 4.9 \mu\text{mol/l}$ としている。図1に私が測定した約1,000例の血中カルニチンの値のヒストグラムを示した。測定方法は酵素サイクリング法で村上らの方法と同一である。測定対象は何らかの異常があるであろうと疑った症例であるが、平均値や標準偏差などは村上の報告の値と大きくは違わない。

各種のアシルカルニチンの正常値については、タンデムマス法で測定した新生児の正常値は新生児スクリーニングに携わっている施設から報告されているが、新生児以外の各年齢についての正常値の報告は見られていない。

血中フリーカルニチン値は $20 \mu\text{mol/l}$ 以下または $80 \mu\text{mol/l}$ 以上のときは明らかに異常と考えられる。血中アシルカルニチンは $20 \mu\text{mol/l}$ 以上あれば明らかに異常である。

## V. カルニチンが異常を示す疾患、病態

カルニチンの生理的に一番重要な働きは長鎖脂肪酸をカルニチンサイクルを經由して、ミト

ミトコンドリアに引き込み脂肪酸β酸化系酵素を受け渡すことである。したがって、カルニチンサイクル異常症や脂肪酸β酸化経路の異常によりカルニチンは異常動態を示す。カルニチンは有機酸血症、脂肪酸酸化異常症やある種の薬物投与時などの特殊な病態下では、有害物質とエス

テル形成する事により一種のdetoxification作用を示すので、このときもカルニチンは異常を示すことが多い。カルニチン必要量の半分以上は食事より摂取するので極端な低栄養時、乳児用特殊医療用調製粉乳（ミルクアレルギー用乳、乳糖不耐用乳、先天代謝異常症用特殊ミルクな

