

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
研究総合報告書

代表的疾患における診断基準、診療ガイドライン案策定のための検討と先天性ケトン代謝異常  
症の診療ガイドラインと総合的な対策について

研究分担者 深尾 敏幸 岐阜大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

統一したフォーマットの診断基準、診療ガイドラインの作成のため各分野のエキスパートに研究協力者になっていただき、平成 24 年度は新生児マススクリーニング対象疾患を中心に診断基準案、25 年度は診療ガイドライン案を策定した。これらを各研究分担者にてさらに検討をいただき、学会認定の診断基準となり、またガイドラインも学会認定となる予定である。分担の診断基準、先天性ケトン体代謝異常症についても診療ガイドライン策定し、またケトン体代謝異常、脂肪酸代謝異常症の遺伝子診断の向上のための MLPA 法の応用につき検討を行った。成人期の問題についても検討を行った。

研究協力者

伊藤 哲哉（名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野）  
窪田 満（埼玉県立小児医療センター総合診療科）  
小林 弘典（島根大学医学部小児科）  
坂本 修（東北大学医学系研究科小児病態学）  
清水教一（東邦大学医療センター大橋病院小児科）  
但馬 剛（広島大学大学院医歯薬保健学研究院統合健康科学小児科学）  
長谷川（小村）有紀（島根大学医学部小児科）  
濱崎孝史（大阪市立大学医学部小児科学）  
福田冬季子（浜松医科大学小児科）  
小林正久（東京慈恵会医科大学小児科）  
堀 友博（岐阜大学医学部附属病院）  
村山 圭（千葉県こども病院代謝科）

次疾患に分類され、今回の研究班での有機酸代謝異常症の範疇にも入れることができる。そのためこれらの 2 疾患の診断基準策定は有機酸代謝異常症というくくりで今回行った、また診療ガイドラインは個別疾患として策定した。

これまで T2 欠損症、SCOT 欠損症に対しての遺伝子診断率向上のために MLPA 法を独自に作成し、解析してきているが、それを HMG-CoA リアーゼ欠損症、および脂肪酸代謝異常症のカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 2 欠損症とカルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ欠損症についても確立することを目的とした。

（倫理面への配慮）

先天性ケトン体代謝異常症および脂肪酸代謝異常症の遺伝子解析については岐阜大学医学研究等倫理委員会の承認を得て行っており、十分な倫理的に配慮して研究を進めた。

A. 研究目的と B. 研究方法

**1) 代表的疾患における診断基準案策定のための検討**

今回の研究班では研究班で先天代謝異常症において学会認定診断基準のない代表的疾患群に対して、これを検討して公表することが求められている。本分担研究では、それぞれの分野の若手エキスパートを研究協力者とし、形式を統一した診断基準案を策定し、それを各分担研究者に示し、学会認定の診断基準を統一した形式で作成する。

**2) 代表的疾患における診療ガイドライン策定のための検討**

同様にそれぞれの分野の若手エキスパートを研究協力者とし、形式を統一した診療ガイドライン案を策定し、それを各分担研究者に示し、学会認定の診療ガイドラインを統一した形式で作成する。

**3) 先天性ケトン体代謝異常症の研究**

先天性ケトン体代謝異常症は、1) ケトン体産生系の以上であるミトコンドリア HMG-CoA 合成酵素欠損症と HMG-CoA リアーゼ欠損症、および 2) ケトン体産生障害をきたすサクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ (SCOT) 欠損症と  $\beta$ -ケトチオラーゼ (T2) 欠損症に分類される。ケトン体代謝が血糖維持に重要な幼少期を適切に管理すれば、重篤な発作を防ぎ、予後は比較的良好と考えられる疾患群であり、早期診断、発作予防が重要である。このうち HMG-CoA リアーゼ欠損症はタンデムマススクリーニング疾患の 1 次疾患、 $\beta$ -ケトチオラーゼ欠損症は 2

