

ンドリア心筋症、肝症など単独の臓器障害を呈するミトコンドリア病も多い。これらを加えれば最も多いエネルギー代謝系の先天代謝異常症であり、出生5,000人に1人³⁾とされる。

呼吸鎖はミトコンドリア遺伝子と核遺伝子の共同作業で生合成される(図4)。したがってミトコンドリア病は、ミトコンドリア遺伝(母系遺伝)形式以外に常染色体優性・劣性、X連鎖のすべての遺伝形式で発病しうる。特に幼小児期発症例は症状が多形で重篤な症例が多く、その9割以上は核遺伝子異常によるものである⁴⁾。①脳筋症状、②消化器・肝症状、③心筋症状が3大症状とされる。従来ミトコンドリア病の主体とされてきた、いわゆる‘ミトコンドリア脳筋症’は比較的軽症のミトコンドリア病に属し、年長発症例に多い。

3. ミトコンドリア病の酵素(生化学)診断

図5に著者らが診断したミトコンドリア病の臨床診断の内訳を示す。従来からいわれている神経・筋症状を中心とする患者は、Leigh脳症38例、はっきりした原因の同定できなかった神経変性疾患11例、いわゆるミトコンドリア脳筋症38例の合計87例で87/232=37%になる。裏を返せばそれ以外が2/3を占めることになり、その中でも致死型乳児ミトコンドリア病(lethal infantile mitochondrial disease: LIMD)が41例で、同様の経過で発症しながら1歳以上まで存命した非致死型乳児ミトコンドリア病(non lethal infantile mitochondrial disease: NLIMD)と合わせると59例に達し、臨床診断として圧倒的多数を占める。LIMDとは新生児期に発症する高乳酸血症を伴う多臓器不全で、多くは不慮の転帰をとり、従来はその多くが診断されずに原因不明のまま亡くなっていたものと考えられる。

また心筋症⁵⁾、肝症など単独臓器障害のみを示すミトコンドリア病の存在も忘れてはならない。ミトコンドリア肝症と心筋症は罹患臓器以外で異常の検出される割合が極めて低く、生検あるいは剖検による罹患臓器を用いた呼吸鎖の

検索が必須となる⁶⁾。特にミトコンドリア心筋症は他臓器症状の出現率が極めて低く、心臓移植の良い適応となる。他疾患のしっかりと除外された原因不明の心筋症の場合、ミトコンドリア心筋症診断のために心筋生検が必要との報告⁷⁾もあり、著者らも国立成育医療研究センターとの共同研究で、生検心筋数mgを用いた呼吸鎖酵素活性測定に成功している。

酵素(生化学)診断においては組織特異性には非常な注意が必要であり、正確な診断のためにはできるだけ多くの細胞・臓器の収集・解析が必要となる。特に心筋症・肝症では罹患臓器そのものの解析が必須であることは上述したが、これに対しLeigh脳症など神経・筋症状中心のものは皮膚線維芽細胞でも異常の検出率が高い。つまり幼小児期発症の重篤な患者ほど罹患臓器の解析が必要となるが、年長児・成人発症の神経・筋症状を中心とする患者では侵襲の少ない皮膚線維芽細胞の解析も意義がある。

最近のトピックとしてSIDS/SUDと診断されていた患者におけるミトコンドリア異常症の頻度の高さ⁸⁾があげられる。この論文中でYamamotoらは、不幸にして亡くなった患者における皮膚線維芽細胞を含む複数の細胞・臓器・組織保存の重要性を説いている。

4. ミトコンドリア病の遺伝子診断

核遺伝子異常の探索とその機能解明が現在の病態解明の中心であり、その結果新しい治療法も生まれつつある。図6にミトコンドリア病病因遺伝子発見の歴史を示す。当初はミトコンドリア遺伝子異常の報告が中心であった。しかし最近では逆転し、著者のまとめたところでは、ミトコンドリア遺伝子異常の病因としての報告が37遺伝子中34遺伝子でほぼ終了しているのに対して、核遺伝子の病因としての報告は102遺伝子を数えている。

図7に著者らが最近推し進めている、ミトコンドリア病の診断・病態解明から病因遺伝子診断・新規治療法開発までのロードマップを示す。どのような患者に対しミトコンドリア病を疑うべきかについては上述したが、更に詳しくは別

ミトコンドリア呼吸鎖→核とMtの共同作業

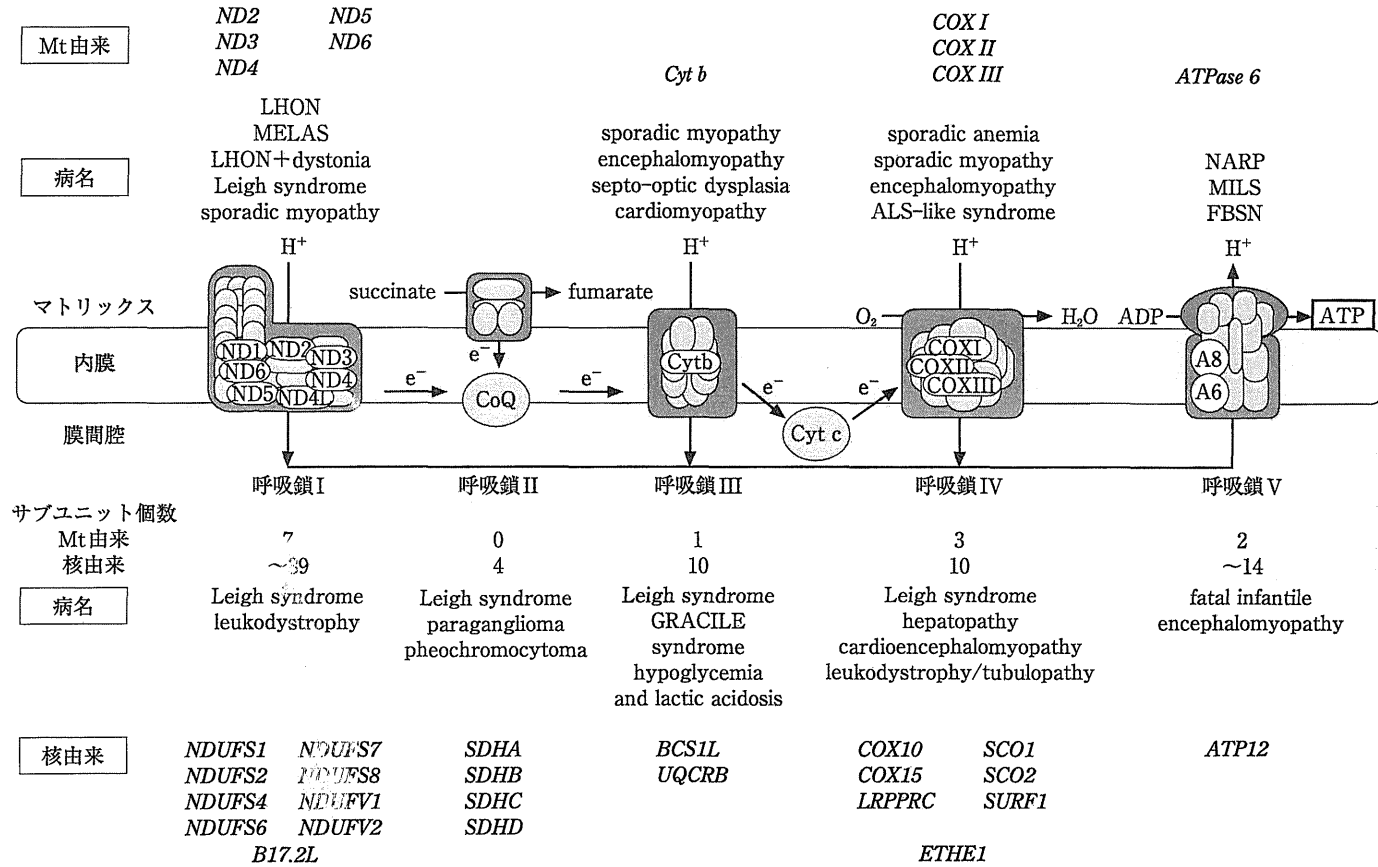


図4 ミトコンドリア呼吸鎖は、核とミトコンドリアの共同作業で生合成される
(DiMauro S, Schon EA: Mitochondrial Medicine, Informa, 2006. より引用)



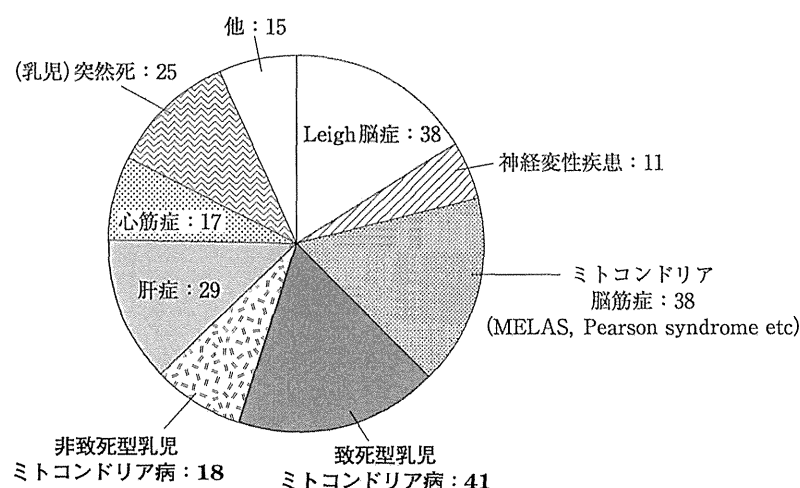


図5 ミトコンドリア病の臨床診断 (n=232)
(埼玉医科大学・千葉県こども病院, 2012.3.31 現在)