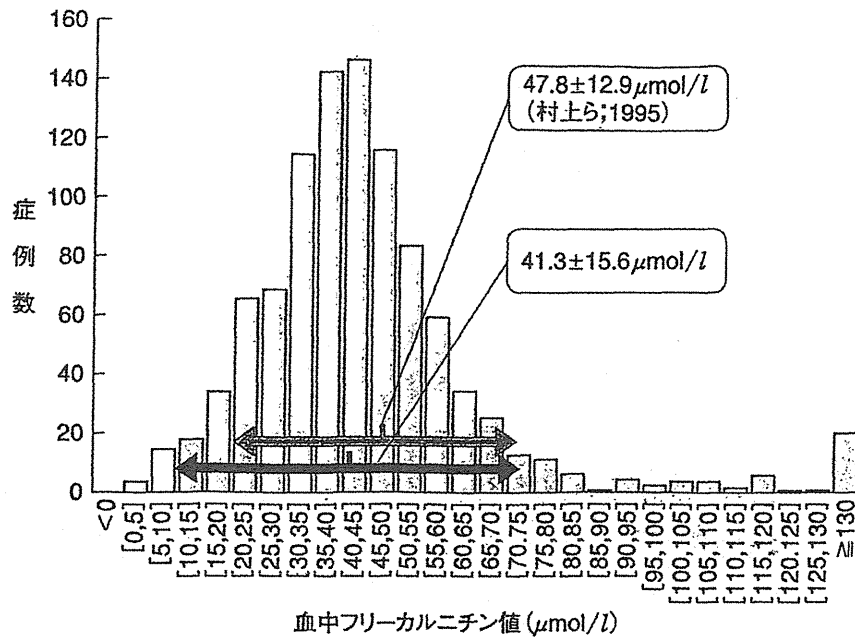


図 1-1 血中フリーカルニチン値の分布の分布

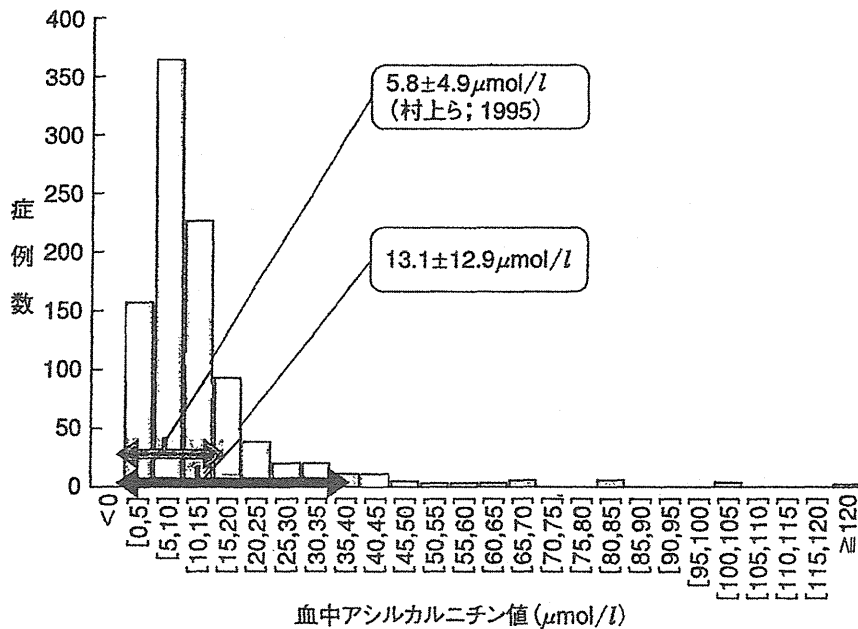


図 1-2 血中アシルカルニチン値の分布

表1 カルニチンが異常を示す疾患、病態

1、カルニチン輸送異常症(カルニチントランスポーター欠損症)
2、脂肪酸代謝異常症
①カルニチンサイクルの異常症：
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ I (CPT I)欠損症
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ II (CPT II)欠損症
カルニチントランスクラス欠損症など
②脂肪酸β酸化異常症：
極長鎖アシルCoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症
中鎖アシルCoA脱水素酵素(MCAD)欠損症など
3、有機酸代謝異常症：メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症など
4、その他の先天代謝異常：ミトコンドリア異常症、ケトン体生成の異常、 尿素サイクル異常症など
5、薬剤：安息香酸ナトリウム、バルプロ酸ナトリウム ビホキシル基をもった抗菌薬(トミロン、メイアクト、フロモックス、 オラベネムなど) ホパテン酸カルシウム(ホパテ)など
6、腎尿細管障害：Fanconi症候群など
7、栄養障害：低栄養、乳児用特殊医療用調製粉乳(ミルクアレルギー用乳、 乳糖不耐用乳、先天代謝異常症用特殊ミルクなどを含む)、経腸栄養剤、 経静脈的栄養剤使用時
8、その他：腎不全、肝不全、横紋筋融解症、多臓器不全など
*3~7は低カルニチン血症をきたし、8では高フリー・アシルカルニチン血症を きたすこともある。

どを含む)、経腸栄養剤、経静脈的栄養剤使用時などに低フリーカルニチン血症を示す。さらに、カルニチンは腎臓で排泄、再吸収されているのでファンコニ症候群などの腎尿細管障害のある時も異常を示す。また、血液透析時にはカルニチンは血中から除かれるので、血液透析患者に低フリーカルニチン血症は必発である。カルニチンは肝臓や筋肉に多く含まれているので肝不全など肝細胞が広汎かつ重篤に障害を受けた場合や横紋筋融解症ではフリー、アシルとも異常値を示す。

表1にカルニチンが重要な働きをしている臨床的に良く知られている疾患や病態を示した。表2に実際の血中カルニチン測定値も示す。このように血中カルニチン2分画を測定するだけで、いろいろな疾患の診断や病態把握に多くの情報が得られる。しかし、タンデムマスによりアシルカルニチンプロファイル分析をすることにより、疾患によっては診断が確定できることもありうる。現在、カルニチンが関与している各種疾患、病態の診断や病態評価においてタンデムマス分析は必須のものと考えられる。

図2に血中カルニチン測定を軸としたこれまで述べた各種疾患の鑑別の流れを示した。

表2 カルニチンが異常を示す疾患、病態における血中カルニチン値(μmol/l)

	フリー	アシル
カルニチントランスポーター欠損症	3.7	0.9
カルニチンサイクル異常症		
CPT 1欠損症	190.1	126.6
	104.1	66.1
	53.5	16.5
	112.9	17.2
CPT 2欠損症 全身型	9.7	6.5
全身型	19.2	36.6
全身型	9.8	3.2
筋型	52.3	6.4
筋型	33.9	6.3
脂肪酸β酸化異常症		
中鎖脂肪酸脱水素酵素欠乏症	16.2	17.7
有機酸血症		
メチルマロン酸血症	7.0	23.6
3hydroxy-3-methylglutaric acid urea	10.8	13.8
薬物服用		
安息香酸ナトリウム	20.0	5.8
バルプロ酸ナトリウム	17.5	8.1
腎尿細管障害		
Fanconi症候群	30.9	7.6
	15.9	18.7
	6.8	10.4
栄養障害		
経腸栄養(経腸栄養剤、特殊ミルク)	17.1	4.0
	7.8	1.6
	10.0	5.0
	16.9	7.8
肝不全症例		
	195.0	62.4
	171.9	36.9
	163.2	30.4

VI. 長鎖脂肪酸のミトコンドリアへの移送障害  
(カルニチンサイクル異常症：トランスポーター  
欠損症、CPT 1 酵素欠損症、CPT 2 酵素欠損症、  
CACT欠損症)

長鎖脂肪酸がエネルギーとして利用されるためには、ミトコンドリア内に輸送されることが必須である。カルニチンはこの長鎖脂肪酸はミトコンドリアへの輸送に深く関わっている。この機構については基礎編にて解説されていると

思われるので割愛する。この機構に関係する酵素は、Carnitine transporter (OCTN2)、Acy-CoA synthetase、Carnitine palmitoyltransferase1 (CPT1) Carnitine acylcarnitine translocase (CACT) Carnitine palmitoyltransferase2 (CPT2) である。Acy-CoA synthetase以外のそれぞれの酵素の遺伝子異常による先天性の酵素欠損症が知られている。ことにCarnitine transporter (OCTN2) は原発性全身性カルニチン欠損症の責任遺伝子としての同定と、症例の遺伝子変異解析が根津ら

表3 ミトコンドリア脂肪酸代謝異常症の主な臨床症状・所見

1. 全身のエネルギー産生障害に起因する症状・所見
1) 低ケトン性低血糖症 (飢餓や感染に伴うことが多い)
2) ライ様症候群、乳幼児突然死症候群
2. 各臓器の脂肪酸参加障害に起因する症状・所見
1) 筋緊張低下、筋力低下、労作時の筋痛、ミオグロビン尿症、横紋筋融解症 (筋型の場合はこれらの症状だけが出現する)
2) 肥大、心内膜弾性症
3) 肝腫大
4) 各臓器の脂肪変性
3. 一般検査の異常所見
1) 代謝性アシドーシス
2) 高アンモニア血症
3) CK, GOT, GPTの異常

ミトコンドリア脂肪酸酸化異常症の主な臨床症状・所見  
山本重則, 阿部博紀, 金澤正樹 他  
ミトコンドリア脂肪酸酸化異常症その臨床像の特徴と診断の進め方.  
小児科, 36: 1293-1299, 1995より引用

