

に有用である。

 文献

- 1) DiMauro S, *et al.*: A critical approach to the therapy of mitochondrial respiratory chain and oxidative phosphorylation diseases. *Biochim Biophys Acta* **1792**: 1159-1167, 2009
- 2) Spinazzola A, *et al.*: Disorders from perturbations of nuclear-mitochondrial intergenomic cross-talk. *J Intern Med* **265**: 174-192, 2009
- 3) DiMauro S, Schon EA: The mitochondrial respiratory chain and its disorders. In: DiMauro S, Hirano M, Schon EA, ed. *Mitochondrial Medicine*. Informa

HealthCare pp7-26, 2006

- 4) Suomalinen A, *et al.*: FGF-21 as a biomarker for muscle-manifesting mitochondrial respiratory chain deficiencies: a diagnostic study. *Lancet Neurol* **10**: 806-818, 2011
- 5) Yatsuga S, *et al.*: Biomarker X as a new biomarker for muscle-manifesting mitochondrial respiratory chain deficiencies. (in preparation)
- 6) 埜中征哉: 臨床のための筋病理第2版. 日本医事新報社, 2002

古賀靖敏

久留米大学医学部小児科

1

ミトコンドリア代謝異常症のトピックス

ミトコンドリア代謝異常症の進歩とトピックスとして、次の3点が挙げられる。第一は、遺伝子解析手法の進歩により、ミトコンドリアDNAの新規変異に加えて、呼吸鎖活性に関連する多くの核の遺伝子異常が同定されたこと、第二は、ミトコンドリアの機能に直接影響する新たな核の遺伝子群が同定されたことである。これにより、従来のミトコンドリア病の病態・疾患体系を根本から変えなければいけない新しい概念の提唱につながった。第三は、ミトコンドリア病に対する薬物治療の開発が進んできたことである。

ミトコンドリア呼吸鎖異常の
病因となる新規遺伝子変異の同定

遺伝子解析技術の進歩により、ミトコンドリアDNAの新規変異に加えて、呼吸鎖活性に関わる多くの核の遺伝子変異が同定されるようになった。図1に現在までに報告された主なミトコンドリアDNAの病因となる遺伝子異常を示す¹⁾。Mitomap (<http://mitomap.org/MITOMAP>)²⁾によれば、rRNA/tRNA mutationsとしては300種、coding and control regionの点変異としては277種の病因遺伝子変異が登録されている。登録されている病型も多岐にわたり、新たなミトコンドリアDNA異常症の亜型が提唱された(表1)。一方、human

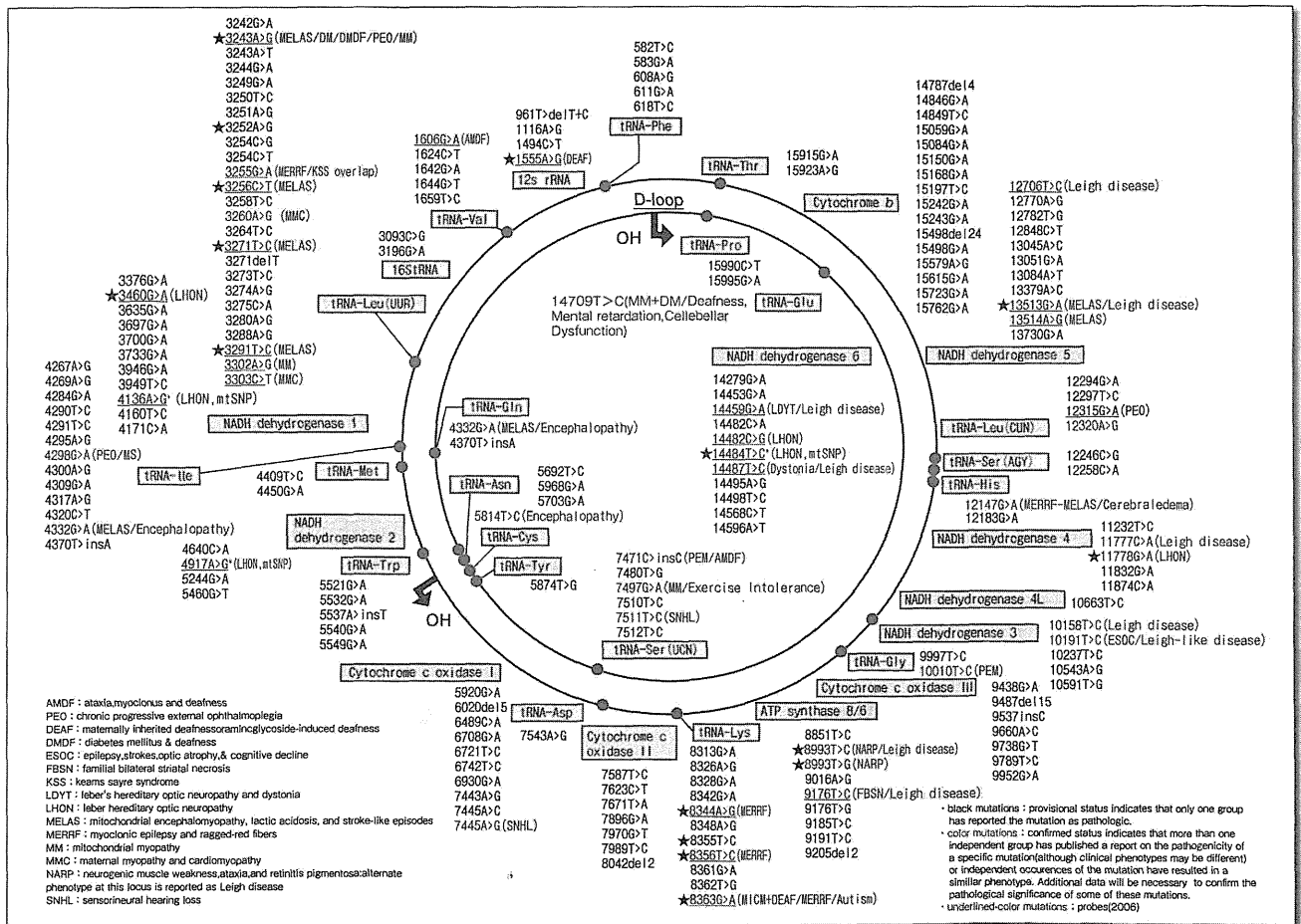


図1 疾患原因として報告されたミトコンドリアDNAの変異 (西垣 裕博士提供)

(Nishigaki Y, et al.: Extensive screening system using suspension array technology to detect mitochondrial DNA point mutation. *Mitochondrion* 10: 300-3008, 2010 より改変)

表 1 新たに提唱されたミトコンドリア DNA 異常症の亜型

LHON	Leber Hereditary Optic Neuropathy	MM	Mitochondrial Myopathy
AD	Alzheimer's Disease	LIMM	Lethal Infantile Mitochondrial Myopathy
ADPD	Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease	MMC	Maternal Myopathy and Cardiomyopathy
NARP	Neurogenic muscle weakness, Ataxia, and Retinitis Pigmentosa; alternate phenotype at this locus is reported as Leigh Disease	FICP	Fatal Infantile Cardiomyopathy Plus, a MELAS-associated cardiomyopathy
MELAS	Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like episodes	LDYT	Leber's hereditary optic neuropathy and DYsTonia
MERRF	Myoclonic Epilepsy and Ragged Red Muscle Fibers	MHCM	Maternally inherited Hypertrophic CardioMyopathy?
CPEO	Chronic Progressive External Ophthalmoplegia	KSS	Kearns Sayre Syndrome
DM	Diabetes Mellitus	D MDF	Diabetes Mellitus + Deafness?
CIPO	Chronic Intestinal Pseudoobstruction with myopathy and Ophthalmoplegia	DEAF	Maternally inherited DEAFness or aminoglycoside-induced DEAFness
PEM	Progressive encephalopathy	SNHL	SensoriNeural Hearing Loss
Leigh/ MILS	Leigh encephalomyelopathy/ maternary inherited Leigh syndrome	Pearson	Pearson bone-marrow pancreas syndrome

genome project から多くの未知の核遺伝子が発見され、作成されたノックアウト動物モデルの病態解析から、新規の遺伝子群がミトコンドリア機能に関与することがわかってきた。その主なものを図 2 に示す³⁾。まずは、電子伝達系酵素に属する核のサブユニットの解明である。複合体 (complex)1 は、少なくとも 45 個もの酵素複合体であり、ミトコンドリア DNA 由来の 7 個のサブユニットと核由来の 7 個のサブユニットがコアタンパクとして働き、残り 31 個の核由来のサブユニットは端役として働く。さらには、少なくとも 13 種のアセンブリータンパクの存在が想定されている⁴⁾。この領域の遺伝子変異では、臨床的には致死型乳児ミトコンドリア病 (LIMD)、Leigh 脳症、MELAS、LHON (Leber hereditary optic neuropathy)、ミトコンドリア心筋症、白質ジストロフィーなどが報告されている。複合体 2 は、4 個の構造遺伝子がすべて核の遺伝子支配を受け、さらに 2 種のアセンブリータンパクが存在する。この領域の遺伝子変異では、致死型乳児ミトコンドリア病 (LIMD: lethal infantile mitochondrial disease)、Leigh 脳症、常染色体優性遺伝を取る傍神経節腫 (paraganglioma) や褐色細胞腫 (pheochromocytoma) などが報告されている。複合体 3 は、ミトコンドリア DNA 由来の 1 個のサブユニットと核由来の 2 個のサブユニットがコアタンパクとして働き、3