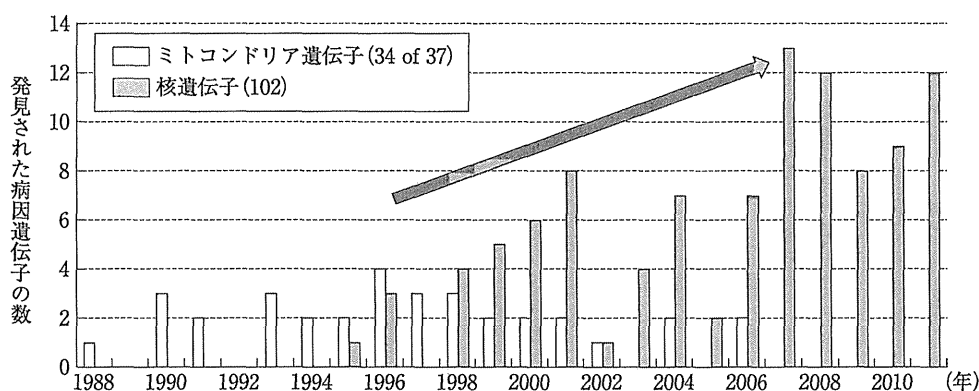


図6 ミトコンドリア病病因遺伝子発見の歴史

の成書⁹⁾を参照されたい。臨床的にミトコンドリア病を疑う症例がいたら、患者への侵襲を考えまずは血液を用いたミトコンドリア遺伝子異常の検索を行うことも大切である。しかしその際には、ミトコンドリア遺伝子に病因の見つかる可能性が低いことを念頭に置いたうえで行うべきである。そしてできれば時を同じくして呼吸鎖複合体酵素活性と blue native 電気泳動¹⁰⁾を用いた複合体量の解析を始めることがミトコンドリア病の迅速な解析につながる。呼吸鎖異常の認められた症例については、ミトコンドリア遺伝子と既知の核遺伝子を含むカスタムキャプチャーアレイでスクリーニング後、次世代シー

クエンサーで全染色体遺伝子のエキソーム解析を行う。見つかった候補遺伝子については、まずレスキュー実験で病因であることを確定する。未知の遺伝子についてはiPS細胞などを用いた解析でその機能を確認し、最終的に創薬・治療へとつなげようとする試みである。

図8に2012年6月現在の全エキソーム解析の結果を示す。41例についての解析が終了し、うち10例で既報告の、8例に未報告の病因候補遺伝子が見つかった。まだ残り23例で候補遺伝子が発見されておらず、今後の大きな課題である。

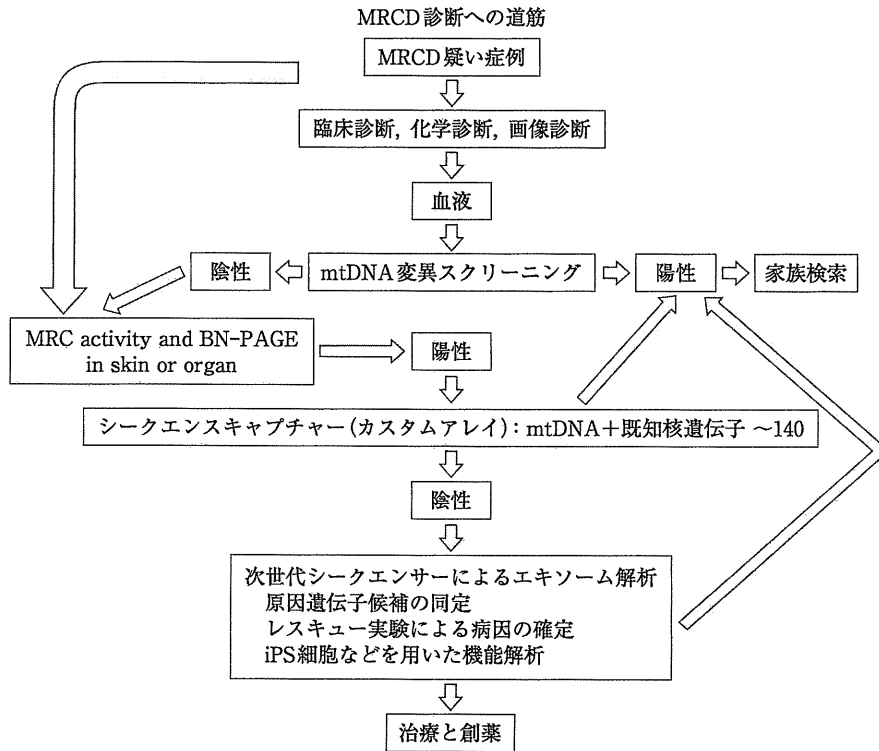
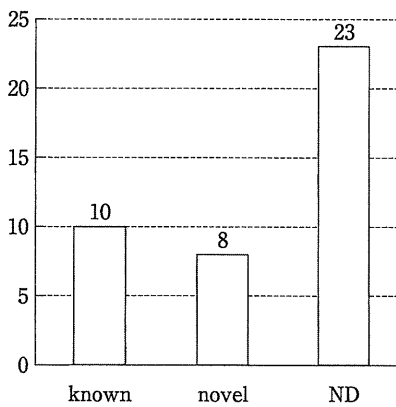


図7 ミトコンドリア病の診断・病態解明から病因遺伝子診断・新規治療法開発までのロードマップ

エクソーム解析から得られている候補遺伝子群 (n=41)



既知

- 1: *SURF1*: 呼吸鎖IV生合成
- 2: *NDUFA10*: 呼吸鎖Iサブユニット
- 3: *ABCB7*: *MRC D*としての報告はなし
- 4: *ACAD9*: アシル-CoA脱水素酵素9
- 5: *RARS2*: Arg-tRNA合成酵素
- 6: *COX10*: 呼吸鎖IV生合成
- 7: *NDUFA1*: 呼吸鎖Iサブユニット
- 8: *C8orf38*: 呼吸鎖I生合成
- 9: *HCCS*: 呼吸鎖IV生合成
- 10: *SLC25A4*: ADP/ATPトランスロカーゼ1

未知

- 1: コエンザイムQ生合成
- 2: 呼吸鎖Iサブユニット
- 3: コレステロール代謝に関係
- 4: ミトコンドリア内膜に存在するプロテアーゼ
- 5: ビルビン酸脱水素酵素の調節
- 6: 補体結合タンパク
- 7: ヘム生合成系タンパク
- 8: 脂肪酸β酸化系酵素

図8 全エクソーム解析の結果 (2012年6月末現在)

XIII

ミトコンドリア病

おわりに

ミトコンドリア病はすべての科の医師がその存在を知っておくべき病気であり，単一病因では説明のできない多臓器にまたがる症状の存在するときには，たとえ高乳酸血症が存在しなくとも常に鑑別に入れておく必要がある(図9)．ミトコンドリア病を正確に病因診断し有効な新規治療法を開発するためには，ミトコンドリア病をミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症(mitochondrial respiratory chain disorders: MRCD)ととらえることが出発点となる．

ミトコンドリア病は
まずその存在を疑って診断する

1. 高乳酸血症
(高乳酸血症・高アラニン血症・髄液中乳酸高値)
2. 単一病因では説明のできない
多臓器にまたがる症状



呼吸鎖酵素活性と量

皮膚線維芽細胞
-80℃保存の凍結臓器(肝, 筋, 心筋)

図9 呼吸鎖複合体の解析がミトコンドリア病を解釈するうえでの基本となる
(埼玉医科大学・千葉県こども病院)

■ 文 献

- 1) Scheffer IE: The human OXPHOS system: structure, function and physiology. In: Oxidative Phosphorylation in Health and Disease (ed by Smeitink JAM, et al), p 1-27, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2010.
- 2) Schägger H, Pfeiffer K: The ratio of oxidative phosphorylation complexes I-V in bovine heart mitochondria and the composition of respiratory chain supercomplexes. *J Biol Chem* **276**: 37861-37867, 2001.
- 3) Skladal D, et al: Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children. *Brain* **126**: 1905-1912, 2003.
- 4) Gibson K, et al: Mitochondrial oxidative phosphorylation disorders presenting in neonates: clinical manifestations and enzymatic and molecular diagnoses. *Pediatrics* **122**: 1003-1008, 2008.
- 5) 内藤幸恵ほか: ミトコンドリア呼吸鎖の酵素活性により診断された新生児ミトコンドリア心筋症. *日未熟児新生児会誌* **21**: 51-55, 2009.
- 6) 藤浪綾子ほか: ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症における肝疾患の現状. *日小児栄消肝会誌* **25**: 69-74, 2011.
- 7) Rustin P, et al: Endomyocardial biopsies for early detection of mitochondrial disorders in hypertrophic cardiomyopathies. *J Pediatr* **124**: 224-228, 1994.
- 8) Yamamoto T, et al: Metabolic autopsy with postmortem cultured fibroblasts in sudden unexpected death in infancy: Diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders. *Mol Genet Metab* **106**: 474-477, 2012.
- 9) 大竹 明, 村山 圭: ミトコンドリア呼吸鎖異常症. 見逃せない先天代謝異常, *小児科臨床ピクシス* **23**(五十嵐 隆総編集, 高柳正樹専門編集), p 210-213, 中山書店, 2010.
- 10) 大竹 明, 原島宏子: 分子生物学 basic technique その52 BN-PAGE: Blue native polyacrylamide gel electrophoresis. *THE LUNG perspectives* **16**: 533-536, 2008.