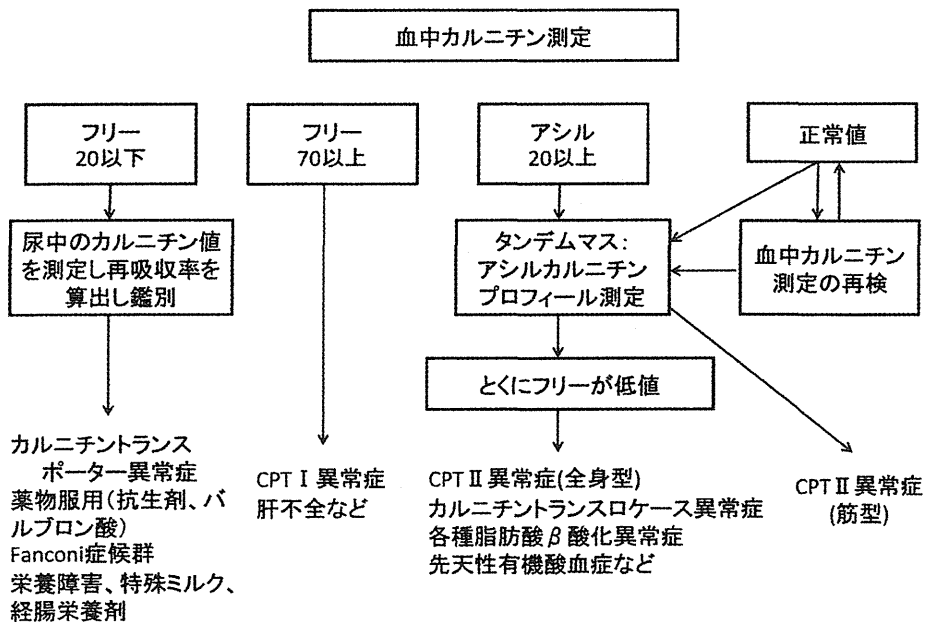


図2 血中カルニチン値における診断の流れ  
高柳正樹：カルニチン代謝異常症：小児内科、41増刊号：p388、2009. より引用

日本人により初めて行われた<sup>2)</sup>。CPT2欠損症は日本人脂肪酸酸化異常症の中で、極長鎖アシルCoA水酸化酵素欠損症と並んで症例数の多い疾患である。これらの酵素欠損より長鎖脂肪酸はミトコンドリア内の $\beta$ 酸化経路に供給されなくなり、脂肪酸 $\beta$ 酸化経路が担っているエネルギー産生が著しく障害される。ことにエネルギーを大量に消費する臓器、筋肉、心筋、脳に重大な症状が出現する。エネルギー枯渇が起きることからブドウ糖の過剰な利用が起き、糖新生系などで十分に補えなければ低血糖が生じる。症状・所見としてはライ様症候群、心筋症、横紋筋融解症などの筋症状、低ケトン性低血糖、エネルギークライシスなどがキーワードである。脂肪酸の $\beta$ 酸化障害による臨床症状・所見のまとめを表3に示す。

著者らがCPT1欠損症、CPT2欠損症の本邦の症例のまとめを報告している<sup>3,4)</sup>ので是非参照ください。

**VII. 先天性脂肪酸 $\beta$ 酸化異常症、先天性有機酸代謝異常症、さらに拡大新生児マススクリーニング**

先天性脂肪酸 $\beta$ 酸化異常症、先天性有機酸代謝異常症においては、各種疾患特異的に体内に中間代謝産物が蓄積する。たとえばプロピオン酸血症ではPropionyl CoA、中鎖脂肪酸アシルCoA脱水素酵素欠損症(MCAD)ではOctanoyl CoAを中心としたアシルCoAである。この蓄積した中間代謝産物はカルニチンとエステル結合してそれぞれPropionylcarnitine、Octanoylcarnitineを生じる。生体はこれら有害な中間代謝産物をカルニチンエステル化より細胞より引き抜き、尿中へ排泄させようとしている。つまりカルニチンはdetoxicationの役割を行っているのである。さらにこの血中に異常に蓄積したアシルカルニチンをタンデムマスにより検出することにより、これまで診断が難しかったこれら先天性 $\beta$ 酸化異常症、先天性有機酸代謝異常症の診断が簡便に安価に行えるようになった。診断の一例としてMCAD症例のタンデムマス分析のマススペクトラムを図3に図示する。C8と書かれているピークが炭素数8の脂肪酸のアシルカルニチンすなわちOctanoylcarnitineである。

この分析法を新生児マススクリーニングに応用し、先天性の有機酸代謝異常症や脂肪酸代謝異常症の早期診断そして早期治療をおこない、

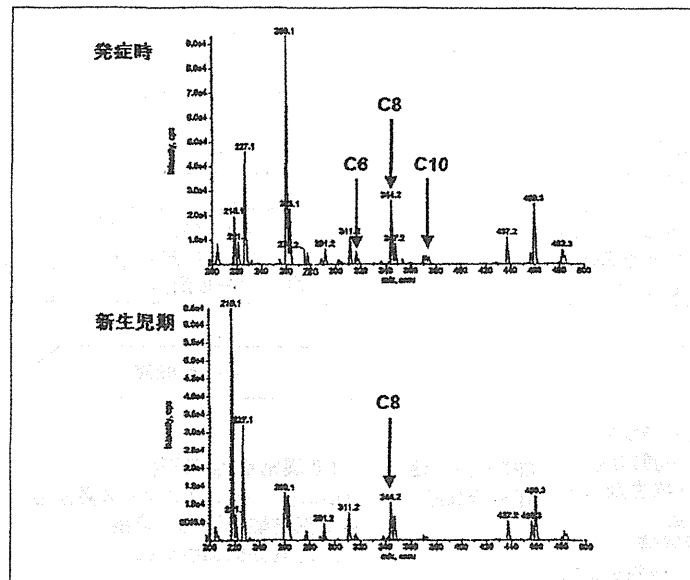


図3 中鎖脂肪酸アシルCoA脱水素酵素(MCAD)欠損症  
 小林真之、熊谷雄介、藤本雅之 他ら：SISD様症状を呈したが、早期発見により後遺症なく救命可能であった中鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症(MCAD)の1例。特殊ミルク情報, 45: 7-9, 2009.より引用