C. 研究結果

**1) 代表的疾患における診断基準案策定のための検討**

特にタンデムマススクリーニング開始後の対象疾患であるアミノ酸代謝異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、ガラクトース血症、これに加えて糖原病、ウイルソン病について診断基準案を策定した。

**原案作成者**

アミノ酸代謝異常症（尿素サイクル異常症、ピオブテリン代謝異常、シトリン異常含む）

中村公俊、坂本修 濱崎考史

有機酸代謝異常症 高乳酸血症（ミトコンドリア病を除く）

長谷川有紀 但馬剛 村山圭、大竹明、小林正久

脂肪酸、カルニチン代謝

小林弘典 深尾敏幸 窪田満

糖原病(糖代謝) ウイルソン病

伊藤哲哉、福田冬季子 清水教一

その原案は、それぞれの疾患群の研究分担者によりさらに検討され、今回それぞれの分担者の報告する診断基準となった。

またこれらの疾患を包括する重症度分類について、重症の児が重症に分類され、軽症の児が軽症に分類されるよう、各疾患について検討を行い、いかにどのように策定した

-----

## 重症度分類

### 発症の契機

新生児マススクリーニングで異常が指摘された

1点

家族内検索で異常が指摘された

1点

### 発症の時期

新生児期に発症した

3点

乳幼児期に発症した

2点

学童期以降に発症した

1点

### 臨床経過と治療

反復して症状を呈した

1点

診断後も画像所見，検査異常がある。

1点

急性発作時に呼吸管理、血液浄化を必要としたことがある

3点

精神運動発達遅滞，神経筋症状をみとめる

2点

食事療法が必要である

2点

継続的薬物療法が必要である

2点

移植医療が必要である

3点

3点以下を軽症とする。

4点以上を重症とする。

7点以上を最重症とする

## 2) 代表的疾患における診断ガイドライン策定のための検討

タンデムマススクリーニング開始後の対象疾患であるアミノ酸代謝異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、ガラクトース血症、これに加えて糖原病、ウイルソン病について診断ガイドライン案を策定した。その過程でエビデンスレベル、推奨レベ

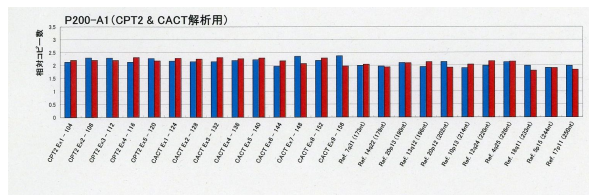
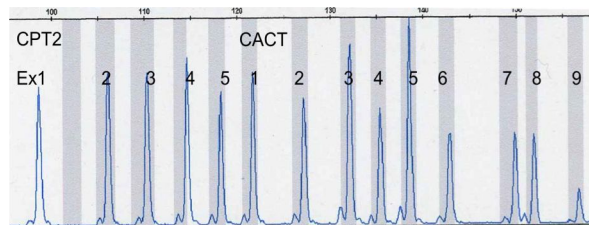
推奨度	
A	I~IIIのエビデンスに基づく推奨で行うべきもの
B	生化学的、病態的に妥当性があり、症例で効果があると報告されており行うべきもの
C	症例で効果があると報告されており、考慮すべきもの
D	生化学的、病態学的に妥当性はあるが反対意見もあるもの
E	科学的根拠や症例報告などに基づいて行ってはいけないこと

ルをどのように設定するかが大きな課題であった。MINDsを参照したが、先天性代謝異常症は1疾患毎では疾患頻度は低く、ランダム化比較試験、非ランダム化比較試験のようなエビデンスレベルの高い治療に関するエビデンス(レベル III 以上)はほとんどの疾患において報告されておらず、症例報告レベル、エキスパートオピニオンによることが多い。そのため推奨レベルを表のようにとることで、何を治療で行うべきかについて明確にすることを心がけた。表に示すように各先天代謝異常症疾患群について若手エキスパートからなるグループを設定し、その中で診療ガイドライン案を起草したのち、この過程において2泊3日の集中検討会を開き、形式の統一をはかり、メンバーの推奨度に対するコンセンサスを得て、全体討論にて問題点を改善修正し、各領域の診療ガイドライン案を作成した。