種のアセンブリータンパクが存在する。この領域の遺伝子変異では、小眼球症や皮膚形成不全、ジストニアを伴う乳酸アシドーシス、新生児ミトコンドリア病、Leigh 脳症、GRACILE 症候群などの報告がある。複合体 4 は、ミトコンドリア DNA 由来の 3 個のサブユニットと核由来の 10 個のサブユニットがコアタンパクとして働き、9 種のアセンブリータンパクが存在する。この領域の遺伝子変異では、主に新生児ミトコンドリア病もしくは Leigh 脳症を呈する。複合体 5 は、ミトコンドリア DNA 由来の 2 個のサブユニットと核由来の 14 個のサブユニットがコアタンパクとして働き、2 種のアセンブリータンパクが存在する。この領域の遺伝子変異では、主に新生児ミトコンドリア病を呈する。アセンブリータンパクの TMEM70 の異常では、高アンモニア血症や 3-メチルグルタコン酸尿症をきたす点が、興味深い。

ミトコンドリア機能に影響する 新規遺伝子の同定

① ミトコンドリアの品質管理、マイトファジー

ミトコンドリアは、主要な細胞内エネルギー合成の場であるとともに、一連のプログラム細胞死 (アポトーシス) をも担う、細胞の生死にとって非

常に重要な細胞内小器官である。細胞にとって“ミトコンドリアの品質”を維持することは、細胞全体の機能を維持することにつながる。エネルギー産生の際であるミトコンドリアは、同時にATP生成の際に生じた活性酸素種(ROS)の蓄積部位でもある。通常ROSは、抗酸化経路により除去されるが、何らかの理由で除去されなかったROSがミトコンドリアゲノムDNA(mtDNA)、脂質、タンパク質などをランダムに攻撃し、ミトコンドリアの機能障害(ミトコンドリア膜電位の低下)を引き起こすことも考えられる。この機序が証明された病態が、若年性常染色体性劣性パーキンソン病である。障害されたミトコンドリアを除去し、健全なミトコンドリア集団を維持するために、PINK1/Parkin 依存的なマイトファジーが必要であるとの仮説が提唱された⁵⁾。すなわち、PINK1/Parkin が「ミトコンドリアの品質管理」を

担っているという考えである。ミトコンドリアの品質管理の分子機構には、タンパク質の品質管理を担うユビキチン・プロテアソーム経路とオートファジー(マイトファジー)経路が関与していると推測される。ダメージを受けたミトコンドリアをPINK1/Parkin が積極的に駆除することは、神経細胞などのように高度に分化し簡単に交換が望めない細胞にとって有用であると考えられる。障害があるミトコンドリアが細胞全体の環境を悪化させる前に積極的に駆除されるシステムは、細胞の生存にとって重要な品質管理機構であると考えられる。

2 mtDNA の維持複製に関わる核の遺伝子群とその異常

約16kbの環状DNAの構造を有するミトコンドリアゲノムは、電子伝達系の酸化的リン酸化によ

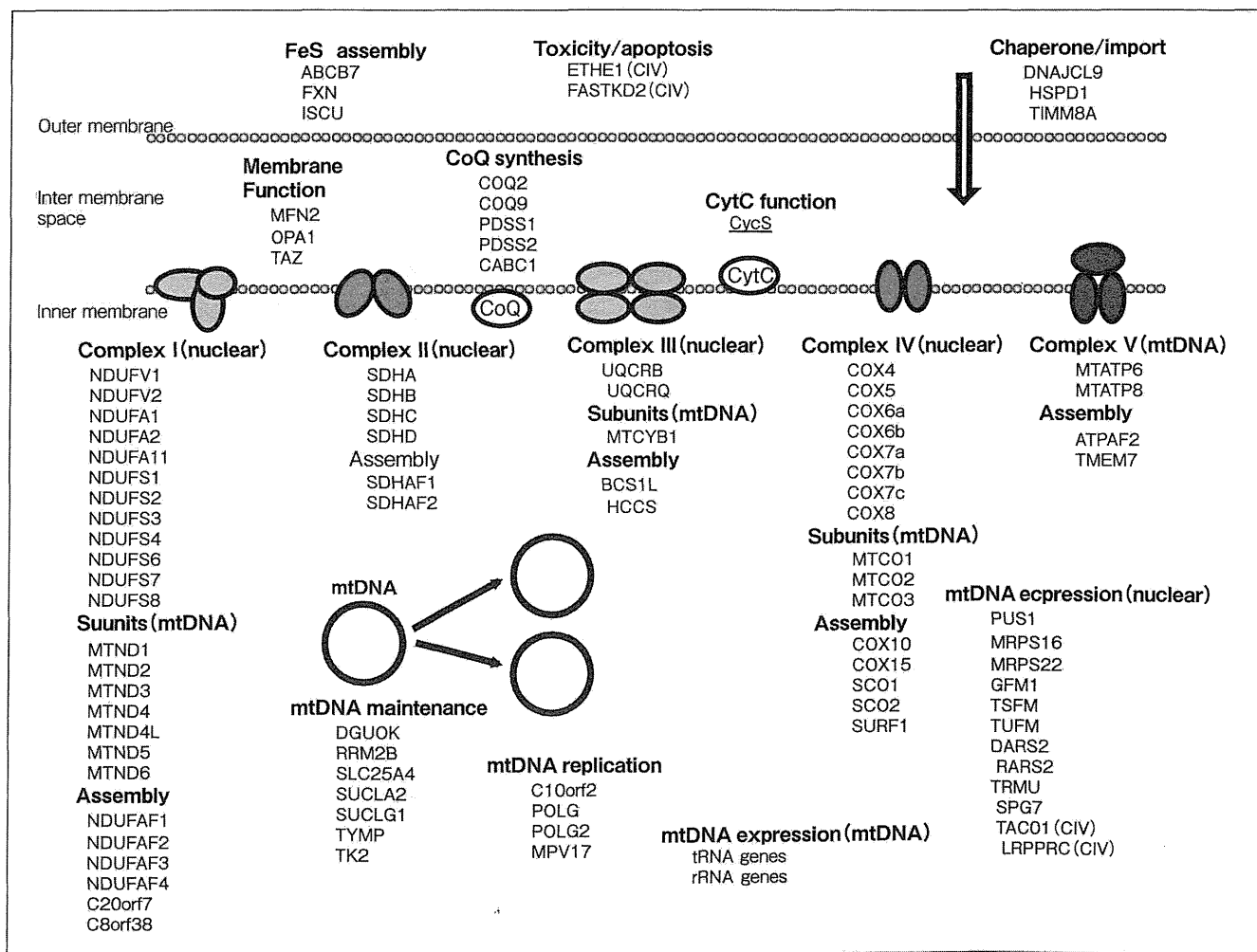


図2 ミトコンドリア病関連遺伝子異常

(Tucker EJ, et al: Recent advances in the genetics of mitochondrial encephalopathies. *Curr Neurol Neurosci Rep* 10: 277-285, 2010 より引用)

る好氣的 ATP 合成に必須である。ミトコンドリアは細胞内最大の生理的活性酸素発生源と考えられ、そのためミトコンドリア DNA は核よりも強い酸化障害を受けている。ミトコンドリア DNA の維持には、ミトコンドリア転写因子 A (mitochondrial transcription factor A : TFAM) が多機能な役割を果たしていることが分子レベル、細胞レベルで明らかになっている。また、個体レベルにおいても体細胞ミトコンドリア DNA の維持は重要であり、その複製には核 DNA と異なり、読み間違いの多い DNA polymerase γ (POLG) を使用する。最近、多くのミトコンドリア病で、POLG の変異が報告された(図 3)⁶⁾。臨床的には、5つの表現型に大別される。①ミトコンドリア DNA 枯渇症候群 (Alpers 型)、②ミトコンドリア DNA 枯渇症候群 (MNGIE 型)、③ミトコンドリア