重篤な障害の予防を目指す事業が拡大新生児マススクリーニングである。表4に千葉県で行っている拡大新生児マススクリーニングの対象疾患を示す。もちろん従来から行われている6疾患については継続して行っている。

バルブロン酸ナトリウム投与による低フリーカルニチン血症に惹起される高アンモニア血症の問題も、1986年にMatsudaら<sup>9)</sup>が報告して以来の古くて新しい問題になっている。バルブロン酸ナトリウムはフリーカルニチンと結合してvalproylcarnitineとなり尿中へ排泄される。このためカルニチンの低下による脂肪酸のβ酸化障害が生じ、さらにエネルギー枯渇状態となりミトコンドリア機能が障害される。このミトコンドリア障害により高アンモニア血症が惹起され

Ⅷ. 薬物服用による低カルニチン血症

1) バルブロン酸ナトリウムと低フリーカルニチン血症

表4 千葉県における拡大新生児マススクリーニング対象疾患  
下線疾患は第2次候補（今後の実施を検討している疾患）である。

[有機酸代謝異常症]	
(1) メチルマロン酸血症	(約8万人に1人)
(2) プロピオン酸血症	(約3万人に1人)
(3) βケトチオラーゼ欠損症	(非常に稀な疾患)
(4) イン吉草酸血症	(約100万人に1人)
(5) メチルクロトニルグリシン尿症	(非常に稀な疾患)
(6) ヒドロキシメチルグルタル酸血症	(非常に稀な疾患)
(7) マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	(約20万人に1人)
(8) グルタル酸血症1型	(約8万人に1人)
[脂肪酸代謝異常症]	
(9) 中鎖アシルCoA脱水素酵素(MCAD)欠損症	(約8万人に1人)
(10) 極長鎖アシルCoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症	(約20万人に1人)
(11) 三頭酵素(TFP)欠損症/長鎖3-ヒドロキシアシルCoA脱水素酵素(LCHAD)欠損症	(非常に稀な疾患)
(12) 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	(約20万人に1人)
(13) 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	(約20万人に1人)
(14) カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症	(非常に稀な疾患)
(15) 全身性カルニチン欠乏症(カルニチントランスポーター異常症)	(約4万人に1人)
(16) グルタル酸血症2型	(約10万人に1人)
[尿素サイクル異常症]	
(17) シトルリン血症I型(アルギニノコハク酸合成酵素欠損症)	(非常に稀な疾患)
(18) アルギニノコハク酸尿症(アルギニノコハク酸リアーゼ欠損症)	(約20万人に1人)

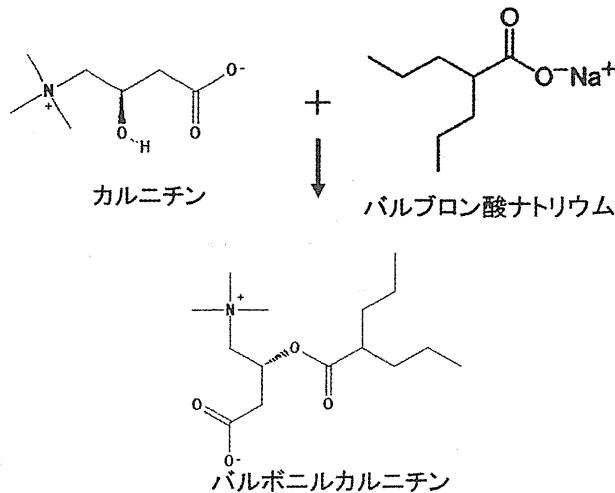


図4 バルブロン酸ナトリウムとカルニチン

る。図4にvalpronylcarnitine生成を図示する。しかしHiroseら<sup>8)</sup>は健康な小児にバルブロン酸ナトリウムを投与しても低フリーカルニチン血症は引き起こされないと報告している。おそらくバルブロン酸ナトリウムが投与される患者は①抗けいれん剤多剤療法、②栄養不良(特殊ミルク、経腸栄養剤投与なども含む)、③抗生剤療法併用、④ファンコニー症候群などの併発症、⑤腎障害などの他の低カルニチン血症の危険因子を有することが多く、バルブロン酸ナトリウムを投与により低フリーカルニチン状態が増悪するのではと考えられている。

2) ピボキシル基を持つ抗生物質と低カルニチン血症

2012年4月25日医薬品医療機器総合機構(PMDA)によりピボキシル基を含有する抗生物質による低カルニチン血症による低血糖症状や痙攣(けいれん)を呈したなど38件の副作用が報告された<sup>7)</sup>。これに基づき各製薬会社がこれらピボキシル基を有する抗菌薬の使用上の注意事項を変更し医療機関に連絡を行っている。

セフトレムピボキシル、セフカペンピボキシル、セフテラムピボキシル、テビペネムピボキシル、ピブメシリナム塩酸塩などのピボキシル系抗生剤は、腸管吸収を良くするためのピボキシル基を有している。ピボキシル基は体内でピバリン酸になって、カルニチンと結合してピバロイルカルニチンとして尿中に排泄されるため、血清中のフリーカルニチン濃度が低下する。エネルギー枯渇のためブドウ糖の過剰な利用が