その原案は、それぞれの疾患群の研究分担者によりさらに検討され、今回それぞれの分担者の報告する診療ガイドライン案となった。先天性ケトン体代謝異常症の研究

上記診断基準案、診療ガイドライン案について、先天性ケトン体代謝異常症に属する HMG-CoA リアーゼ欠損症、ケトチオラーゼ欠損症について策定した。

遺伝子診断向上のために今回作成した MLPA 法は、CPT2 および CACT 遺伝子の各エクソンに1つずつプローブをおいた設計になっており、一部エクソンにて反応不良が認められて、プローブの再設計を行ったが、最終的には良好な MLPA 法が確立できた。また HMG-CoA リアーゼ遺伝子についても確立することが出来た。



## 先天性ケトン体代謝異常症の成人期における問題

点について検討を行った。文献的検索および研究分担者への私信により、-ケトチオラーゼ欠損症では、すくなくとも重篤なアシドーシス発作は成人期に歯報告がなく、すくなくとも4名が正常に出産しており、-ケトチオラーゼ欠損症では成人期に大きな問題はないと考えられた。

一方 HMG-CoA リアーゼ欠損症では、成人期になって心筋症を合併した例、成人期に初めて重篤な低血糖発作をきたし重篤な障害を来した例、また2例での4回に出産は、妊娠中の重篤な発作により母体死亡、胎児死亡を来しており、成人期においても重篤な管理が必要であると考えられた。

### D. 考察

タンデムマスによる新生児スクリーニングが全国で広まりつつあり、これらの対象疾患の学会認定の診断基準の策定は急務である。今回多くの若手エキスパートに研究協力者として加わってもらい、各疾患群に共通のフォーマットで診断基準案を策定することで、研究分担者による診断基準策定を容易とし、それを学会認定の基準とすることができた。診療ガイドラインの策定をについても2014年中には学会承認が得られるところまで来ている。

先天性ケトン体代謝異常症においては、-ケトチオラーゼ欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症は、タンデムマススクリーニング対象疾患であり、有機酸代謝異常症の診断基準に含むことができ、診療ガイドラインは個別に策定した。診療ガイドライン案に当たり、解決すべきクリニカルクエスチョンが抽出されている。