XIII ミトコンドリア病

ミトコンドリア呼吸鎖酵素複合体I欠損症

Mitochondrial respiratory chain complex I deficiency

Key words : NADH-ユビキノン酸化還元酵素, Leigh 脳症, 酵素診断,
エキソーム解析, リボフラビン

大竹 明

はじめに

ミトコンドリア呼吸鎖酵素複合体I(complex I)欠損症はミトコンドリア呼吸鎖異常症(mitochondrial respiratory chain disorders: MRCD), つまりミトコンドリア病のプロトタイプとも考えられる疾患である。いかなる症状, いかなる臓器・組織, 何歳でも, そしていかなる遺伝形式でも発症しうる。

1. 概念・定義

complex Iは, NADH-ユビキノン酸化還元酵素ともいわれ, 少なくとも45個のサブユニットよりなる¹⁾。すべてのcDNAはヒトを含む数種の生物でクローニングされており, ヒトにおける遺伝子の局在も判明している。核由来サブユニットは38個で, うち2個はX染色体局在で残りは常染色体局在である。ミトコンドリア遺伝子(mtDNA)に由来するのは7個(ND1, 2, 3, 4, 4L, 5, 6)で, これらは他の7個の核遺伝子(nDNA)由来サブユニット(NDUFV1, FV2, FS1, FS2, FS3, FS7, FS8)とともに前核生物とも相同性の高い基本ユニットを形成し, コアサブユニットと呼ばれる。真核生物におけるcomplex I解明の歴史は, 真核生物にのみ認められる残り31個のサブユニットの機能解明の歴史と重なる。図1に哺乳類complex Iの模式図²⁾を示す。マトリックスアーム(Nモジュール, Qモジュール)と内膜アーム(Pモジュール)からなり, 100°の角度でL字型構造を形作る。

このcomplex Iの活性低下によりエネルギー産生が低下して, 各種臓器障害を引き起こす疾

患をcomplex I欠損症と総称する。

2. 疫 学

complex I欠損症は, MRCDの中で最多で, 欧米人においても日本人においてもMRCDの40-45%がcomplex I欠損症に当たる³⁾。MRCDの頻度を5,000人に1人と見積もる⁴⁾と, complex I欠損症の頻度は約10,000人に1人となり, 最も頻度の高い先天代謝異常症である。更に著者らの解析では, MRCD中complex I単独欠損について多い複合型欠損症もその大部分がcomplex I欠損を伴っており³⁾, これを考え合わせると, 実にMRCD全体の約80%がcomplex I欠損を伴う。

3. 病 因

complex Iは図1に示すNモジュールの先端で, NADHを酸化して2個の電子を産生する。電子は主にQモジュールの働きで, フラビンモノヌクレオチド(FMN)と鉄-硫黄(Fe-S)クラスターを介して, 電子伝達系における最初の動的電子受容体であるユビキノン(コエンザイムQ)に渡される。この電子伝達と共役して, complex IのPモジュールはミトコンドリアマトリックスから膜間腔へプロトンを汲み上げる。complex Iがプロトンを汲み上げる比率は, 電子2個に対してプロトン4個になり電荷的に相同ではない。呼吸鎖I, III, IV全体では電子1個につき5個のプロトンを汲み上げる計算になり, これがミトコンドリアの膜電位勾配, つまりは電気的エネルギーを形成することになる。この膜電位勾配が, V番目の呼吸鎖である

XIII

ミトコンドリア病

Akira Ohtake: Department of Pediatrics, Saitama Medical University 埼玉医科大学 小児科

0047-1852/12/¥60/頁/JCOPY

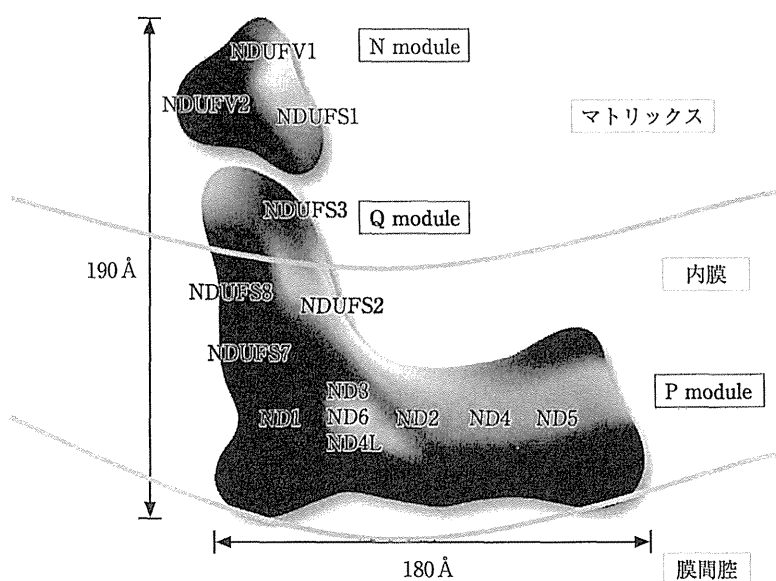


図1 哺乳類呼吸鎖複合体Iの模式図
(文献⁹より改変)

マトリックスアーム(Nモジュール, Qモジュール)と内膜アーム(Pモジュール)が100°の角度でL字型構造を形成する。Nモジュール: NADH脱水素酵素(NADH dehydrogenase)モジュール, Qモジュール: 電子伝達(electron transfer)モジュール, Pモジュール: プロトンポンピング(proton translocation)モジュール。コアサブユニットのみサブユニット名を記す(紫は核遺伝子由来, 緑はミトコンドリア遺伝子由来)。

ATPaseの構造変化を引き起こしATPが生成される。

complex Iは980kDaにもなる大分子複合体であり, mtDNA由来サブユニットが7個, nDNA由来サブユニットが38個であることは上述したが, 欠損症の病因として報告のあるサブユニット遺伝子異常を表1に示す。コアサブユニット以外のnDNA由来サブユニットはいまだ機能不明のものも多いが, 今後これらの欠損症患者の解析を通して機能が明らかになるものも多いであろう。最終的に構造単位に含まれるサブユニット以外にも, complex Iは多数のアセンブリー因子の助けを借りて生合成される。これらアセンブリー因子のうち, 病因として報告のあるもの⁵⁻²¹⁾を表2に示した。アセンブリー因子の詳細については字数の関係で本稿では触れないが, 文献²⁾に詳しいので参照されたい。

更に注意すべきは, complex Iには最も多く

のmtDNA由来サブユニットタンパクが含まれているため, mtDNAの複製・転写障害(mt tRNA遺伝子異常や核由来の複製・転写調節遺伝子の異常)でも, 特に初期はcomplex I単独欠損の場合も多いことである。これらの多くは病期が進めばその多くは複合型欠損症に変化する。

4. 病 態

complex I欠損症は, エネルギー産生系の臓器障害を中心に極めて多彩な症状・病型を示す。多数の臓器が同時に犯されることも, 単一臓器のみの場合(心筋症や視神経症など)もある。代表的病型としては, 致死型乳児ミトコンドリア病(lethal infantile mitochondrial disease: LIMD), Leigh脳症, 白質脳症, ミトコンドリア脳筋症, 高乳酸血症, 卒中様発作を伴う症候群(mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes: MELAS), 心筋症などであるが, その中からここでは乳児期の

表1 ミトコンドリア病を引き起こす呼吸鎖複合体Iサブユニット異常症(文献²⁾より改変)

	ヒトサブユニット名	ウシホモログ	モジュール	臨床病型
ミトコンドリア遺伝子由来	ND1	ND1	P	LHON ^a , MELAS ^b , LS ^c
	ND2	ND2	P	LS
	ND3	ND3	P	LS, LIMD ^d
	ND4	ND4	P	LHON, LS
	ND4L	ND4L	P	LHON
	ND5	ND5	P	LS, MELAS, LHON
	ND6	ND6	P	LS, LHON, ジストニア
核遺伝子由来	NDUFA1	MWFE		LS, ミトコンドリア脳筋症
	NDUFA2	B8		LS
	NDUFA10	42 kDa		LS
	NDUFA11	B14.7		LIMD, ミトコンドリア脳筋症, ミトコンドリア心筋症
	NDUFA12	B17.2		LS
	NDUFS1	75 kDa	N	LS, 白質ジストロフィー
	NDUFS2	49 kDa	Q	LS, LIMD, ミトコンドリア脳筋症, ミトコンドリア心筋症
	NDUFS3	30 kDa	Q	LS
	NDUFS4	18 kDa	N	LS
	NDUFS6	13 kDa	N	LIMD
	NDUFS7	PSST	Q	LS
	NDUFS8	TYKY	Q	LS, ミトコンドリア脳筋症, ミトコンドリア心筋症, 白質ジストロフィー
	NDUFV1	51 kDa	N	LS, ミトコンドリア脳筋症
	NDUFV2	24 kDa	N	ミトコンドリア脳筋症, ミトコンドリア心筋症

^aLHON: Leber 遺伝性視神経症 (Leber hereditary optic neuropathy).
^bMELAS: ミトコンドリア脳筋症, 高乳酸血症, 卒中様発作を伴う症候群 (mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes).
^cLS: Leigh 脳症 (症候群).
^dLIMD: 致死型乳児ミトコンドリア病 (lethal infantile mitochondrial disease).

XIII

ミトコンドリア病

表2 呼吸鎖Iアセンブリー因子異常症(文献²⁾より改変)

アセンブリー因子	臨床病型	文献
C20orf7	LIMD ^a , LS ^b	5-7)
Ndufaf3 (C3orf60)	LIMD	8)
Ndufaf4 (C6orf66)	LIMD, ミトコンドリア心筋症	9)
Ndufaf1 (CIA30)	ミトコンドリア心筋症	10, 11)
ACAD9	ミトコンドリア心筋症, ミトコンドリア脳筋症, 運動不耐症, 難聴, 低身長	12-14)
Ndufaf2 (B17.2L, NDUFA12L)	LS, ミトコンドリア脳筋症	15-18)
NUBPL (Ind1)	ミトコンドリア脳筋症	18, 19)
C8orf38	LS	20)
FOXRED1	LS	18, 21)

^aLIMD: 致死型乳児ミトコンドリア病 (lethal infantile mitochondrial disease).
^bLS: Leigh 脳症 (症候群).