起き、糖新生系などで十分に補えなければ低血糖が生じる。このような抗生剤を長期投与され、低血糖などの症状を呈した患者さんがこれまで多く報告されている<sup>8),9)</sup>。この低カルニチン血症を呈する病態はカルニチントランスポーター欠損症と区別が難しいことがあるので、慎重に診断を行うことが必要である。抗生剤をやめて低カルニチン血症が改善すれば抗菌剤の投与によるものと判定しやすいが、Nakajimaらの報告<sup>10)</sup>によればピボキシル基を持つ抗生物質投与による低カルニチン血症は、正常値に復するのに3カ月以上かかるとされる。図5にピボキシル基を有する抗生剤とピバリン酸を図示する。

Ⅷ. 乳児用特殊医療用調製粉乳(ミルクアレルギー用乳、乳糖不耐用乳、先天代謝異常症用特殊ミルクなどを含む)、経腸栄養剤、経静脈的栄養製剤使用時の低カルニチン血症

近年、乳児用特殊医療用調製粉乳(ミルクアレルギー用乳、乳糖不耐用乳、先天代謝異常症用特殊ミルクなどを含む)や経腸栄養剤において、カルニチンやビオチンなどのビタミン関連物質やセレンや亜鉛、ヨウ素などの微量元素の含有量の不足が問題になっている。児玉らはこれらの含有量をCodexが推奨している含有量と比較して、一覧表として報告している<sup>11)</sup>。報告された一覧表を表5に示す。

また、児玉らはこれらの栄養下におけるカルニチンを含めたこれら必須栄養素の欠乏について、詳細な報告をしている<sup>12)</sup>。

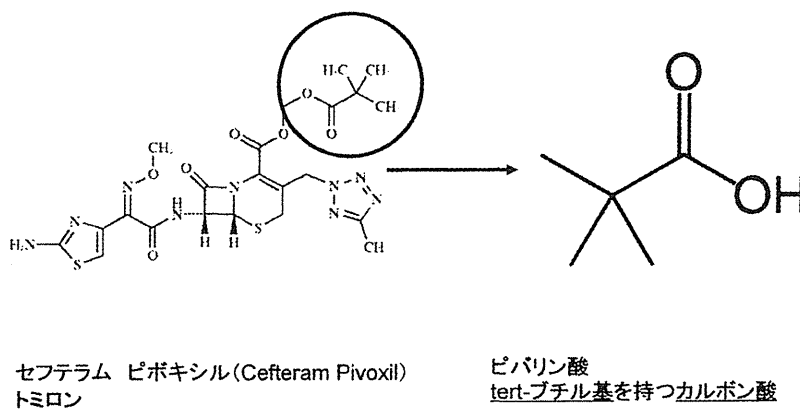


図5 ピボキシル基抗生剤とピバリン酸

小澤の報告によれば<sup>13)</sup>乳児用特殊医療用調製粉乳中にはその製造法の問題から、ビオチン、カルニチン、亜鉛、セレン、ヨウ素などの含有量が十分ではないとされている。測定したすべての特殊ミルク中には、一般乳に比べて1/4から1/3のカルニチンの含有量であったと報告している。アミノ酸乳（明治エレメンタルフォーミュラなど）は全くカルニチンが含まれず、長期に単独で使用すればカルニチン欠乏は必発である。

エンジュアリキッド、エレンタール、エレンタールPをはじめ日本で使用されている多くの経腸栄養剤・濃厚栄養剤中にはカルニチンは全く含有されておらず、低カルニチン血症の発症を見た症例の報告がある。TPN（経静脈的栄養）製剤にはカルニチンの添加がなされておらず、長期に使用したときには低フリーカルニチン血症となることが知られている。欧米ではTPN施行症例における肝障害および脂肪製剤使用時にはカルニチンの測定と補充が推奨されている。

しかし本邦ではあまり注意がはられていない。田附らは12症例の中心静脈栄養施行症例を検討し、特に経口、経腸栄養の導入に難渋している症例では、カルニチンの低下が著明であると報告している<sup>14)</sup>。医中誌Webにてこれまで報告されている乳児用特殊医療用調製粉乳、経腸栄養剤、経静脈的栄養剤投与時のカルニチン欠乏症の国内の報告例を収集し表6に示した<sup>15)</sup>。

大浦は先天代謝異常症用特殊ミルクについて、含有されるビオチンとカルニチンの量を報告している<sup>16)</sup>。この調査でも多くの特殊ミルクのビオチンとカルニチンの含有量は推奨値を満たしていない。また大浦は先天代謝異常症用特殊ミルクは母乳などの自然タンパク摂取と併用して投与されることが基本であるので、これらビタミン関連物質や微量元素の欠乏は起きにくいであろうと述べている。先天代謝異常症用特殊ミルクの使用は、ビタミン関連物質、微量元素欠乏に陥る一つのリスクファクターであるということをも十分認識しておくことは重要と考えら

表5 乳児特殊医療用調製粉乳および経腸栄養剤中の各種栄養素含有量表示値または分析値例( /100 kcal)