失調症 (SANDO 型もしくは SCAE 型)、④常染色体性優性外眼筋麻痺、⑤常染色体性劣性外眼筋麻痺。

3 ミトコンドリア内核酸プールの異常をきたす遺伝子群とその異常

最近、ミトコンドリア DNA の欠失、枯渇、多くの異なる点変異を持つミトコンドリア病患者で核酸のヌクレオチドプールに異常をきたす核遺伝子の変異が多く報告されてきた⁷⁾。ミトコンドリア内で核酸合成に必要な核遺伝子を図 4 に示す。臨床的には、患者の 6 割で乳児期早期の重症肝不全を呈しており、経過とともに筋力低下、筋緊張低下、成長障害、低血糖がみられる。ミトコンドリア呼吸鎖の複数の活性低下がみられた場合、サザンプロットで mtDNA の量が正常化を調べる

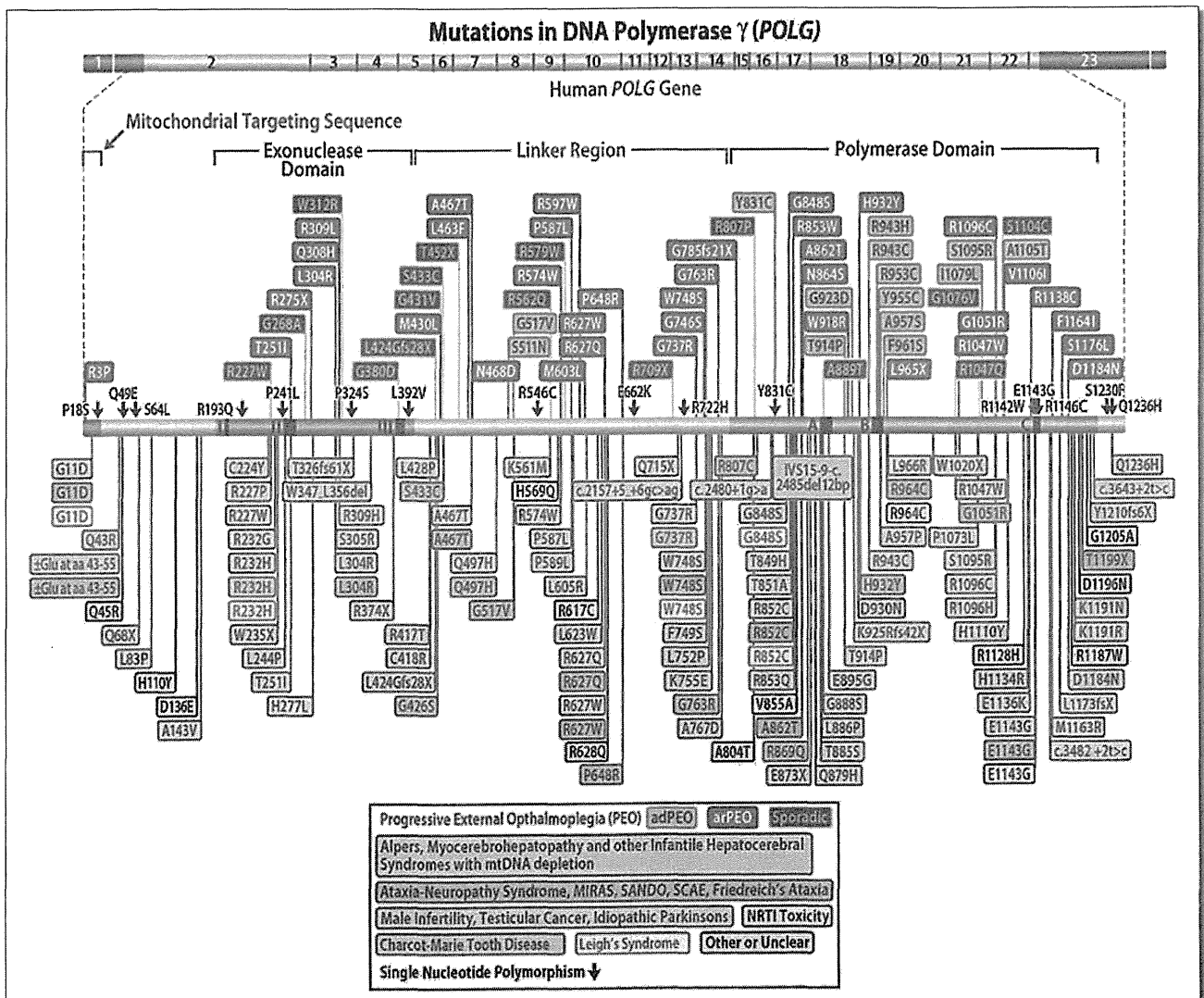


図 3 DNA ポリメラーゼ γ の変異地図
Human DNA Polymerase Gamma Mutation Database (<http://tools.niehs.nih.gov/pdg/>) より。

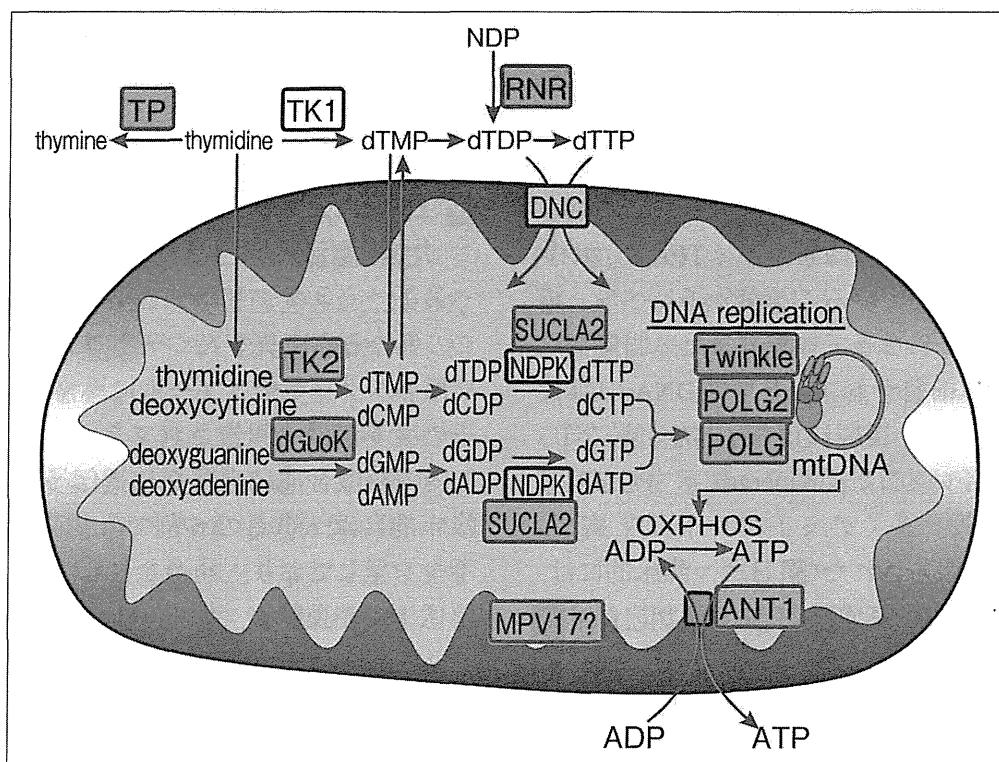


図4 ミトコンドリア内核酸プールの異常をきたす遺伝子群

Twinkle: Twinkle, POLG2: the accessory subunit of pol γ , POLG: DNA polymerase gamma, ANT1: adenine nucleotide translocator 1, SUCLA2: succinyl-coa synthetase, TK2: mitochondrial thymidine kinase, dGuoK: deoxyguanosine kinase, TP: thymidine phosphorylase, RNR: p53-inducible ribonucleotide reductase

ことが重要である。

か今後の研究の進展が待たれる⁹⁾。

4 ミトコンドリアの形態形成に関わる遺伝子の発見

ミトコンドリアの形態は、その膜電位により、分裂と融合を繰り返していることが明らかにされてきた。最近、ミトコンドリアの形態形成に関与する遺伝子が明らかになった(表2)⁸⁾。融合と分裂を介した細胞内のミトコンドリアネットワークの制御は、それぞれの細胞機能維持、発生・分化に必須の機能をもつことが明らかになりつつある。しかし、これらの研究はまだ始められたばかりであり、現在のところ、融合はどのようにミトコンドリア機能維持に関与するのか、分裂の多様な組織における生理機能、アポトーシスにおける融合・分裂因子の機能など、多くの疑問が残されている。ミトコンドリアの動的な構造変化がミトコンドリアの品質管理に重要な機能をもつことに大きな注目が集められつつあり、Parkinson病をはじめ、ヒトの病気とどのようにかかわりがあるの