### E. 結論

学会認定診断基準が策定されていない主に新たな新生児マススクリーニング対象疾患に対する診断基準案を策定し、最終的に学会認定基準とすることができた。また診療ガイドラインも2014年度中には第1版が公表できるところまで来ている。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Fukao T, Maruyama S, Ohura T, Hasegawa Y, Toyoshima M, Haapalainen AM, Kuwada N, Imamura M, Yuasa I, Wierenga RK, Yamaguchi S, Kondo N. Three Japanese patients with beta- ketothiolase deficiency whoshare a mutation , c.431A>C(H144P) in ACAT1: subtle abnormality in urinary organic acid analysis and blood acylcarnitine analysis using tandem mass spectrometry. JIMD reports 3:107-115, 2012
2. Purevsuren J, Hasegawa Y, Fukuda S, Kobayashi H, Mushimoto Y, Yamada K, Takahashi T, Fukao T, Yamaguchi S. Clinical and Molecular Aspects of Japanese Children with Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency. Mol Genet Metab 107(1-2):237-40, 2012
3. Yamaguchi S, Li H, Purevsuren J, Yamada K, Furui M, Takahashi T, Mushimoto Y, Kobayashi H, Taketani T, Fukao T, Fukuda S: Bezafibrate can be a new treatment option for mitochondrial fatty acid oxidation disorder: evaluation by in vitro probe acylcarnitine assay. Mol Genet Metab 107:87-91, 2012
4. Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamada K, Takahashi T, Takayanagi M, Fukao T, Fukuda S, Yamaguchi S: Intracellular in vitro acylcarnitine cylvcarnitine assay for identifying deficiencies of carnitine transporter and carnitine palmitoyltransferase-1. Anal Bioanal Chem 405:1345-1351, 2013
5. Hori T, Fukao T, Murase K, Sakaguchi N, Harding CO, Kondo N. Molecular basis of two exon skipping (exons 12 and 13) by c.1248+5G>A in OXCT1 gene. Study on intermediates of OXCT1 transcripts in fibroblasts. Hum Mutat 34:473-480, 2013.
6. Shafqat N, Kavanagh KL, Sass JO, Christensen E, Fukao T, Lee WH, Oppermann U, Yue WW. A structural mapping of mutations causing succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) deficiency. J Inherit Metab Dis. 2013 Feb 19. [Epub ahead of print]
7. Buhaş D, Bernard G, Fukao T, Lortie A, Décarie J-C, Chouinard S, Mitchell GA. A treatable new cause of cholea:beta-ketothiolase deficiency. Movement Disorders 28:1054-1056, 2013
8. Fukao T, Aoyama Y, Murase K, Hori T, Wierenga R, Boneh A, Kondo N: Development of MLPA for Human ACAT1 Gene and Identification of a Heterozygous Alu-mediated Deletion of Exons 2 and 3 in a Patient with Mitochondrial Acetoacetyl-CoA Thiolase (T2) Deficiency. Mol Genet Metab , 110:184-187, 2013
9. Fukushima T, Kaneoka H, Yasuno T, Sasaguri Y, Tokuyasu T, Tokoro K, Fukao T, Saito T: Three novel mutations in the carnitine-acylcarnitine translocase (CACT) gene in patients with CACT

deficiency and in healthy individuals. J Hum Genet. 58(12):788-93, 2013

10. Akella RR, Aoyama Y, Mori C, Lingappa L, Cariappa R, Fukao T: Metabolic encephalopathy in beta-ketothiolase deficiency: The first report from India. Brain Dev. 2013 in press
11. Yamaguchi S, Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Mushimoto Y, Yamada K, Takahashi T, Furui M, Taketani T, Fykuda S, Fukao T, Shigematsu Y : Expanded newborn mass screening with MS/MS and medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency in Japan. J Jap Soc Mass-screening 23 (3): 270-276, 2013.
12. 深尾敏幸: 脂肪酸代謝異常症, ケトン体代謝異常症の最近の進歩. 日児誌 116:1801-1812, 2012

### 2. 学会発表

- 1) Fukao T, Sass JO, Konstantopoulou V, Marquardt T, Frauendienst-Egger G, Kondo N. An Exonic splicing enhancer mutation indentified in German beta-ketothiolase deficient patients. Annual symposium of Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. September 4-7, 2012(Birmingham, UK)
- 2) Hori T, Fukao T, Harding CO, Kondo N. Molecular basis of two exon skipping (exons 12 and 13) by c. 1248+5G>A in fibroblasts from a SCOT deficient patient. Study of splicing order in SCOT transcripts in fibroblasts from controls and the patient. Annual symposium of Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. September 4-7, 2012(Birmingham, UK)
- 3) 大倉絵梨, 長沼邦明, 中田節子, 萩元緑朗, 佐野葉子, 多田明良, 山口清次, 長谷川有紀, 小林弘典, 深尾敏幸: 新生児期に診断され, 良好な経過を示している3-ヒドロキシ3-メチルグルタル酸血症の1例. 第54回日本先天代謝異常学会総会. 岐阜, 2012年11月15日-17日
- 4) 大塚博樹, 深尾敏幸, 森本将敬, 折居建治, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次, 近藤直実: 新生児期にGA2と診断され, 生後5か月よりBEZ投与を開始した二絨毛膜二羊膜双胎例. 第54回日本先天代謝異常学会総会. 岐阜, 2012年11月15日-17日
- 5) 青山友佳, 石毛美夏, 田中 藤樹, 深尾 敏幸: HMG-CoA リアーゼ欠損症の MPLA 法の確立と1症例におけるエクソン2 - 4を含む欠失の同定. 第40回日本マススクリーニング学会 平成25年8月23~24日 大阪
- 6) 深尾敏幸: ケトン体代謝異常症と急性脳症 (シンポジウム4 代謝性疾患と神経感染症) 第18回日本神経感染症学会 平成25年10月11日-12日 宮崎
- 7) 深尾敏幸, 秋葉和壽, 桑山信希, 森田実喜子, 青山友佳, 後藤正博, Venkatesan Rajaran, Rikkert Wierenga, 臼田信光, 森山陽介, 重松陽介, 長谷川有紀, 大竹明, 村山圭, 堀友博, 長谷川行洋: 日本初のHSD10病(2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA脱水素酵素欠損症)の報告. 第58回日本人類遺伝学会 平成25年11月20日~23日 仙台
- 8) Fukao T: (Educational lecture 9) Inborn errors of ketogenesis and ketone body utilization. The 3<sup>rd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55<sup>th</sup> Annual meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic

Diseases. November 27-29, 2013 Makuhari, Japan

9) Fukao T, Akiba K, Goto M, Kuwayama N, Morita M, Hori T, Aoyama Y, Venkatesan R, Wierenga R, Hasegawa Y, Shigematsu Y, Ohtake A, Moriyama Y, Usuda N, Hasegawa Y: The first case of HSD10 disease (2-Methyl-3-Hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase deficiency) from Asia. The 3<sup>rd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55<sup>th</sup> Annual meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. November 27-29, 2013 Makuhari, Japan

10) Morimoto M, Fukao T, Otsuka H, Orii K, Tomita H, Takamatsu M, Hara A, Yamada K, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Kondo N: DD twin with neonatal-onset glutaric aciduria type 2. The 3<sup>rd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55<sup>th</sup> Annual meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. November 27-29, 2013 Makuhari, Japan

11) . Aoyama Y, Ishige M, Tanaka T, Fukao T: Development of MLPA and identification of a heterozygous alu-associated deletion including exons 2-4 in a patient with HMGCL deficiency. The 3<sup>rd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55<sup>th</sup> Annual meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. November 27-29, 2013 Makuhari, Japan

12) Hori T, Fukao T, Murase K, Sakaguchi N, Harding Cary O, Kondo N: (P-50) Molecular basis of two-exon skipping (exons 12 and 13) by c.1248+5g>a in *OXCT1* gene: Further analysis on splicing intermediates. The 3<sup>rd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55<sup>th</sup> Annual meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. November 27-29,

2013 Makuhari, Japan

13) Vu Chi Dung, Nguyen Ngoc Khanh, Bui Phuong Thao, Can Thi Bich Ngoc, Nguyen Chi Mai, Nguyen Thi Hoan, Yamada K, Takahashi T, Fukao T, Yamaguchi S: Spectrum and emergency conditions of organic acidemias Referral Center in Vietnam. The 3<sup>rd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55<sup>th</sup> Annual meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. November 27-29, 2013 Makuhari, Japan

14) 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. 12<sup>th</sup> International Congress of Inborn Errors of Metabolism. September 3-6, 2013 Barcelona

15) Nguyen KN, Chi DV, Nguyen HT, Can NBT, Bui TP, Yamaguchi S, Fukao T: (P-293) Report of 23 cases with betaketothiolase deficiency in a Vietnam center. 12<sup>th</sup> International Congress of Inborn Errors of Metabolism. September 3-6, 2013 Barcelona

16) Vu D, Nguyen K, Khu D, Bich N, Bui T, Nguyen H, Nguyen L, Fukao T, Kondo N, Yamaguchi S: Spectrum of inborn errors of metabolism in the referral center of north Vietnam. 12<sup>th</sup> International Congress of Inborn Errors of Metabolism. September 3-6, 2013 Barcelona

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他