	ビオチン(μg)	カルニチン(mg)	セレン(μg)	ヨウ素(μg)
CODEX推奨量	1.5~10	1.2以上	1~9	10~60
通常の乳児用調製粉乳	0.5~10	1.6~4.0	5~12	5~12
主な特殊ミルク				
エレメンタルフォーミュラ	0.1以下	ND	ND	ND
ニューMAI	0.1以下	1.5	ND	ND
ペプディエット	0.1以下	NT	NT	NT
ラクトレス	0.1	ND	ND	ND
ノンラクト	0.1以下	0.68	ND	ND
ケトンフォーミュラ(817-B)	0.1	NT	NT	NT
必須脂肪酸強化MCTフォーミュラ(721)	0.6	NT	NT	NT
糖原病用フォーミュラ	ND~1.8	NT	NT	NT
高NH <sub>4</sub> 血症・シトルリン血症フォーミュラ(7925-A)	ND	NT	NT	9
蛋白除去粉乳(S-23)	未添加 <sup>1)</sup>	未添加 <sup>1)</sup>	未添加 <sup>1)</sup>	6.6 <sup>2)</sup>
イソロイシン・バリン・メチオニン・スレオニン・グリシン除去ミルク(S-22)	未添加 <sup>1)</sup>	未添加 <sup>1)</sup>	未添加 <sup>1)</sup>	10.6 <sup>2)</sup>
主な経腸栄養剤・濃厚流動食				
エンジュアリキッド	15.2	ND	ND	ND
エレンタール	13.1	ND	ND	6.5 <sup>3)</sup>
エレンタールP	21.0	ND	ND	10.6 <sup>3)</sup>
ラコール	3.68	ND	2.5	ND
MA-8	0.1	ND	1	2
MA-8プラス	5	ND	3	13
テルミールミニ	5.5	ND	5.0	29.0
CZ-Hi	5	ND	4	15

1) 分析値ナシ、配合上含有しないと考えられる。2) 添加しているヨウ素化カリウムから計算。

3) KI: ヨウ化カリウムとしてND、検出感度以下; NT、測定未実施

大森啓充ら: 日臨誌: 33: 2011, Shiga K et al: Pediatr Internal 53: 501, 2011: 各メーカーからの資料より

(文責: 児玉 浩子)



れる。欧米ではカルニチンの補充が乳児用特殊医療用調製粉乳に認められている。今後欧米と同じ基準となるように各方面からの働きかけが必要であると考えられる。

X. 代謝障害時にはカルニチンを中心に細胞内では何が起きているのか？

先天性の有機酸代謝異常症や脂肪酸代謝異常症、さらには各種の臓器障害において生体にはいろいろな中間代謝産物が蓄積する。この生体に有害な中間代謝産物へのdetoxification作用によりフリーカルニチンが消費され、低カルニチン血症が生じる。この低カルニチン血症の一つには長鎖脂肪酸のミトコンドリアへの取り込みを障害し、エネルギークライシスを惹起する。二つ目には各種中間代謝産物に結合しているCoenzyme Aをカルニチンと置き換えてCoenzyme Aをレスキューすることができなくなる。つまり生体内で利用できるCoenzyme Aが不足してい

る状態になる。これをCoenzyme A Sequestrationと呼び、この状態が有機酸代謝異常症や脂肪酸代謝異常症における症状発現に大きな役割を果たしている可能性がある<sup>16)</sup>。もちろんフリーのカルニチンがなければDetoxificationは行われなくなり、有毒な中間代謝産物は細胞内に蓄積し続けることになる。これらの細胞内の異常状態はミトコンドリアの機能障害を起こして、ミトコンドリアに局在している呼吸鎖によるエネルギー産生、尿素サイクルなどの機能低下を生じることになる。

これまで述べてきた医原性の低フリーカルニチン血症においても、脂肪酸β酸化の障害を端緒に芋づる式に悪循環が起きて、最終的には重篤な障害を残すような病態が生じることが考えられる。

XI. 欠乏症の対応、予防

カルニチンが重要な役割を示す疾患における

表6 乳児特殊医療用調製粉乳、経腸栄養剤、TPNによる、低カルニチン血症

症例番号	報告年齢	性別	症状	検査所見	栄養剤	試用期間	報告者名
1	3か月	男	多呼吸	free carnitine 0 μmol/l	明治605Z	3か月	高柳正樹
2	3歳	男	嘔吐、低血糖	free carnitine測定感度以下	エレンタールP	1年2か月	中島浩司他
3	11か月	女	臨床症状なし	free carnitine 8.7 μmol/l	エレンタールP	11か月	高柳正樹
4	2歳	男	拡張型心筋症	-	経管栄養剤	-	米田 哲
5	2か月		拡張型心筋症、低血糖	free carnitine 10.0 μmol/l	TPN 約	20日	豊島勝昭
6	3か月	男	肝機能障害、高CK血症	free carnitine 13.8 μmol/l	MCTミルク	2か月	後藤敦子
7	78歳	女	高脂血症	free carnitine 22 μmol/l	エンシュアリキッド	2年6か月	田中慎一郎
8	5か月	女	低血糖、腸管拡張	-	TPN	5ヶ月半	大橋祐介
9	8か月	男	肝機能障害	free carnitine 19 μmol/l	TPN	8か月	田附裕子
10	12症例		多数症例解析		TPN		田附裕子

表7 カルニチントランスポーター欠損症およびピボキシル基抗生剤投与による低フリーカルニチン血症

症例	発症年齢	症状	抗生剤	投与期間	血中FC値	その他
1	1歳	意識障害、低血糖	セフジトレンピボキシル (メイアクト)	16日	9.8 μmol/L	
2	1歳11か月	嘔吐、痙攣、低血糖	テビベネムピボキシル (オラベネム)	8ヶ月	低値	高アンモニア血症(186 μg/dl)
3	2歳	痙攣、低血糖	CDTR-PI、CFTR-PI (メイアクト、フロモックス)	8ヶ月	低値	高アンモニア血症(400 μg/dl以上)

FC=free carnitine

カルニチントランスポーター欠損症

症例番号	報告年齢	性別	症状	検査所見
1	1歳6か月	女	痙攣、低血糖	free carnitine 7.1 μmol/l
2	3歳	男	腹痛、傾眠	free carnitine 3.7 μmol/l