ミトコンドリア脳筋症の 治療薬開発の現況

1 外国の臨床試験レジストリーにみる治療薬開発の現況

ミトコンドリア脳筋症を治療適応とする治療薬は世界に存在しない。図5にミトコンドリア脳筋症に対して適応外使用されている医薬品および試薬を示す。しかしながらいずれの薬剤も治療の適応承認がない。

2 MELAS に対する治療法開発

1. MELAS における血管内皮機能不全の証明 (図6)

患者における血管内皮機能に関わる種々の因子を検討した。血管拡張の生理機能でNO産生に影響するアルギニン、シトルリン、NO_x、およびcGMPについて、MELAS患者の脳卒中様発作急

表2 ミトコンドリアの形態形成に関する遺伝子

機能	名称	局在	機能と構造
融合	Mft/Fzo	外膜	GTPase, 融合, C末端コイルでミトコンドリア繫留
	Ugo1	外膜	Fzo1/Mgm1と結合, 融合
	OPA1/Mgm1	膜間スペース/内膜	ダイナミン様GTPase, 融合, クリステ構造形成
	Mdm30	細胞膜/ミトコンドリア	F-box, 融合, Fzo1の安定性に関与
	Pcp1	内膜	ロンボイド様プロテアーゼ, Mgm1を切断
分裂	Drp1/Dnm1	細胞膜/ミトコンドリア	ダイナミン様GTPase, 分裂
	Fis1	外膜	TPR様ドメイン, 分裂, DNM1の受容体
	Mdv1	外膜	WD40モチーフ, 分裂, DNM1の受容体
	Sumo	細胞膜/ミトコンドリア	Ubc9によりDrp1を修飾
	Endophilin B1	細胞膜/ミトコンドリア	BARドメイン, アシル基転移酵素, 外膜分裂?
	Mdm33	内膜	C末端に2つのTM, 内膜構造形成, 内膜分裂?
形態形成	Mmm1	外膜-内膜	変異でミトコンドリアの球状化, Mdm10らと複合体
	Mmm2	外膜	変異でミトコンドリアの球状化, Mmm1と遺伝的関与
	Mdm10	外膜	変異でミトコンドリアの球状化, Mdm12らと複合体
	Mdm12	外膜	変異でミトコンドリアの球状化, Mdm10らと複合体
	Mdm31	内膜	MTS, 2つのTM, Mdm32と酷似, Mmm1らと合成致死
	Mdm32	内膜	MTS, 2つのTM, Mdm31と酷似, Mmm1らと合成致死
	LETM1/Mdm38	内膜	TM, EFバンド, K ⁺ ホメオスタシス
	Miro/Gem1	外膜	C末端にTM, GTPase, EFバンド
	Mitofilin	膜間スペース/内膜	MTS, TM, 内膜構造形成
	MTP18	ミトコンドリア	抑制でミトコンドリアネットワーク活性化, 分裂?
	DAP3	ミトコンドリア	GTPase, 過剰発現でミトコンドリア断片化, 分裂?

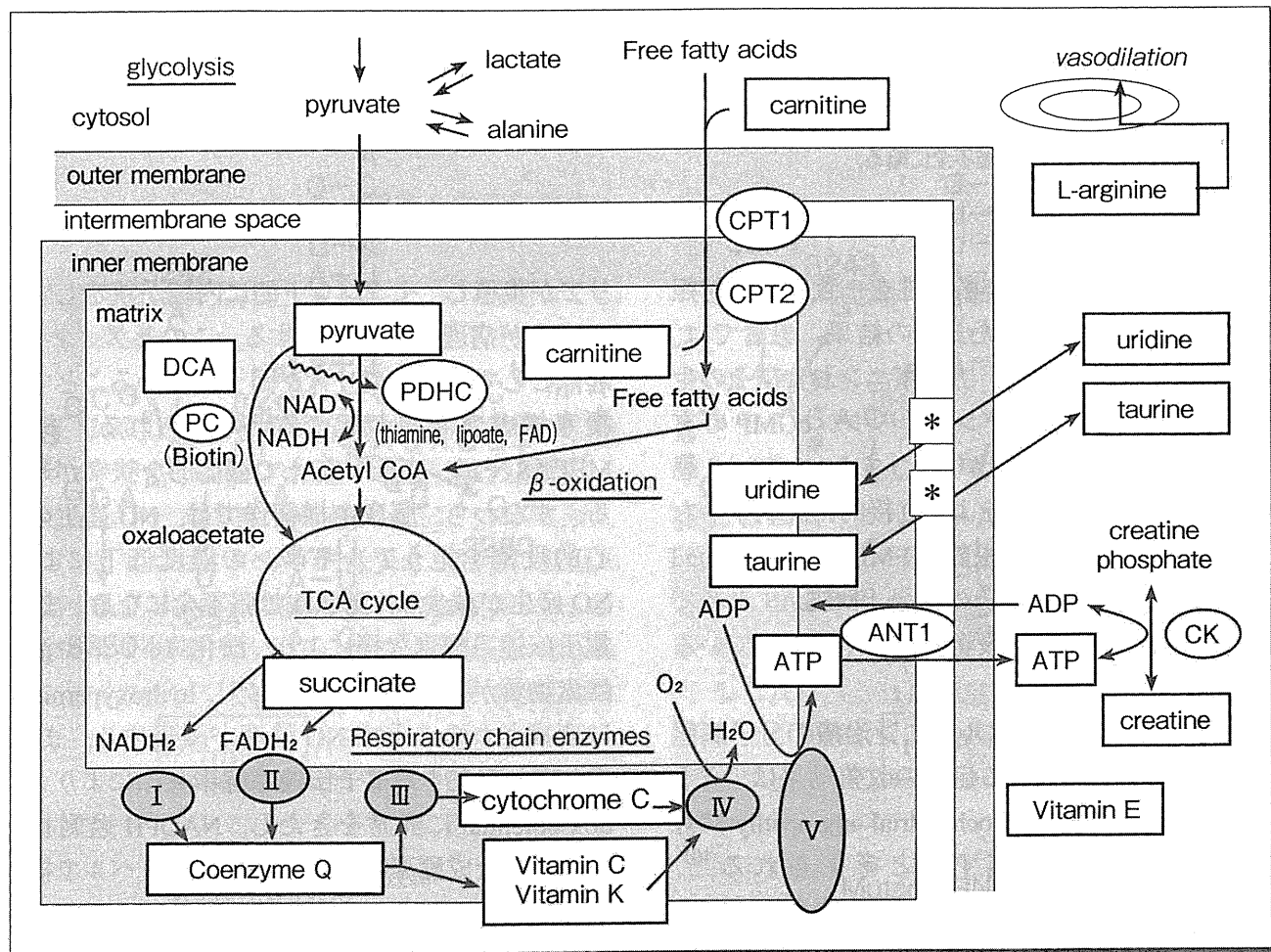


図5 ミトコンドリア脳筋症に使用されている医薬品および試薬

細胞内小器官であるミトコンドリアにおける代謝図とミトコンドリア脳筋症に対して使用を推奨されている医薬品および試薬を口で示す。種々の臨床研究が行われているが、治験を経て効能を検証できた医薬品はない。