表3 ミトコンドリア遺伝子異常による Leigh 脳症

遺伝子シンボル	診断材料	MRCD による Leigh 脳症中の割合
<i>MT-ATP6</i> m.8993T>G or C	WBC DNA	10-20 %
<i>ATP6, TLI, TK, TW, TV, NDI, ND2, ND3, ND4, ND5, ND6, CO3</i>	muscle DNA (hair follicles, urine sediment cells)	10-20 %

表4 呼吸鎖複合体欠損を伴う核遺伝子異常による Leigh 脳症
(MRCD による Leigh 脳症中の約 70 % に相当する)

欠損する呼吸鎖複合体	病名	遺伝子シンボル
I	呼吸鎖 I 欠損を伴う Leigh 脳症	<i>NDUFV1, FS1, FS2, FS3, FS4, FS7, FS8, FA1, FA2, FA10, FAF2, C8orf38, C20orf7, FOXRED1,</i> ほか未知遺伝子
II	呼吸鎖 II 欠損を伴う Leigh 脳症	<i>SDHA</i>
IV	シトクローム c オキシダーゼ (呼吸鎖 IV) 欠損を伴う Leigh 脳症	<i>SURF1, COX10, COX15,</i> ほか未知遺伝子
	French-Canadian または Saguenay-Lac Saint Jean 型	<i>LRPPRC</i>
II+III	コエンザイム Q ₁₀ 欠損症	<i>PDSS2,</i> ほか未知遺伝子
I, III+IV	ミトコンドリア DNA 枯渇症候群	<i>POLG, SUCLG1,</i> ほか未知遺伝子
I, III+IV	mtDNA 転写・翻訳障害	<i>C12orf65,</i> ほか未知遺伝子

代表的なミトコンドリア病である Leigh 脳症についてまとめてみる。

Leigh 脳症とは狭義には以下の 4 つの条件を満たす疾患と定義される²²⁾。①精神運動発達の退行を伴った進行性の神経疾患、②不随意運動、哺乳嚥下障害、呼吸障害、眼球運動障害、失調などの、脳幹 and/or 大脳基底核症状を伴う、③血中 and/or 髄液中の乳酸濃度の上昇、④次のうちの 1 つ以上：(i)画像上の対称性基底核・脳幹病変、(ii)典型的神経病理学的変性(海綿状壊死)、(iii)同様症状の同胞の存在。

病因としては MRCD 以外にピルビン酸脱水素酵素欠損症、ピルビン酸カルボキシラーゼ欠

損症、コエンザイム Q 欠損症などが挙げられるが、ここでは Leigh 脳症の病因としての MRCD²³⁾を説明する。MRCD による Leigh 脳症中、表 3 に示す mtDNA 異常が全体の約 30 % で、表 4 に示す nDNA 異常が 70 % である。病因検索においては、まず血液を用いて m.8993 変異の有無を確認し、それに異常のない場合には mtDNA 全周塩基配列決定を行う。更にこれと並行して、低下した呼吸鎖複合体活性に基づき、解析する nDNA 候補を推測する。しかしそれでも病因のわからない場合も多く、概論の稿に示した次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析結果に待つ場合も多い。

5. 診断と鑑別診断

1) 酵素診断

complex I欠損症の診断はまずは疑うことに始まる。持続する高乳酸血症を伴う場合はもちろんであるが、高乳酸血症がなくても単一病因では説明のできない多臓器にまたがる症状が存在する場合は、まずは呼吸鎖酵素複合体活性を測定すべきである。

材料としては筋肉や心筋、肝臓などを中心とする罹患臓器の解析が最も望ましい。特に心筋症では、心筋のみで活性が低下し他の筋肉では活性が正常のこともあるので注意して欲しい。皮膚線維芽細胞は異常の検出率は落ちるが、診断確定後の分子生物学的検討や出生前診断のためにはその解析は必要である。また、Leigh脳症を中心とする神経症状中心のミトコンドリア病では、皮膚線維芽細胞における異常の検出率はほぼ筋肉に匹敵することもわかってきた。

NADH酸化に伴う吸光度の変化を測定するが、生体内には多数のNADH酸化還元酵素があるので、complex Iの特異的阻害剤であるrotenoneを加える前の活性から加えた後の活性を差し引き、それをcomplex I活性としている。各臓器・組織におけるミトコンドリア量の違いを補正するため、単独活性よりもクエン酸合成酵素やコハク酸脱水素酵素(complex II)活性で除した比活性で表すことが多い。酵素診断は決して簡単な作業ではなく、また全施設を網羅するような正常値もない。各施設の壁を越えた検定システムの構築とともに、施設自身での自動努力が今後益々必要になってくる。

更に注意が必要なのは、この酵素活性はNADH酸化能を測っていることである。つまり図1に示すNモジュールの活性を測っていることになり、遠く離れたPモジュールなどの異常では活性低下のないこともある。これを補うために、blue native電気泳動を用いて酵素複合体量の測定を行ったり、ポラログラフィー(ATP産生能)やオキシグラフィー(酸素消費量)を組み合わせることも必要になる。

病因から考えるとcomplex I単独欠損である

はずの場合でも、複合型欠損になることがよく観察される。complex I欠損により産生される活性酸素が他の呼吸鎖複合体活性を阻害する、またはcomplex Iの異常が超複合体(概論の稿参照)全体の安定化障害を引き起こし他の呼吸鎖も破壊される、などの説明がなされているが、詳細はわかっていない。

2) 画像診断

complex I欠損症では脳幹部の画像異常が高率に観察されるとの報告もある。しかし今のところ、酵素診断に代わる確定診断法にはなり得ないのが現状である。

3) 組織診断

筋生検所見としては、軽度の脂肪蓄積や筋線維不均衡(fiber type disproportion)などの非特異的変化がほとんどで、赤色ボロ線維(ragged red fiber)などの特異的変化は、mtDNA異常や、その複製・転写障害の場合などに限られる。

4) 生化学診断

通常の代謝病スクリーニング法(有機酸分析、タンデムマス分析など)に特異的のマーカはなく、高乳酸血症の存在も程度も病因や重症度に直結するものはない。

5) 診断のまとめと鑑別診断

症状・所見よりMRCDを疑ったら呼吸鎖酵素複合体活性を測定し、異常が認められたらmtDNAと既報告のnDNA異常を組み込んだキャプチャーアレイを挟み、それでも異常の認められない場合は次世代シーケンサーによるエキソーム解析を行う(概論の稿の図7)。最近のコストパフォーマンスの上からもキャプチャーアレイのステップは省くことも多い。鑑別については‘疑ったら酵素活性を測る’の一言である。

6. 治療と予後

complex I欠損症に有効であると定まった治療法はない。検討中の薬物の中で有望なものはリボフラビンであろう¹⁴⁾。

おわりに

ミトコンドリア病はすべての科の医師がその存在を知っておくべき病気であることは概論の

稿にも述べた。単一病因では説明のできない多臓器にまたがる症状の存在するときには、たとえ高乳酸血症が存在しなくとも complex I を中心とするミトコンドリア病=MRCD を常に鑑別に入れておく必要があることを最後に再度強

調し、本稿の締めくくりとしたい。

本稿完成後に Rahman らの complex I に関する優れた総説²⁴⁾が出版された。幾つかの新しい病因遺伝子も加わっており、一読されることをお勧めする。

■ 文 献

- 1) Scheffer IE: The human OXPHOS system: structure, function and physiology. In: Oxidative Phosphorylation in Health and Disease (ed by Smeitink JAM, et al), p 1-27, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2010.
- 2) Mimaki M, et al: Understanding mitochondrial complex I assembly in health and disease. *Biochim Biophys Acta* **1817**: 851-862, 2012.
- 3) 大竹 明, 村山 圭: ミトコンドリア呼吸鎖異常症. 見逃せない先天代謝異常, 小児科臨床ピクシス 23 (五十嵐 隆総編集, 高柳正樹専門編集), p 210-213, 中山書店, 2010.
- 4) Skladal D, et al: Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children. *Brain* **126**: 1905-1912, 2003.
- 5) Sugiana C, et al: Mutation of C20orf7 disrupts complex I assembly and causes lethal neonatal mitochondrial disease. *Am J Hum Genet* **83**: 468-478, 2008.
- 6) Gerards M, et al: Defective complex I assembly due to C20orf7 mutations as a new cause of Leigh syndrome. *J Med Genet* **47**: 507-512, 2010.
- 7) Saada A, et al: Combined OXPHOS complex I and IV defect, due to mutated complex I assembly Q6 factor C20ORF7. *J Inherit Metab Dis* **35**: 125-131, 2012.
- 8) Saada A, et al: Mutations in NDUFAF3 (C3ORF60), encoding an NDUFAF4 (C6ORF66)-interacting complex I assembly protein, cause fatal neonatal mitochondrial disease. *Am J Hum Genet* **84**: 718-727, 2009.
- 9) Saada A, et al: C6ORF66 is an assembly factor of mitochondrial complex I. *Am J Hum Genet* **82**: 32-38, 2008.
- 10) Vogel RO, et al: Human mitochondrial complex I assembly is mediated by NDUFAF1. *FEBS J* **272**: 5317-5326, 2005.
- 11) Dunning CJ, et al: Human CIA30 is involved in the early assembly of mitochondrial complex I and mutations in its gene cause disease. *EMBO J* **26**: 3227-3237, 2007.
- 12) Nouws J, et al: Acyl-CoA dehydrogenase 9 is required for the biogenesis of oxidative phosphorylation complex I. *Cell Metab* **12**: 283-294, 2010.
- 13) Haack TB, et al: Exome sequencing identifies ACAD9 mutations as a cause of complex I deficiency. *Nat Genet* **42**: 1131-1134, 2010.
- 14) Gerards M, et al: Riboflavin-responsive oxidative phosphorylation complex I deficiency caused by defective ACAD9: new function for an old gene. *Brain* **134**: 210-219, 2011.
- 15) Ogilvie I, et al: A molecular chaperone for mitochondrial complex I assembly is mutated in a progressive encephalopathy. *J Clin Invest* **115**: 2784-2792, 2005.
- 16) Hoefs SJ, et al: Baculovirus complementation restores a novel NDUFAF2 mutation causing complex I deficiency. *Hum Mutat* **30**: E728-E736, 2009.
- 17) Barghuti F, et al: The unique neuroradiology of complex I deficiency due to NDUFA12L defect. *Mol Genet Metab* **94**: 78-82, 2008.
- 18) Calvo SE, et al: High-throughput, pooled sequencing identifies mutations in NUBPL and FOXRED1 in human complex I deficiency. *Nat Genet* **42**: 851-858, 2010.
- 19) Bych K, et al: The iron-sulphur protein Ind1 is required for effective complex I assembly. *EMBO J* **27**: 1736-1746, 2008.
- 20) Pagliarini DJ, et al: A mitochondrial protein compendium elucidates complex I disease biology. *Cell* **134**: 112-123, 2008.
- 21) Torija P, et al: Functional genomics in Dictyostelium: MidA, a new conserved protein, is

- required for mitochondrial function and development. *J Cell Sci* **119**: 1154–1164, 2006.
- 22) Rahman S, et al: Leigh syndrome: clinical features and biochemical and DNA abnormalities. *Ann Neurol* **39**: 343–351, 1996.
- 23) Thorburn DR, Rahman S: Mitochondrial DNA-Associated Leigh Syndrome and NARP. In: *GeneReviews™* [Internet] (ed by Pagon RA, et al), Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-. [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1173/>]
- 24) Fassone E, Rahman S: Complex I deficiency: clinical features, biochemistry and molecular genetics. *J Med Genet* **49**: 578–590, 2012.