治療法を概説する。症状、病態を作り出しているのは主に低フリーカルニチン血症であり、補正すべきは低フリーカルニチン血症である。現在カルニチンの補充療法については先天性有機酸異常症の一部以外ではカルニチンの補充療法についてはしっかりしたエビデンスに基づいた治療基準はない。血中のカルニチンがどのくらいに低下すれば脂肪酸代謝に影響が出るのかについてもきちんとした報告はない。山本らは特殊ミルクを飲んでいる乳児における検討で血中カルニチンが $26.9 \mu\text{mol/l}$ では脂肪酸酸化能に大きな問題のないことを報告している<sup>1)</sup>。表7に自験例カルニチントランスポーター欠損症2例とピボキシル基抗生剤による低フリーカルニチン血症3例のまとめを示した。表6と合わせてみると、ほとんどの症例がフリーカルニチンが $20 \mu\text{mol/l}$ 以下で発症している。私はフリーカルニチン $20 \mu\text{mol/l}$ 以下がカルニチン補充の適応と考えている。

カルニチンの経口投与によるLD50は $19.2 \text{g/kg}$ ときわめて高い。副作用としては嘔気、嘔吐、体臭、胃炎、痙攣などがあるが安全性は高い薬剤である。

私はバルブロン酸ナトリウム投与時で高アンモニア血症があれば当然だが、高アンモニア血症は認められないときでも $20 \mu\text{mol/l}$ 以下の低カルニチン血症の時には、基本的にはカルニチン投与を行うこととしている。ことに患者さんに低栄養、経管栄養、腎障害など他にカルニチン低下のファクターがあるときには投与が勧められる。バルブロン酸ナトリウム投与症例で普通の食事を摂取しているならば $10 \text{mg/kg/day}$ 程度でも良いと考える。

ピボキシル基含有抗生剤投与時のカルニチン投与の適応については現在のところ明確な指針はない。ピボキシル基を含有しない抗生剤への変更は良い選択である。ピボキシル基含有抗生剤を長期に使用せざるを得ないときには血中フリーカルニチンを測定して、低値ならばカルニチンの補充を行うべきである。低カルニチン血症を呈する投与期間としては1週間以内という短期のものも報告されているので<sup>2)</sup>、すべての投与患者の臨床症状に十分注意を払うべきである。ことにバルブロン酸ナトリウム投与症例、ミルクアレルギー用ミルク投与症例、低栄養の症例、

筋肉量の少ない症例へのこれら抗生物質の投与にはさらに十分な注意が必要である。

全くカルニチンが含まれていない乳児用特殊医療用調製粉乳、経腸栄養剤を単独で長期に使用するときには、最初から同時にカルニチンを投与しておき、低カルニチン血症の発症を防ぐ事が望まれる。特にバルブロン酸ナトリウム投与症例、ピボキシル基含有抗生剤の同時投与症例はカルニチン投与を考慮すべきである。この時には欠乏状態を補充するだけなので $20\text{-}30 \text{mg/kg/day}$ で十分である。この時にはビオチンの欠乏も起こりうるのでビオチンの補充も必須の対応である。エレンタール、エレンタールPは非常に多くの症例で単独で長期に使われているので十分な注意が必要である。長期に渡らないときでも低カルニチン血症発症の可能性があるので、各種ミトコンドリア脂肪酸酸化異常症の症状が認められた時には、血中カルニチンの検索と適切な治療が必要である。

中心静脈栄養施行患者では長期にわたるときにはカルニチンの補充は必須事項である。短期であっても肝障害発症時および脂肪製剤使用時にはカルニチンの測定と補充を行うべきである。

カルニチントランスポーター欠損症では $100\text{-}200 \text{mg/kg/day}$ 以上が必要であり、有機酸血症などでは $50\text{-}100(200) \text{mg/kg/day}$ が必要である。

## XII. まとめ

近年カルニチンに関する話題が、多く医療の現場で取り上げられるようになってきた。まだまだ一般医療者に十分なカルニチンの知識が広まっているとは考えられない。今後も不適切な薬剤投与や乳児用特殊医療用調製粉乳（ミルクアレルギー用乳、乳糖不耐用乳、先天代謝異常症用特殊ミルクなどを含む）、経腸栄養剤、経静脈的栄養製剤使用に対する知識不足から、多くの患者が危険にさらされることが予想される。