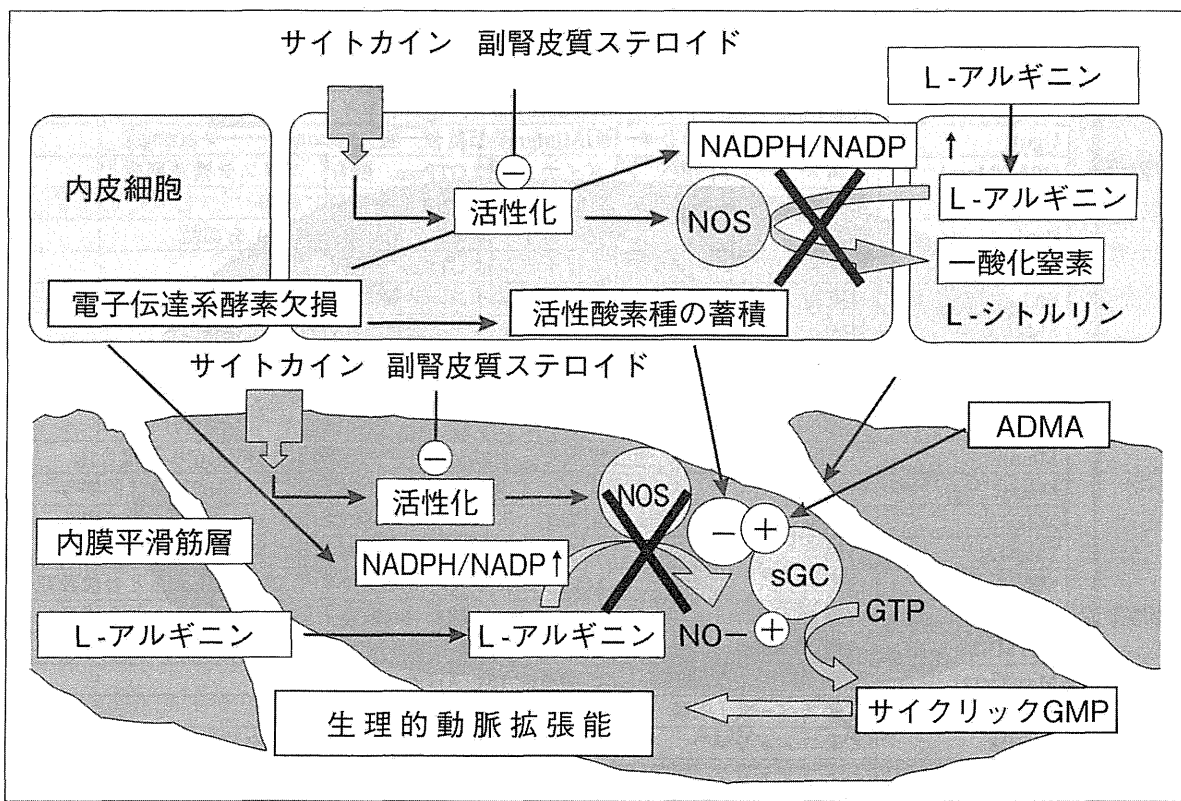


図6 MELASにおける血管内皮機能不全

脳卒中様発作では、NO産生の中心的役割を担うアルギニンの濃度低下により、NO産生が減少し、動脈が拡張不全になる。また、電子伝達系酵素欠損により、酸化ストレスや活性酸素物質が蓄積し、NOと反応し hydroxypemnitrite に変換されることでNO濃度が減衰する。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、NADPH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る。さらには、相対的に増加したADMA (asymmetrical dimethylarginine) によりNO合成酵素活性がさらに低下し、結果的には血管内皮機能不全に陥る。

性期と寛解期、および年齢・性を一致させた対照群の3群で比較検討した。その結果、患者では、脳卒中様発作急性期は、アルギニンおよびその生成物であるNOxおよびシトルリン、cGMPの有意な低下がある事を見出した。また、MELAS患者で血管内皮機能不全をより直接的に証明するために、NO依存性動脈拡張能をFMD (flow-mediated dilatation) で検証した。その結果、MELAS患者では、例外なく血管内皮機能が著しく低下していることを証明した。

2. MELASにおけるアルギニン治療の分子病態

アルギニン治療による症状の改善効果は、ミトコンドリア血管障害 mitochondrial angiopathy に対する治療効果で発現すると考えられる¹⁰⁾。MELASにおける血管障害の分子病態を以下に示す。MELAS患者の脳内中小動脈の中膜平滑筋細胞層および、血管内皮細胞層では、筋での赤ボロ線維 (ragged-red fiber) と同様に異常なミトコンド

リアが集積し、セグメント的に内腔が狭窄している部分が病理学的に存在する。このセグメントを起点として何らかのリスク因子が加わることで脳梗塞様虚血発作が起こると考えられる。また、MELASでは、上記に加えて機能的な狭窄が起こる。すなわち、脳卒中様発作では、NO産生の中心的役割を担うアルギニンの濃度低下により、NO産生が減少し、動脈が拡張不全になる。また、電子伝達系酵素欠損により、酸化ストレスや活性酸素物質が蓄積し、NOと反応し hydroxypemnitrite に変換されることでNO濃度が減衰する。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、NADPH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る。さらには、相対的に増加したADMA (asymmetrical dimethylarginine) によりNO合成酵素活性がさらに低下し、結果的には血管内皮機能不全に陥る。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。実際、急性期にアルギニンを投与する事で、脳内での乳酸の蓄積を回避したという報告が成された。MELAS 患者に対する L-アルギニン投与は、MELAS 患者の卒中様発作急性期だけでなく、発作間歇期の予防にも極めて有効な治療法と考えられる。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/hr(0.5 g/kg)を 1 時間かけて静注投与する。発作寛解期には、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/day 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 150 μ mol/L 以上に維持する。頻回の脳卒中様発作をおこしている患者では、上記投与量を一

日 4 ~ 6 回に分けて服薬し、トラフ値が 150 μ mol/L 以下にならないように用法用量を調節する必要がある。

3. MELAS に対するタウリンの開発研究

MELAS にミトコンドリア DNA の *tRNA^{Leu(UUR)}* 遺伝子 A3243G 変異が報告されて以来、これまで 30 種以上の MELAS 関連遺伝子変異が報告されている。2001 年になり、*tRNA^{Leu(UUR)}* 遺伝子の機能異常に、アンチコドンのタウリン修飾が欠損している事が報告された(図 7)¹¹⁾。この新たな分子病態の発見の端緒となったのが、MELAS の細胞モデルの開発である。この細胞モデルは、MELAS 患者から単離した培養皮膚線維芽細胞を脱核した細胞質と、エチジウムプロマイドで長期間処理しミトコンドリア DNA を完全に消失させた HeLa 細胞由来の細胞(ρ ゼロ細胞)とを人工的に細胞融合させることにより作製された(ρ ゼロ Cybrid システム)。なお、正常対照群は、同じ

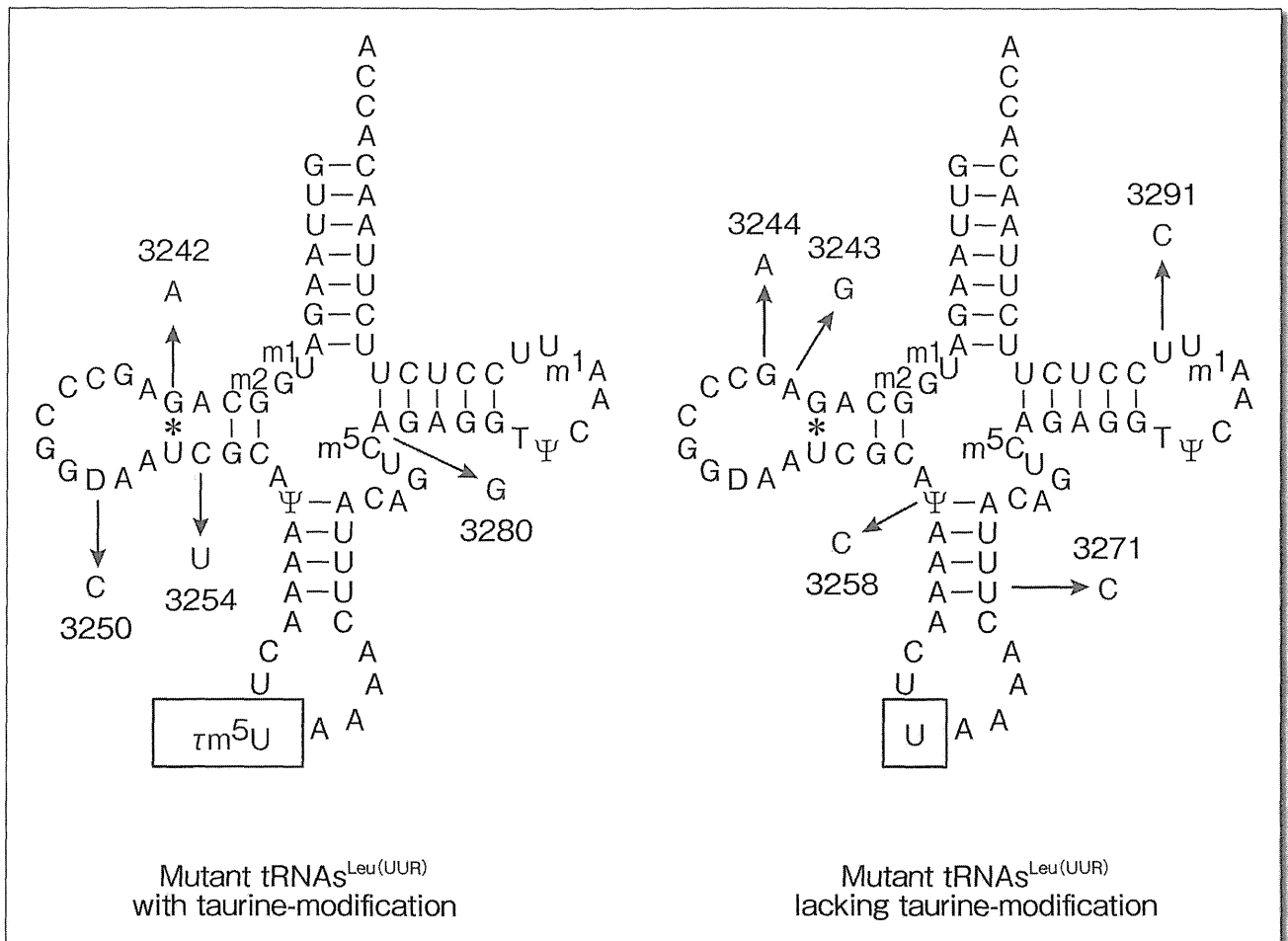


図 7 ミトコンドリア *tRNA* 遺伝子変異とタウリン修飾異常

ミトコンドリア脳筋症で報告された、病的なミトコンドリア *tRNA* 遺伝子変異の多くは、結果的に wobble 位のタウリン修飾が障害される。左図に示す塩基置換は、タウリン修飾異常を伴わず、右図に示した病的変異は、タウリン修飾が欠落する。