XIII

ミトコンドリア病

薬物治療

古賀 靖敏

はじめに

ミトコンドリアミオパチーの根本治療は、ミトコンドリア機能障害を正常化することである。しかし、医学研究が進んだ今日においても、本症の特効薬的な治療法は残念ながら存在しない。本稿では、ミトコンドリアミオパチーの治療として現在行われている薬物治療に関し解説し、日本での治療薬開発の現状についても紹介する。

細胞内小器官であるミトコンドリアに存在する代謝経路と使用されている薬剤の関係を図1に示す。本稿では、主に電子伝達系機能障害に起因する種々の症状に対する処方例について以下に解説する(久留米大学医学部小児科ホームページのミトコンドリア病パンフレット：<http://www.ped-kurume.com/pdf/mitochondria.pdf>)。

こが やすとし 久留米大学教授/小児科

急性増悪期治療

常時、高乳酸、ピルビン酸血症が存在するが、感染や嘔吐・下痢などの発熱性炎症性疾患、脱水症を契機として、急性期には重症な代謝性アシドーシスを来す。そのため、それらに対する救急対応が必要になる。同時に合併する腎尿細管性アシドーシス(I型およびII型)が存在する場合、腹膜透析、血液透析を併用する場合もある。ミトコンドリア異常症の急性期にしばしば合併するNa 130 mEq/L以下の低Na血症は、腎尿細管におけるエネルギー不全のためのNa再吸収障害や、SIADHの合併のいずれの可能性も考えられる。前者であれば、ADH分泌が高値でないにもかかわらず、尿中Na排泄は100 mEq/L以上になることが多い。後者の場合、水分制限を中心に治療するが、両者の鑑別が難しいことも経験する。急性期治療のフロー

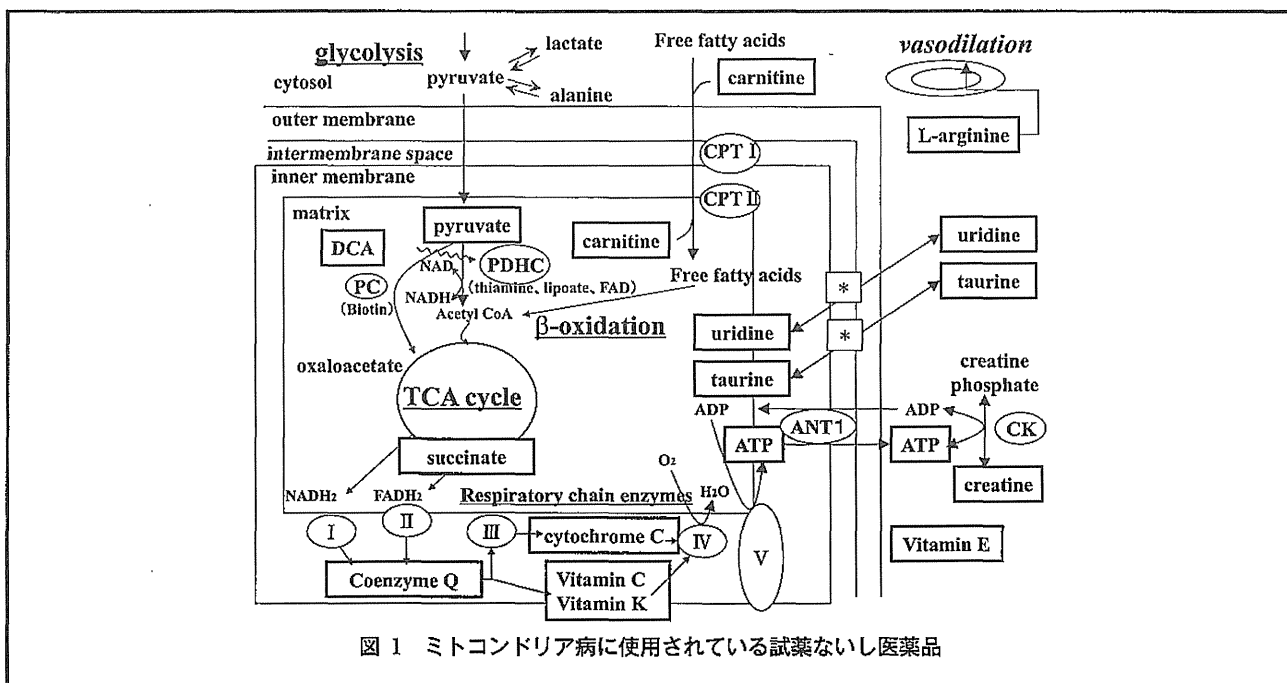


図1 ミトコンドリア病に使用されている試薬ないし医薬品

チャートを図2に示す。

1. 注射剤

A. ビカーボン注(500 mL) 1回 500~1,000 mL 静注
心不全, 腎不全がない場合, ビカーボン 500 mL に 50%ブドウ糖 20 mL 1 A を混ぜ点滴静注する。ビカーボンは Na 135 mEq/L, HCO₃⁻ 25 mEq/L と細胞外液の組成に近く, 代謝性アシドーシス発作時に合併しやすい低 Na 血症と代謝性アシドーシスの補正に, ミトコンドリア異常症の救急治療でもっとも有用な輸液製剤と考えられる。輸液スピードは脱水の重症度に応じて増減する。初期輸液としては体重あたり 20 mL/kg/hour 程度とし, 1時間の経過のうちに血清 Na および血液ガスを参考にしながら輸液量を調整し, 減速輸液, 維持輸液とする。腎不全, 心不全がある場合, ナトリウム負荷は避けなければならない, 他の基剤を

選択する。また, 脳浮腫が予測される場合, 水分の過剰投与を避け, マンニトールなどの脳圧降下剤や利尿剤を選択する。

B. アルギ U 注(200 mL: 10%アルギニン塩酸塩)
1回 5 mL/kg/hour 静注

MELAS の脳卒中様発作であれば, 脳卒中様発作発現から 6 時間以内にアルギ U 5 mL/kg/one shoot の急性期治療が有効である¹⁾。図3にアルギニン投与後の血漿中のパラメーターを示す。アルギニンのピークは投与後 15 分で 9.5 mM 程度まで上昇する。一方, シトルリン, cGMP, NOx のピークは 30 分となる。脳卒中様発作発現後 2 時間でアルギニンを投与し, その後継時的に観察した MRI 画像を図4に示す。発作後 12 時間での MRI 画像は, DWI 高信号, ADC 低信号, T2WI で変化なく, 超急性期画像を示している。しかし, 7 日後, 1 ヶ月後および 42 日後の MRI