先天性のカルニチンに関連する代謝疾患はもとより、これら医原性の低カルニチン血症に関する情報を多くの医療者が共有していくような運動がさらに必要であると考えられる。

## 文献

- 1) 村上貴考, 杉本健郎, 西田直樹 他: カルニチン測定

- キットによる血清、尿カルニチン血の検討. 小児内科, 41増刊号: 387-389, 1995.
- 2) Nezu J, Tamai I, Oku A, et al.: Primary systemic carnitine deficiency is caused by mutations in a gene encoding sodium ion-dependent carnitine transporter. *Nat Genet*, 21: 91-4, 1999.
  - 3) 藤浪綾子, 高柳正樹, 山本重則 他: 本邦における Carnitine palmitoyltransferase I (CPT I)欠損症の臨床像について. *小児科臨床*, 60: 2115-2120, 2007.
  - 4) 高柳正樹, 山本重則, 小川恵美 他: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼII酵素欠損症17家系20症例の臨床像について. *日本マス・スクリーニング学会誌*, 18: 43-49, 2008.
  - 5) Matsuda I, Ohtani Y, Ninomiya N: Renal handling of carnitine in children with carnitine deficiency and hyperammonemia associated with valproate therapy. *J Pediatr*, 109: 131-4, 1986.
  - 6) Hirose S, Mitsudome A, Yasumoto S et al.: Valproate therapy does not deplete carnitine levels in otherwise healthy children. *Pediatrics*, 101:E9, 1998.
  - 7) 医薬品医療機器総合機構: ピボキシル基を有する抗菌薬による小児等の重篤な低カルニチン血症と低血糖について. <http://www.info.pmda.go.jp/iyuki-info./fole/tekisei-pmda-08.pdf>
  - 8) 魚住加奈子, 制野勇介, 竹下佳弘 他: ピボキシル基含有抗生物質の長期投与により低血糖を繰り返した1例. *日本小児救急医学会雑誌*, 10: 265, 2011.
  - 9) 浜平陽史: テビペネムピボキシルの長期内服による二次性カルニチン欠乏症の1例. *日本小児救急医学会雑誌*, 10: 264, 2011.
  - 10) Nakajima Y, Ito T, Maeda Y et al.: Detection of pivaloylcarnitine in pediatric patients with hypocarnitinemia after long-term administration of pivalate-containing antibiotics. *Tohoku J Exp Med*, 221: 309-13, 2010.
  - 11) 日本小児科学会栄養委員会: 注意喚起: 特殊ミルク・経腸栄養剤等の使用中に起きるビタミン、微量元素の欠乏に注意を! *日本小児科学会誌*, 116: 巻頭ページ, 2012.
  - 12) 児玉浩子, 清水俊明, 瀧谷公隆 他: 特殊ミルク、経腸栄養剤使用時のビットフォール. *日本小児科学会誌*, 116: 637-653, 2012.
  - 13) 小澤和裕: おっと危ないここが落とし穴 小児適用ミルクの微量栄養素の問題. *日本小児栄養消化器肝臓学会雑誌*, 19: 50-56, 2005.
  - 14) 田附裕子, 曹 英樹, 上野豪久 他: 中心静脈栄養施行患者におけるカルニチン補充の必要性の検討. *静脈経腸栄養*, 25: 210, 2010.
  - 15) 大浦敏博: 先天代謝異常症用特殊ミルクの問題点. 乳児用特殊ミルク等の栄養素含有適正化に関するワークショップ 日本小児科学会栄養委員会, [http://www.jpeds.or.jp/saisin/saisin\\_120509.pdf](http://www.jpeds.or.jp/saisin/saisin_120509.pdf) 2011
  - 16) Mitchell A et al: Coenzyme A sequestration, toxicity or redistribution (CASTOR): a unifying mechanism in inborn errors of metabolism. *日本先天代謝異常学会雑誌*, 25: 47, 2009.
  - 17) 山本重則, 高柳正樹, 大竹 明: 治療用特殊ミルク使用中の乳児のカルニチン欠乏について一血しょう遊離カルニチン値測定および中性脂肪からのケトン体産成能による検討一. *日本小児科学会雑誌*, 89: 2488-2494, 1985.

# カルニチン欠乏症および 2次性カルニチン欠乏症

たかやなぎ まさき  
 高柳 正樹\*

## 要旨

最近医原性のカルニチン欠乏症が多く報告されるようになってきており、小児医療における重要な問題として認識されてきている。医原性カルニチン欠乏症は、①バルブロン酸ナトリウム投与時、②ピボキシル基をもつ抗生物質投与時、③乳児用特殊医療用調製粉乳（ミルクアレルギー用乳、乳糖不耐用乳、先天代謝異常症用特殊ミルクなどを含む）、経腸栄養剤、経静脈的栄養剤使用時に発生をみている。症状としては低血糖、けいれん、高アンモニア血症、Reye様症候群、心筋症、横紋筋融解症などが知られている。治療としてフリーカルニチン 20  $\mu\text{mol/L}$  以下がカルニチン補充の適応と考えている。カルニチン欠乏のリスクのある患者に対しては十分な注意を払うことが必要である。

## はじめに

最近医原性のカルニチン欠乏症が多く報告されるようになってきており、小児医療における重要な問題として認識されてきている。

2011年の第25回日本小児救急学会において3例の抗生物質投与によるカルニチン欠乏症により低血糖を示した症例が報告された。医薬品医療機器総合機構（PMDA）も最近ピボキシル基を含有する抗生物質によるカルニチン欠乏症により低血糖症状やけいれんを呈したなど38件の副作用を報告した。また近年、乳児用特殊医療用調製粉乳（ミルクアレルギー用乳、乳糖不耐用乳、先天代謝異常症用特殊ミルクなどを含む）や経腸栄養剤において、カルニチンやピオチンなどのビタミン関連物質やセレン、亜鉛、ヨウ素などの微量元素の含有量の不足も問題になっている。さらにバルブロン酸ナトリウム投

与によるカルニチン欠乏症に惹起される高アンモニア血症の問題も、1986年に松田らが報告して以来の古くて新しい問題になっている。

今回はカルニチン欠乏症に焦点をあて、医原性2次性カルニチン欠乏症を中心に、最近の知見も含めて概説したい。

## I カルニチンの栄養学的、生理学的意味

カルニチンは1908年に発見され当初ビタミンB<sub>T</sub>とよばれていた。カルニチンの必要量の75%は食事から摂取され、赤身の肉、乳製品、母乳などに含まれる。残りの25%は肝臓と腎臓でリジンとメチオニンから合成される。体内では主に筋肉に貯蔵されている。成人においては必要量の75%は食事からの摂取による。筋肉中に豊富に含まれていることから、肉とくに羊肉に多く含まれているとされる。乳児のカルニチン合成能は成人の1/5程度とされ、必要量をほとんど合成できない。さらに乳児期は脂肪

\* 千葉県こども病院小児救急総合診療科  
 〒266-0007 千葉県千葉市緑区辺田町 579-1