MELAS 患者由来で完全に正常型の $tRNA^{Leu(UUR)}$ 遺伝子を持つものとし、この両者で機能解析を行った。MELAS の細胞モデルでは、正常対照群と比較して著明にミトコンドリア酸素消費量が低下しており、遺伝子ではコードされていないアンチコドンのタウリン修飾が欠損していた。この機能不全は、タウリン(40 mM)を添加することにより有意に酸素消費量の低下が改善した。一方、正常対照群ではタウリンによる影響は認められなかった。また、培養液中の L-メチオニン(タウリン中間体)及び L-システイン(タウリン前駆体)の量を制限した条件下では、MELAS の細胞モデルにおいて、タウリンは低下したミトコンドリア酸素消費量を濃度依存的に改善し、0.3 mM で有意な作用を示した。したがって、MELAS ではタウリン修飾欠損が蛋白質合成障害を惹起すること、また、タウリンを添加することで、機能が回復できることを分子生物学的に示した。以上の情報から、自主臨床研究として、MELAS 患者 2 例にタウリン投与を行ったところ、反復していた脳卒中様発作が 9 年以上にわたって完全に抑制されたと報告された。この情報を踏まえて、MELAS の脳卒中様発作を予防するためのタウリン治験が、平成 24 年厚生労働省科学研究難治疾患等克服研究事業重点研究に採択され、平成 25 年 7 月より実働となった。MELAS の遺伝子異常におけるタウリン修飾機構は、遺伝子異常の発見からその分子病態まで、日本人が先駆的に発見した知見であり、治療法が開発できれば、世界に誇れる日本人による臨床研究成果と期待される。

ピルビン酸ナトリウム (試薬) からの 治療薬の開発研究

1 高乳酸血症の治療の重要性

ミトコンドリア病は、電子伝達系酵素障害を伴い、その多くは高乳酸血症を呈する。その ATP 合成不全により起こる種々の細胞障害を mitochondrial cytopathy と総称する。臨床的には重要臓器における細胞障害が細胞死を惹起し、さらなる機能不全をきたす。MELAS における自然歴研究で、高乳酸血症についての興味深い報告がある。つまり、側脳室における髄液の乳酸値は MELAS

の病気の進行とともに高度に蓄積し、かつ、髄液の乳酸値が高値である症例群で平均余命が有意に短縮した。このことから、高乳酸血症の程度が病気の予後と深い関係があり、髄液中の乳酸値を下げることで、細胞死を抑制し、MELAS での QOL を改善する可能性があり、ひいては、ほかの同様の代謝病態を有するミトコンドリア病でも治療的改善が見込まれることが示された。

2 高乳酸血症の治療の意義

次に、高乳酸血症を治療することで、臨床症状がどのように改善するのか？ 治療することの意義について、重要な報告が成された。ヒトのミトコンドリア DNA の大欠失を示す Kearns-Sayre 症候群のモデル動物(mito-mouse)が作出された。この mito-mouse は、ミトコンドリア DNA の 4696bp の欠失の蓄積により高乳酸血症を示し、刺激伝導系の異常、および、筋病理で ragged-red fiber やチトクローム c 酸化酵素欠損線維もみられ、寿命も対照群に比較し短縮していた。このモデル動物に高乳酸血症を下げる DCA (dichloroacetate) 治療をしたところ、活動性や体重増加が改善し、寿命が延長した。このことから、ミトコンドリア脳筋症で観察される慢性的な乳酸の過剰蓄積がさらなるミトコンドリア機能不全をきたすと結論付けている。高乳酸血症を治療できる安全な方策があれば、患者の QOL を改善できる可能性が考えられた。

3 ピルビン酸の有効性を示す臨床研究成績

ATP 合成不全による細胞死を予防する唯一の化合物と考えられるのが、ピルビン酸ナトリウムである。図 8 にピルビン酸ナトリウムの作用機序を示す¹²⁾。ミトコンドリア脳筋症では、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、中枢神経系を含めた全身臓器の細胞の脱落変性も進行すると考えられる。この化合物は、DCA(dichloroacetate) 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ほかに、レドックスステートを 25 以下

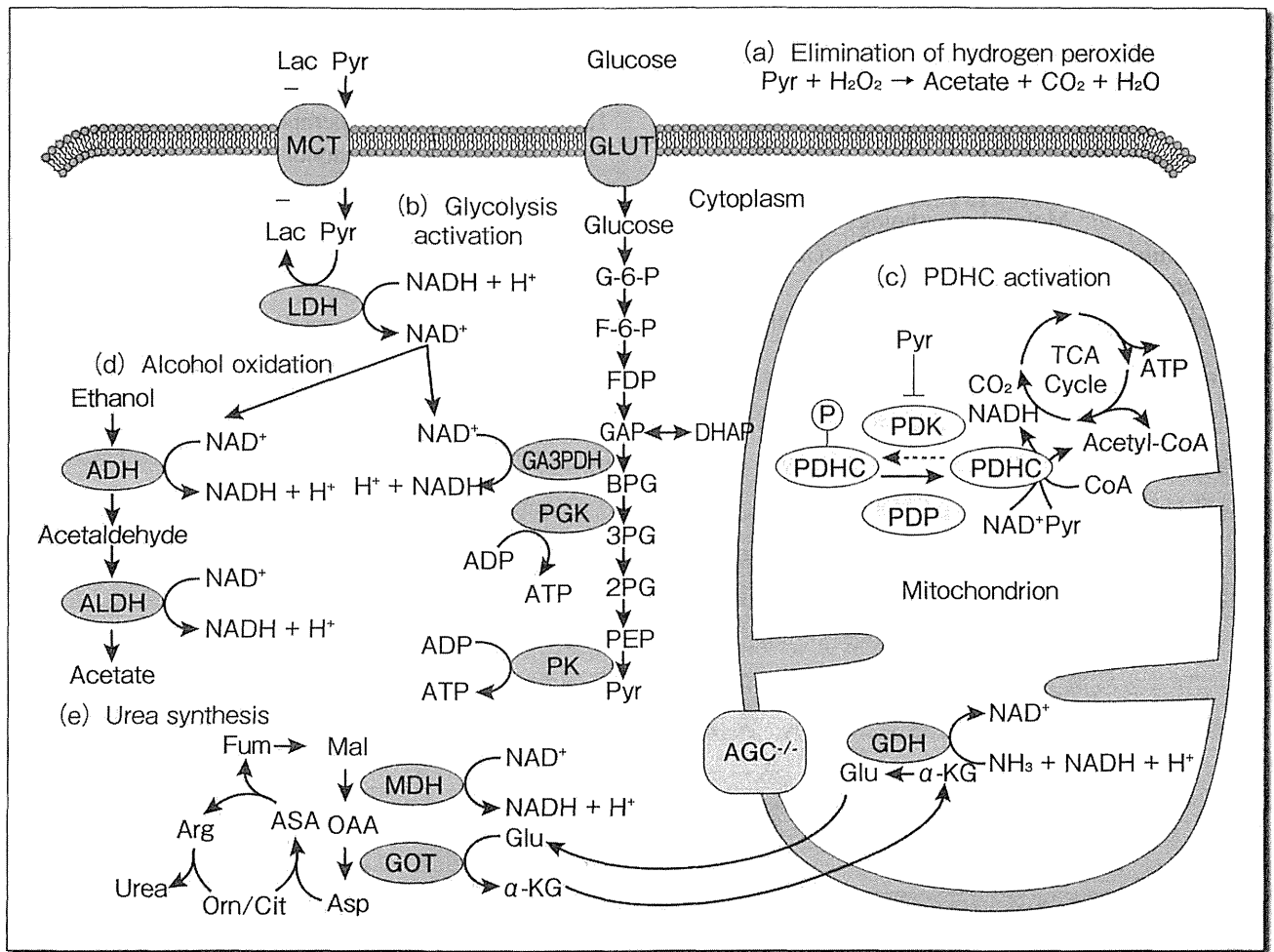


図 8 ピルビン酸ナトリウムの作用機序

ミトコンドリア脳筋症では、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、中枢神経系を含めた全身臓器の細胞の脱落変性も進行すると考えられる。ピルビン酸は、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、レドックス状態を 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。