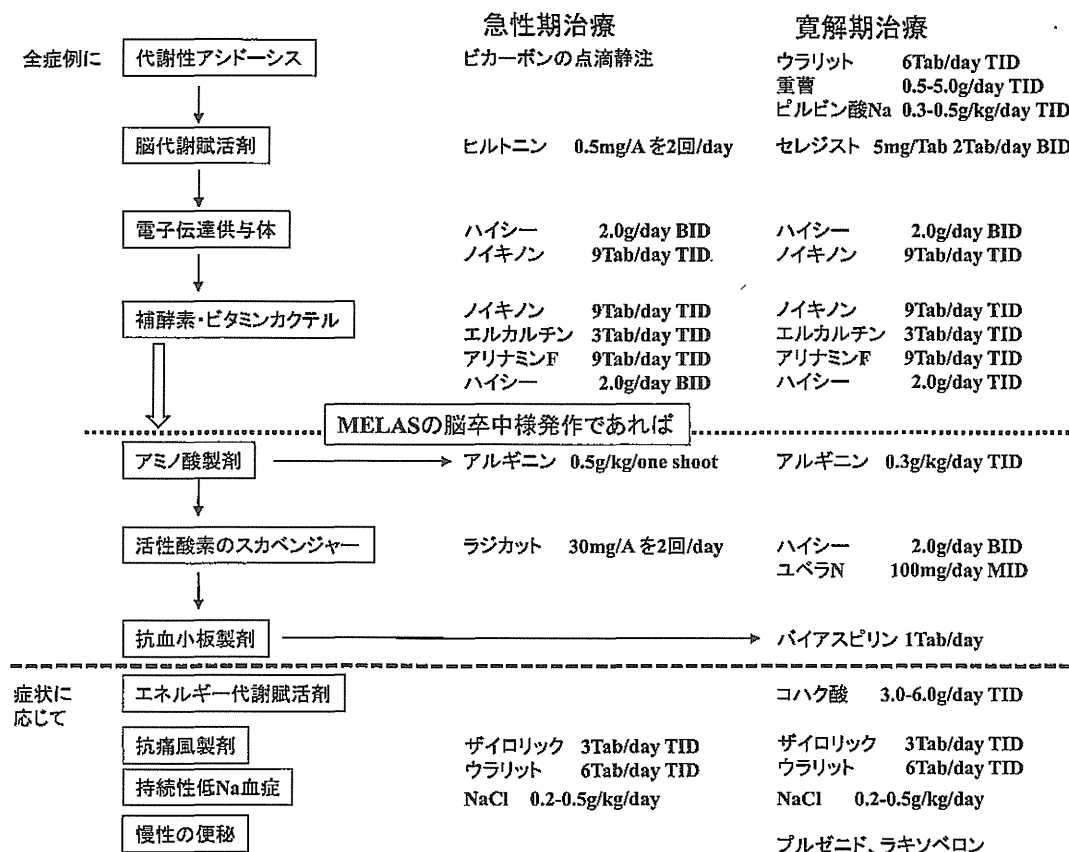


図2 ミトコンドリア異常症に対する治療法選択のフローチャート

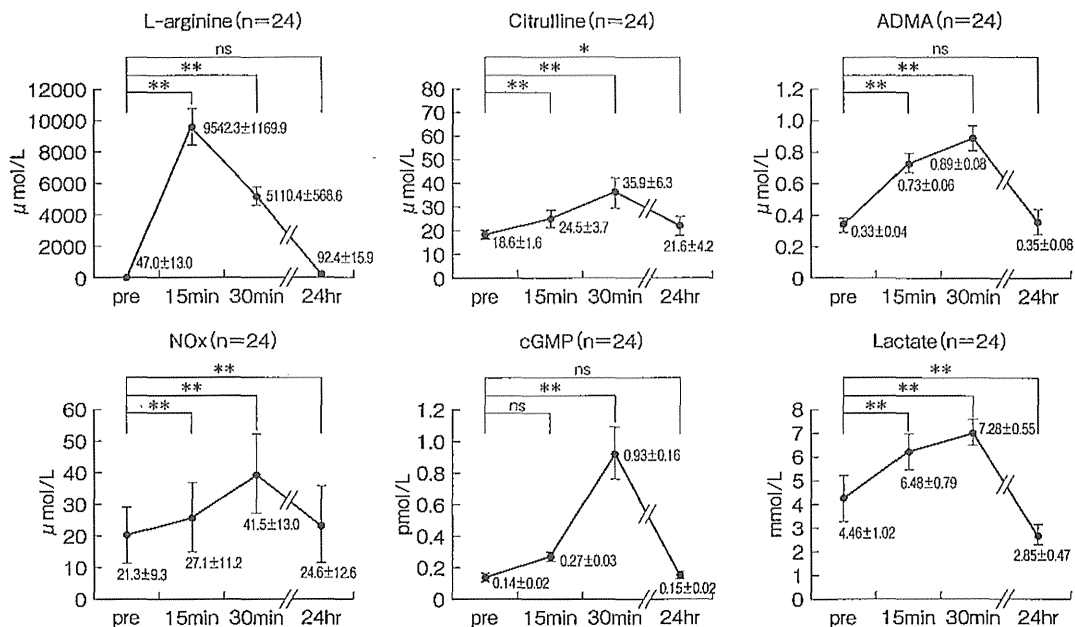


図3 アルギニン静注後の各種パラメーター

アルギ U 5 mL/kg/one shoot の急性期治療後、アルギニンのピークは投与後15分で9.5 mM程度まで上昇する。一方、シトルリン、cGMP、NOxのピークは30分となる。したがって、アルギニンの血管拡張能は投与後30分でピークとなると考えられる。

画像では、全く異常像は消失した。このように、発作後超早期(2時間以内)にアルギニンを静注することで、臨床症状のみならずMRI画像上も異常が全く消失した。この治療は、日本医師会治験促進センターの医師主導治験として2年間の治験が終了し、現在PMDAに申請準備中である。アルギUの急性期効果は、MELASに合併する血管内皮機能不全に対する効果と考えられているが、投与開始時期が早ければ早いほどその効果がよいと考えられる²⁾。

C. ラジカット注(30 mg/A)

1回1A, 1日2回 静注

脳梗塞急性期治療薬であり、フリーラジカルを消去し過酸化脂質産生を抑制し、脳細胞の酸化的障害を抑制するといわれている。発作開始後24時間以内に開始し、最大2週間使用する。

D. ヒルトニン注(0.5 mg/A)

1回1A, 1日2回 静注

遷延性の意識障害が続く場合は脳代謝賦活剤として使用する。

E. ソルメドロール注(500 mg/A)

1回30 mg/kg/日, 3日連続 静注

種々の治療に効果がみられない場合、ステロイドパルス

療法を行うが、効果に関しては不明である。回復期には急速な脳萎縮がおこることが多い。

2. 内服薬

A. ザイロリック錠(100 mg) 3錠 分3 食後

高乳酸血症(血漿中乳酸値が40 mg/dL以上の場合)では、腎尿細管での尿酸排泄が競合阻害を受けるため、高尿酸血症を生じる。

B. ウラリット錠(100 mg) 6錠 分3 食後

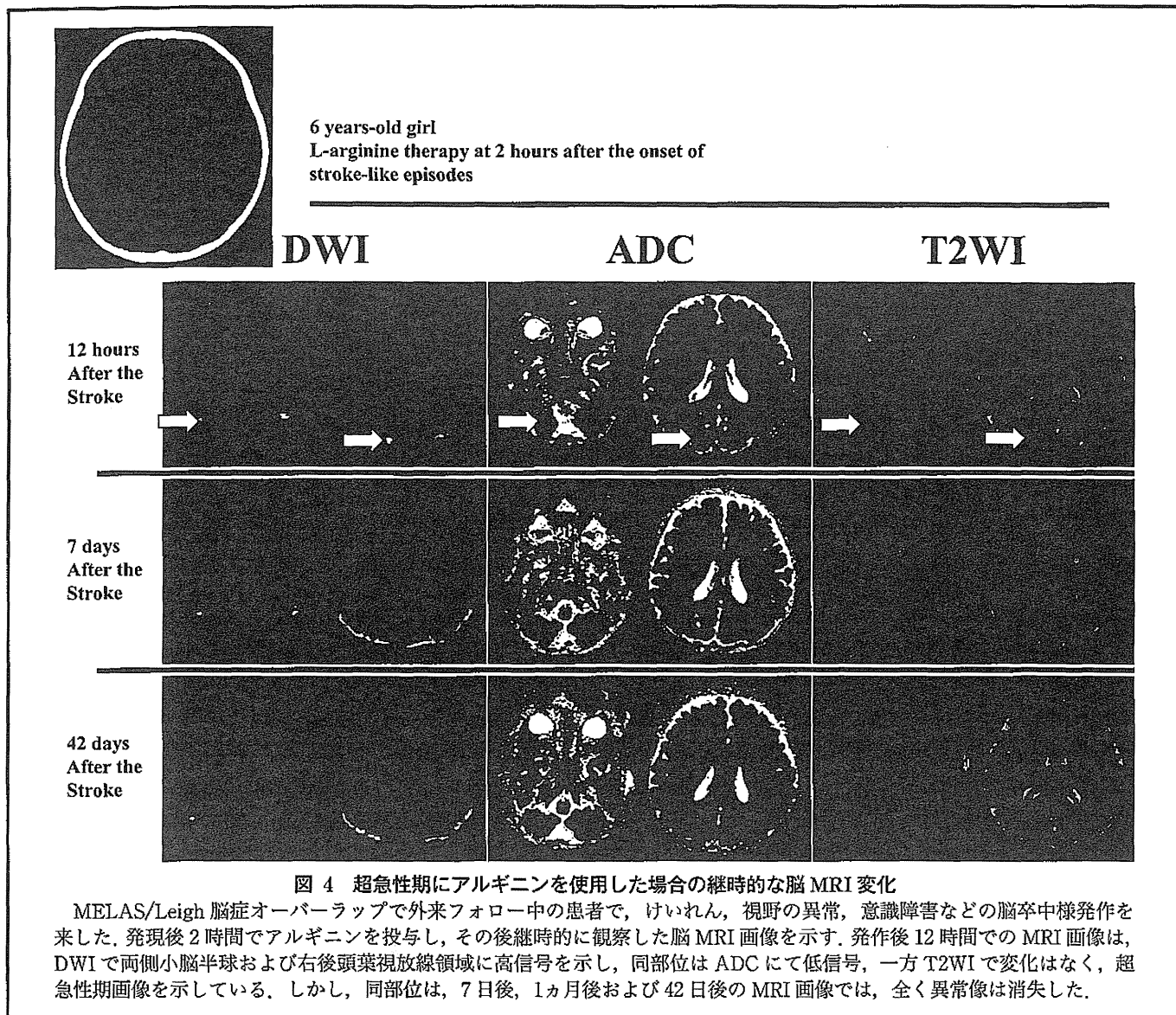
尿をアルカリ化し尿酸排泄を促す。

C. ハイシー細粒(250 mg/包) 2,000 mg 分2

フリーラジカルのスカベンジャー。

D. ノイキノン錠(10 mg) 9錠 分3 食後

電子伝達系供与体。リンパ管を経て吸収され、細胞内ミトコンドリアに取り込まれる。抗酸化作用を有し、酸素利用効率を改善する。日常生活動作の改善、血中乳酸・ピルビン酸値の低下を認める報告がある。中枢神経系の乳酸・ピルビン酸も低下させるが、外因性CoQ10は脳の血液脳関門を通過しないので、外因性CoQ10は中枢神経系に対して間接的に関与していると考えられている。副作用に発疹、胃部不快感、食欲減退などがある。イデベノンとCoQ10と