(Tanaka M, et al. *Mitochondrion* 7: 399-403, 2007 より引用)

に温存し、解糖系の ATP 合成を復元する働きがあり、アポトーシスを予防すると考えられる。実際、ミトコンドリア DNA 欠乏症による Leigh 脳症に対する治療効果、ピルビン酸脱水素酵素 PDHE1 α 欠損症による Leigh 脳症に対する治療効果、シトクローム c 酸化酵素欠損症による Leigh 脳症に対する治療効果などがすでに報告されている。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。

文献

- 1) Nishigaki Y, et al.: Extensive screening system using suspension array technology to detect mitochondrial DNA point mutation. *Mitochondrion* 10: 300-3008, 2010
- 2) Mitomap (<http://mitomap.org/MITOMAP>)
- 3) Tucker EJ, et al.: Recent advances in the genetics of mitochondrial encephalopathies. *Curr Neurol Neurosci Rep* 10: 277-285, 2010
- 4) Tucker EJ, et al.: The molecular basis of human complex I deficiency. *IUBMB Life* 63: 669-677, 2011
- 5) Kawajiri S, et al.: Genetic mutations and functions of PINK1. *Trends Pharmacol Sci* 32: 573-580, 2011
- 6) Polymerase gamma project (<http://tools.niehs.nih.gov/polg/index.cfm>)
- 7) Copeland WC : Inherited mitochondrial diseases of

- DNA replication. *Annu Rev Med* **59**: 131-46, 2008
- 8) 石原直忠, ほか: ミトコンドリアの融合と分裂を支配する分子たち. *蛋白質, 核酸, 酵素* **50**: 931-939, 2005
- 9) Otera H, *et al.*: New insights into the function and regulation of mitochondrial fission. *Bioch Bioph Act* **1833**: 1256-1268, 2013
- 10) Koga Y, *et al.*: Molecular pathology of MELAS and L-arginine effects. *Bioch Bioph Act- General* **1820**: 608-614, 2012.
- 11) Kirino Y, *et al.*: Specific correlation between the wobble modification deficiency in mutant tRNAs and the clinical features of a human mitochondrial disease. *PNAS* **102**: 7127-7132, 2005.
- 12) Tanaka M, *et al.*: Therapeutic potential of pyruvate therapy for mitochondrial diseases. *Mitochondrion* **7**: 399-401, 2007
-

古賀靖敏
久留米大学医学部小児科

2

ミトコンドリアにおける代謝

ミトコンドリアに局在する
エネルギー産生系と関連する代謝系

ミトコンドリアは、真核細胞のエネルギー産生を担うのみでなく、脂質、ステロイド、鉄および鉄-硫黄クラスターの合成・代謝などの細胞内代謝やアポトーシス・カルシウムシグナリングといった細胞応答など多彩な機能を持つオルガネラである。電子顕微鏡で観察すると、ミトコンドリアは内膜と外膜による二重膜に囲まれた特徴的な構造を持っていることがわかる(図1)。ミトコンドリアは、直径約0.5~1.0 μm の円あるいは楕円の構造体として観察される。ミトコンドリアは、酸素呼吸最近(*a*-プロテオバクテリア)の共生を起源とするオルガネラと考えられており、独自のDNAを持っている。mtDNAは、細胞あたり数百から数千コピー存在するといわれており、エネルギー産生の需要に応じて細胞あたりの数を増す。mtDNAは、ミトコンドリア内部にミトコンドリア核様体(ヌクレオイド)と呼ばれるドット状構造として存在し、mtDNAが数コピーから数十コピー集まった構造体であり、mtDNAの転写発現に関与する因子Tfamとともに、その機能発現や遺伝に重要な役割を担っていると考えられている。ミトコンドリアには1,000種以上のタンパク質が存在するといわれている。しかし、このmtDNAにコードされているのは13種類の呼吸鎖サブユ

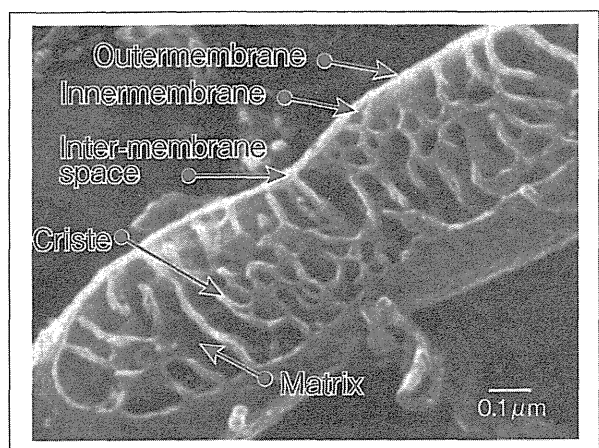


図1 ミトコンドリアの高次構造

ニットのみであり、これ以外はすべて核ゲノムにコードされている。核ゲノムにコードされたタンパク質は、細胞質のリボソームで翻訳され、ミトコンドリア局在化シグナルによってミトコンドリアへ転送され、外膜(Tom)および内膜(Tim)のタンパク質輸送装置を介してそれぞれのコンパートメントに輸送される。ヒトのエネルギー代謝の中核として働く細胞内小器官ミトコンドリアには、電子伝達系酵素群、ピルビン酸代謝、TCA サイクル関連代謝、カルニチン転送体を含めた脂肪酸 β 酸化系などが局在しており、さらにはミトコンドリアの機能に影響する関連代謝系として、核酸代謝系、ATP 転送系、フリーラジカルのスカベンジャー系、補酵素の生合成系、ミトコンドリア形態を制御する遺伝子群が存在する(図2)。

ミトコンドリア呼吸鎖

ミトコンドリアに局在する呼吸鎖複合体は、電子伝達系酵素 I から IV(電子伝達系酵素)と ATPase(複合体V)を指し、複合体IIを除き、ミトコンドリア DNA(mtDNA)と核 DNA(nDNA)の共同支配である。これらタンパク複合体サブユニットの構造遺伝子以外に、その発現調節に関わる多くの核の因子(アセンブリー、発現、安定化、転送、ヘム形成、コエンザイム Q10 合成関連)が明らかになってきた。図3にミトコンドリア呼吸鎖と酵素欠損に関連したミトコンドリア病の亜型を示す¹⁾。呼吸鎖異常症の病型および遺伝子異常の詳細は、本編の各論を参照して頂きたい。

ピルビン酸代謝

ピルビン酸脱水素酵素複合体(PDHC:pyruvate dehydrogenase complex)は、嫌気性解糖系によりブドウ糖から産生されたピルビン酸をミトコンドリア内においてアセチル CoA に変換し、TCA サイクルに送り込む事から、エネルギー産生のために、非常に重要な複合体である(図4)²⁾。PDHCは、