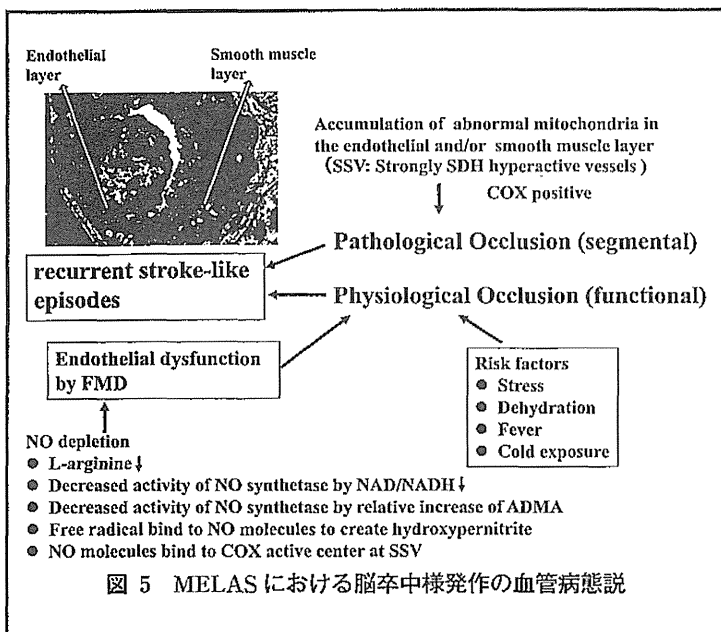
似た化学構造をしているがイソプレノイド残基が少なく、血液脳関門を通過する。細胞内ミトコンドリア内で抗酸化作用を有する。

E. アリナミン F 錠(25 mg) 9 錠 分 3 食後
ピルビン酸脱水素酵素の補酵素としての賦活作用。生体内で ATP からピロリン酸の転移を受けコカルボキシラーゼとなって、ピルビン酸、あるいは α -ケトグルタル酸などの脱炭酸反応の補酵素として作用する。

F. エルカルチン錠(300 mg) 3 錠 分 3 食後
炭素数 8 以上の中鎖および長鎖脂肪酸の膜透過を助長し、エネルギー産生系を活性化する。

寛解期の維持療法

現在行われているミトコンドリア異常症に対する治療法は、少数の症例報告を参考にした治療法であり、治験研究を経た十分なエビデンスに基づいた治療法はない³⁾。ミトコンドリア異常症に対し実際に使用されている薬剤が、患者の病状経過および生命予後にどれだけ効果があるかは不明である。根本的なミトコンドリアの機能障害を取り除くことができればよいが、現状では極めて難しい。工業用化合物であるジクロロ酢酸が高乳酸血症治療薬として使用されていたが、当初から指摘されている、肝、腎毒性に加えて末梢神経障害が報告され、現在では使用されていない⁴⁾。



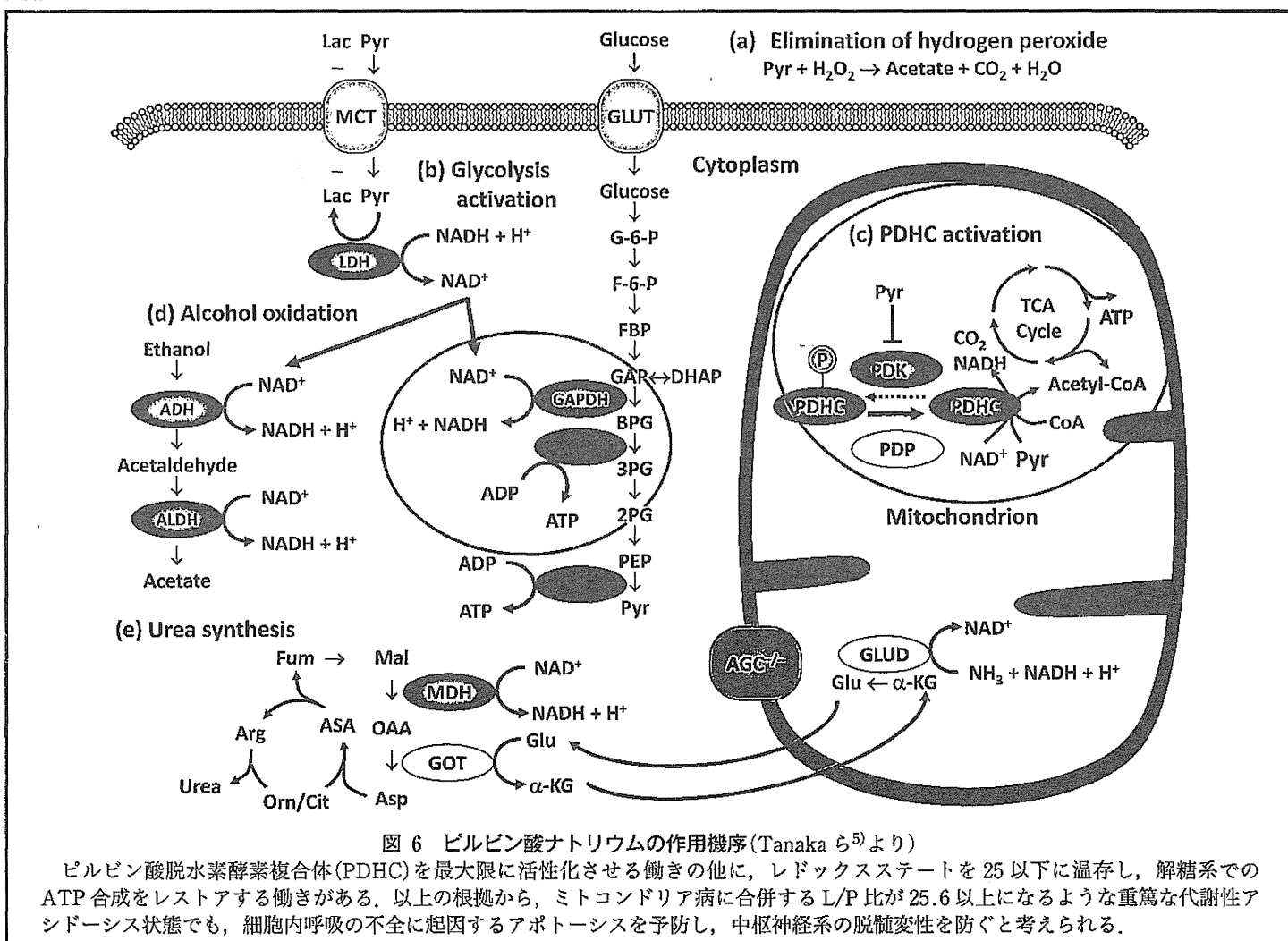
これに代わりピルビン酸ナトリウム治療が注目されている⁵⁾。

内服薬

A. アルギン細粒(L-アルギニン塩酸塩)

0.3~0.5 g/kg/日 分3 食後 適用外使用

MELASでの脳卒中様発作の予防目的で血管内皮機能改善薬として使用する^{1,2,6)}。MELAS患者の脳卒中様発作寛解期にL-アルギニンを投与することで、発作の予防および重症度の軽減にも有効であり、医師主導治験を経て承認申請準備中である(平成23年6月治験終了)。発作予防するにはトラフレベルが重要と考えられ、頻回発作を来す場合、血漿中のアルギニン濃度をモニターし、トラフレベル



ピルビン酸脱水素酵素複合体(PDHC)を最大限に活性化させる働きの他に、レドックスステートを25以下に温存し、解糖系でのATP合成をレストアする働きがある。以上の根拠から、ミトコンドリア病に合併するL/P比が25.6以上になるような重篤な代謝性アシドーシス状態でも、細胞内呼吸の不全に起因するアポトーシスを予防し、中枢神経系の脱髄変性を防ぐと考えられる。

が100 μmol/L以下になる場合、内服量を増加するか、1日分4にして服薬してもらうなどの工夫が必要である。また、感染などの高サイトカイン血症状態、脱水、精神的ストレス、寒冷暴露などの神経反射が脳卒中様発作の誘因となることから、このような環境とならないように最大限の注意を払うことが、コンプライアンスを高める以上に発作予防に重要と考えられる(図5)。

B. ザイロリック錠(100 mg) 3錠 分3 食後

高乳酸血症(血漿中乳酸値が40 mg/dL以上の場合)では、腎尿細管での尿酸排泄が競合阻害を受けるため高尿酸血症の合併が多い。

C. ウラリット錠(100 mg) 6錠 分3 食後

尿をアルカリ化し尿酸排泄を促す。

D. ハイシー細粒(250 mg/包) 2,000 mg 分2

フリーラジカルのスカベンジャー。生体内で酸化還元反応に関与し他酵素を活性化する。ストレスに対する抵抗力を増加させる。血管内皮機能の改善としての効果あり。副作用に悪心、嘔吐などがある。

E. ノイキノン錠(10 mg) 9錠 分3 食後

電子伝達系供与体。

F. アリナミンF錠(25 mg) 9錠 分3 食後

ピルビン酸脱水素酵素の補酵素としての賦活作用。

G. エルカルチン錠(300 mg) 3錠 分3 食後

炭素数8以上の中鎖および長鎖脂肪酸の膜透過を助長し、エネルギー産生系を活性化する。

H. ユベラN(カプセル)(100 mg) 1錠 分1 朝食後

フリーラジカルのスカベンジャー。ミトコンドリアなどの生体膜を安定化させ、血管壁の透過性や抵抗性を改善する。また末梢血行を促すとともに、血小板粘着・凝集能を抑制して微小循環系の動態を改善する。体内で強力な抗酸化作用を示し、過酸化脂質の精製を抑制する。

I. バイアスピリン(100 mg) 1錠 分1 食後

血小板に作用して抗凝固作用を期待する。

J. ピルビン酸ナトリウム 工業用試薬

ミトコンドリア異常症の cytopathy を予防する唯一の化合物と考えられる。図6にピルビン酸ナトリウムの作用

機序を示す⁵⁾。ミトコンドリア異常症では、ATP産生不足により細胞のアポトーシスが進行し、最終的には Leigh 脳症に代表される重要細胞の脱落変性が生じる。特に、高乳酸血症が重度で L/P 比が25.6以上になる患者では、解糖系の ATP 合成も完全にストップする。このため、このアポトーシスが急速に進行し、中枢神経系細胞の脱落変性も進行すると考えられる。この化合物は、ジクロロ酢酸同様、ピルビン酸脱水素酵素複合体(PDHC)を最大限に活性化させる働きの他に、レドックスステートを25以下に温存し、解糖系の ATP 合成をレストアする働きがあり、アポトーシスを予防すると考えられる。ピルビン酸ナトリウムという工業用特級試薬を、ミトコンドリア脳筋症に合併する高乳酸血症の治療薬として開発するプロジェクトは、平成24年4月1日付けで厚生労働省難治疾患等克服研究事業の重点領域研究(主任研究者:古賀靖敏)として採択された。試薬からの医薬品開発として、また、アルギニンの MELAS に対する治療法と同様、日本から世界に発信できる新しい治療法として世界から注目されている^{7~9)}。

文 献

- 1) Koga Y, Akita Y, Nishioka J, et al. L-arginine improves the symptoms of stroke-like episodes in MELAS. *Neurology*. 2005 ; 64 : 710-2.
- 2) Koga Y, Akita Y, Nishioka J, et al. Endothelial dysfunction in MELAS was improved by L-arginine supplementation. *Neurology*. 2006 ; 66 : 1766-9.
- 3) Pfeffer G, Majamaa K, Turnbull DM, et al. Treatment for mitochondrial disorders. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 ; 4 : CD004426.
- 4) Kaufmann P, Engelstad K, Wei Y, et al. Dichloroacetate causes toxic neuropathy in MELAS: a randomized, controlled clinical trial. *Neurology*. 2006 ; 66 : 324-30.
- 5) Tanaka M, Nishigaki Y, Fuku N, et al. Therapeutic potential of pyruvate therapy for mitochondrial diseases. *Mitochondrion*. 2007 ; 7 : 399-403.
- 6) Koga Y, Povalko N, Katayama K, et al. Molecular pathology of MELAS and l-arginine effects. *Biochim Biophys Acta*. 2012 ; 1820 : 608-14.
- 7) Saito K, Kimura N, Oda N, et al. Pyruvate therapy for mitochondrial DNA depletion syndrome. *Biochim Biophys Acta*. 2012 ; 1820 : 632-6.
- 8) Koga Y, Povalko N, Katayama K, et al. Beneficial effect of pyruvate therapy on Leigh syndrome due to a novel mutation in PDH E1 α gene. *Brain Dev*. 2012 ; 34 : 87-91.
- 9) Komaki H, Nishigaki Y, Fuku N, et al. Pyruvate therapy for Leigh syndrome due to cytochrome c oxidase deficiency. *Biochim Biophys Acta*. 2010 ; 1800 : 313-5.

ミトコンドリア病

—アルギニン療法, ピルビン酸ナトリウム療法など—

古賀靖敏*

はじめに

ミトコンドリア病の根本治療は、ミトコンドリア機能障害を正常化することである。しかし、医学研究が進んだ今日においても、本症を治療適応として承認された薬剤は存在しない¹⁾。世界で開発中のミトコンドリア病の治療介入治験は、数薬剤が存在するが、いまだにランダム化二重盲検プラセボ対照比較試験などエビデンスレベルの高い結果は出ていず、現在は専門家のオピニオンを中心とした治療が行われている。ミトコンドリア病に対し現在使用されている薬剤もしくは試薬をホームページに示す(久留米大学医学部小児科ホームページのミトコンドリア病パンフレット:<http://www.ped-kurume.com/pdf/mitochondria.pdf>)。しかし、そのエビデンスレベルはいずれもレベル4 (expert opinion) と低く、治験を経たものは1剤もない。ここでは、現在、日本で開発中の治療薬2剤について紹介する。

I. MELAS に合併する血管内皮機能障害に対する L-アルギニン療法

機能低下を起こしたミトコンドリアでは、酸化ストレスにより活性酸素物質が蓄積する。異常な

ミトコンドリアが集積している脳の中小動脈の血管平滑筋細胞および血管内皮細胞では、その血管内皮機能の機能異常が起こっていると考えられる。中小動脈の血管拡張機能は、血管内皮に存在する NO 合成酵素の活性に依存し、その基質は L-アルギニンである。L-アルギニンにより産生された NO は、電子伝達系機能不全を伴う MELAS 患者では、活性酸素の蓄積により NO が減衰し、また、もともと存在する電子伝達系酵素欠損により、redox potential に異常をきたし、NADH 過剰状態から NO 合成酵素の反応を補酵素のレベルで抑制すると考えられ、結果的には血管内皮機能不全に陥る²⁾(図 1)。MELAS 患者の脳卒中様発作時は、NO の基質であるアルギニンの低値があることから、患者ではさらに血管の拡張能が低下する。脳卒中様発作急性期症状に対する L-アルギニンの効果は、脳血管内皮細胞における eNOS の NO 産生量を増加させて cGMP 濃度を上げることにより、脳の中小動脈の正常な血管生理機能を回復させ、虚血部位における血流を改善させることにより発現すると思われる³⁾(図 2)。MELAS 患者の脳卒中様発作発現時における NO の供与体である L-アルギニンの投与は、低下している血中 L-アルギニン濃度を上昇させ、脳の小中動脈の急性虚血性障害を著明に改善する⁴⁾。MELAS 患者に対する L-アルギニン投与は、MELAS 患者の卒中様急性期だけでなく、発作間歇期の予防にもきわめて有効な治療法であると考えられる。脳卒中様発作急性期には、L-アルギニン・HCl 10%溶液(アルギ U 注[®])で 5 mL/kg/時 (0.5 g/kg) を 1 時間かけて静注投与する。発

Koga Yasutoshi

* 久留米大学医学部小児科

(〒830-0011 久留米市旭町 67)

TEL 0942-31-7565 FAX 0942-38-1792

E-mail : yasukoga@med.kurume-u.ac.jp

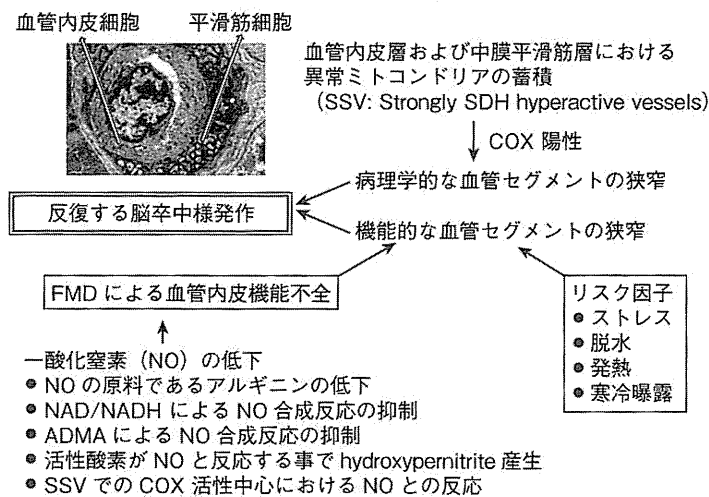


図1 MELASの脳卒中様発作の病態 (Kogaら⁴⁾, 2012)

MELASでは、血管内皮層および中膜平滑筋層における異常ミトコンドリアの蓄積がSSVとして報告され、病理学的な血管セグメントの狭窄が存在する。また、脳卒中様発作時にはNOの基質であるアルギニンの低下、レドックス状態が酸化型に傾くことでのNAD/NADHによるNO合成反応の抑制、活性酸素蓄積によるNOの減衰などが相まって、血管内皮依存性動脈拡張力の低下として働く。

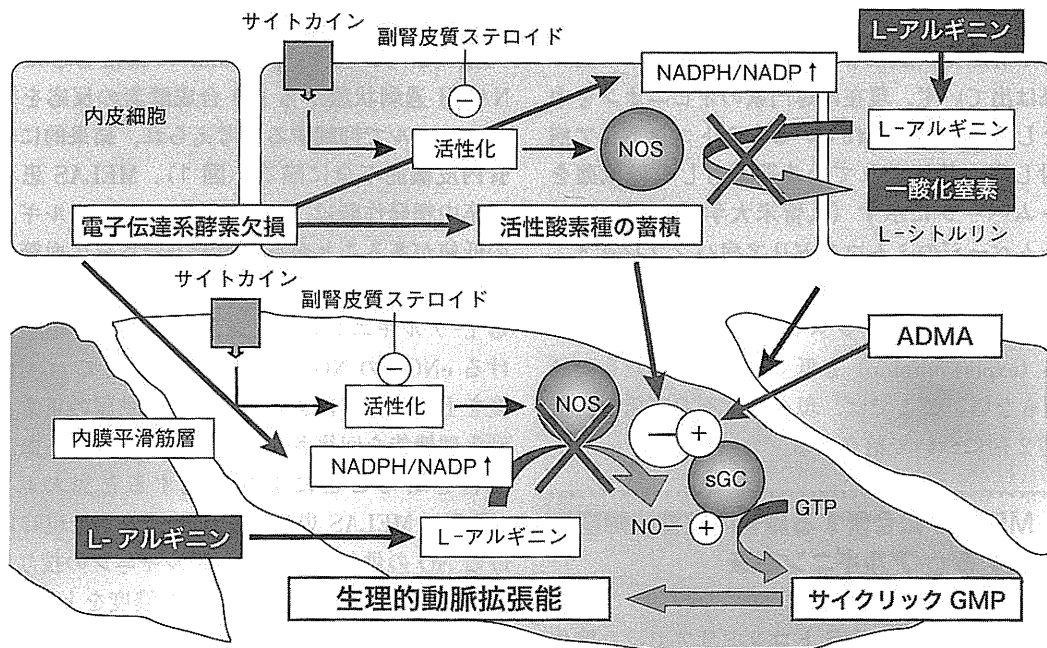


図2 MELAS脳卒中様発作に対するアルギニン治療
アルギニンの効果発現のスキームを示す。

作寛解期には、発作の予防および重症度の軽減目的に内服療法を行う。用法用量は、0.3~0.5 g/kg/日を分3で内服投与し、血漿中のL-アルギ

ニンのトラフ値を100 μmol/L以上に維持する。頻回の脳卒中様発作を起こしている患者では、上記投与量を1日4~6回に分けて服薬し、トラフ