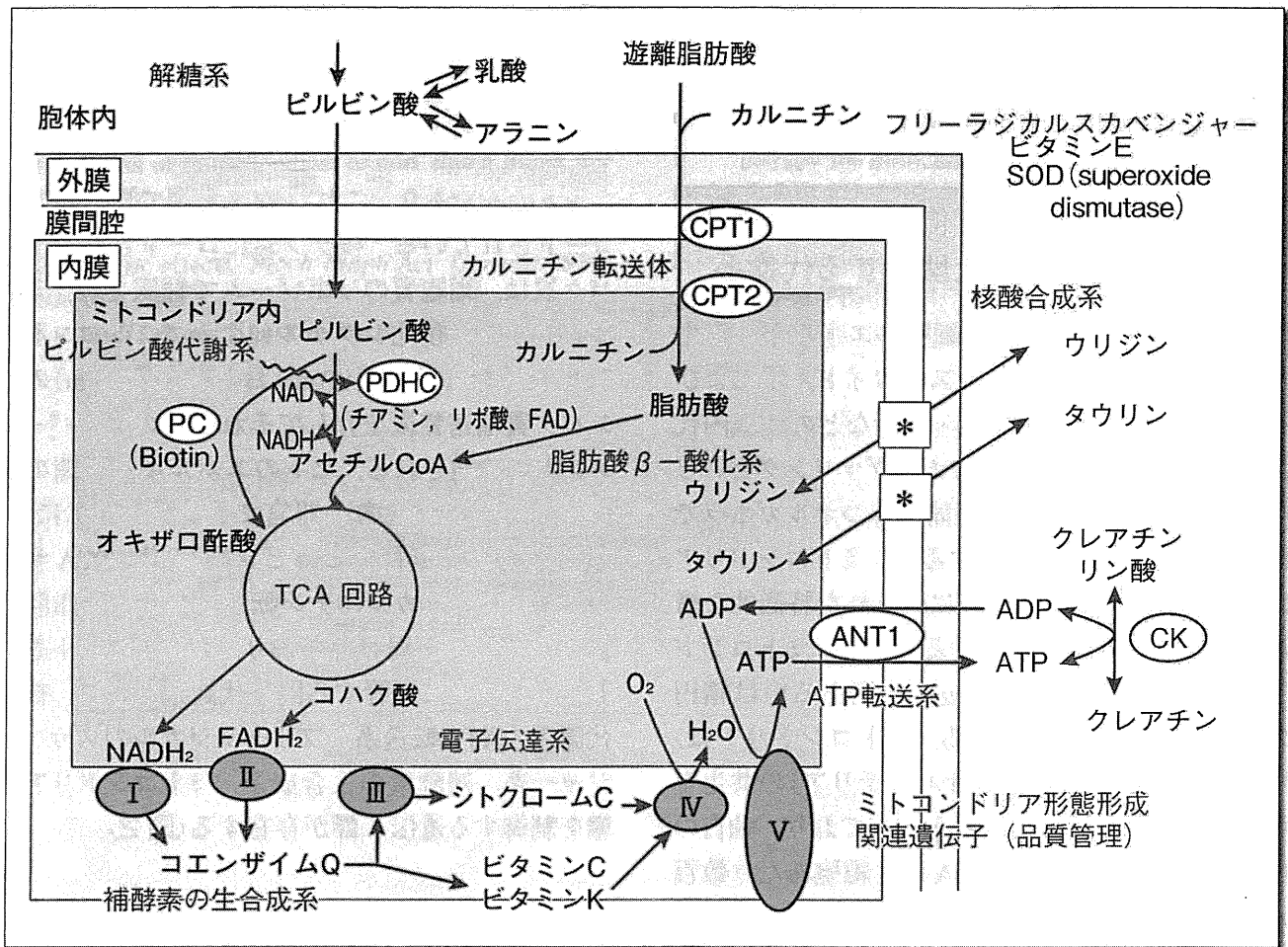


図2 ミトコンドリア機能と関連する種々の代謝系

ヒトのエネルギー代謝の中核として働く細胞内小器官ミトコンドリアには、電子伝達系酵素群、ピルビン酸代謝、TCAサイクル関連代謝、カルニチン転送体を含めた脂肪酸β酸化系などが局在しており、さらにはミトコンドリアの機能に影響する関連代謝系として、核酸代謝系、ATP転送系、フリーラジカルのスカベンジャー系、補酵素の生合成系、ミトコンドリア形態を制御する遺伝子群が存在する。

ピルビン酸脱水素酵素(PDH, E1), リポ酸アセチルトランスフェラーゼ(E2), リポアミド脱水素酵素(E3)および、E1活性を調節するPDHフォスファターゼ、PDHキナーゼおよびプロテインXの6種類の酵素から構成されている。PDHはαサブユニット(E1α)2個とβサブユニット(E1β)2個からなる4量体であり、1個の4量体につき補酵素であるチアミンピロリン酸(TPP)が2分子結合している。PDHは、PDHキナーゼによりE1αのセリン残基がリン酸化されると不活性化され、PDHフォスファターゼにより脱リン酸化されると活性化される。ミトコンドリア病の鑑別を行う上で、高乳酸血症を呈する代表的な疾患である。PDH欠損症をきたすE1αとE1β遺伝子は、それぞれX染色体と第3番染色体に局在しているが、本症の約85%がE1α遺伝子の異常である。点変異、欠失、挿入など様々な異常が報告されて

いる。本症の臨床症状は多彩であるが、共通の症状から3群に大別される³⁾。第1群は、新生児期・乳児期早期に多呼吸、けいれん、意識障害、嘔吐、脳室拡大で発症し、重篤な代謝性アシドーシスを伴い早期に死亡する症例(乳児致死型ミトコンドリア病)である。この群の症例の多くは女児である。第2群は精神発達遅滞と筋緊張低下などの症状と高乳酸血症で乳幼児期に発見される症例である。この中には、Leigh脳症にみられるような両側対称性の脳基底核や視床の壊死性病変を来す症例が多くは男児である。また、脳梁の低形成や前頭部が突出した狭い額、広い鼻根、鼻翼が広く上を向いた鼻などを特徴とした顔貌異常を持つ症例も多くみられる。第3群は、軽度の筋緊張低下と失調、高乳酸血症で幼児期から学童期にかけて発見される症例で男児に多い。また、このグループには、ビタミンB₁の大量用法で反

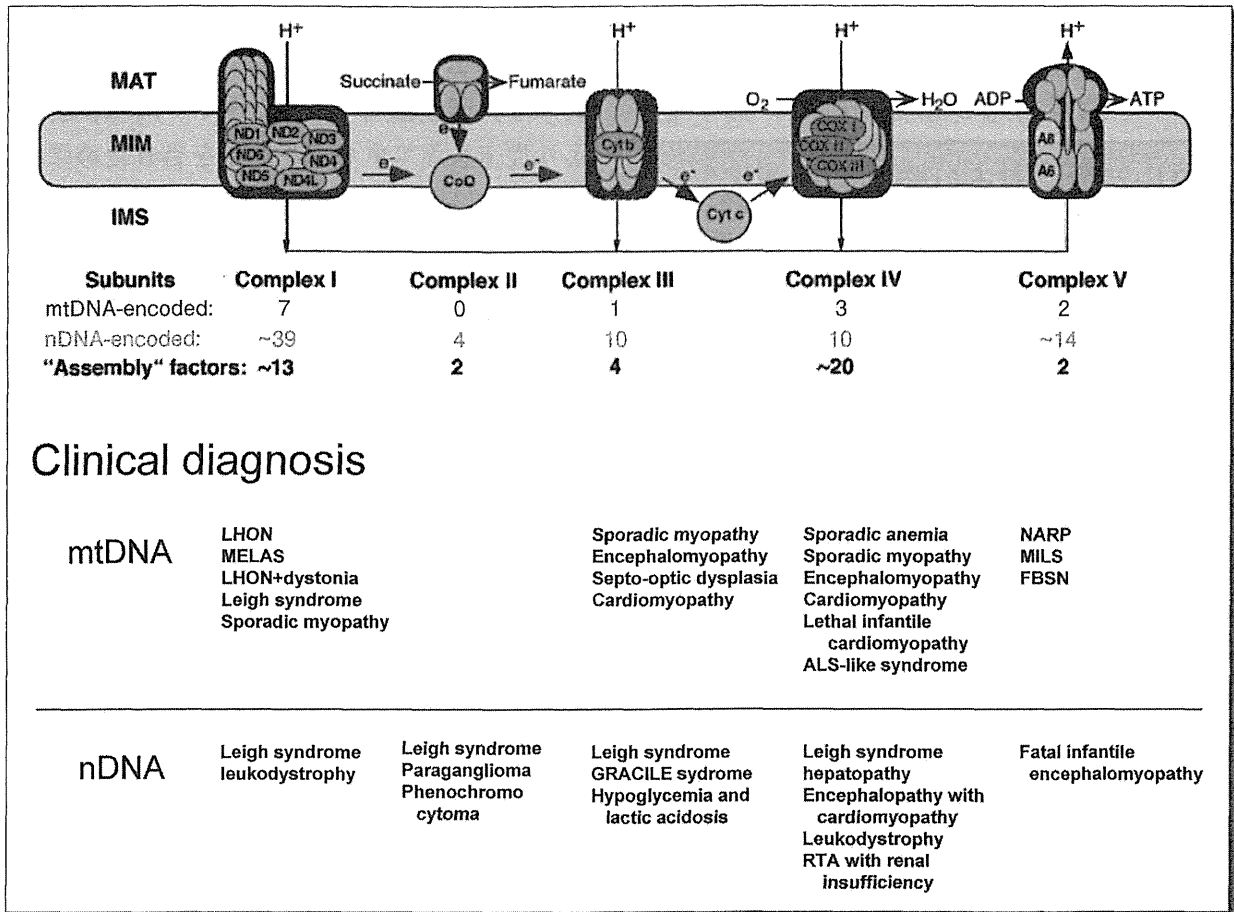


図3 ミトコンドリア呼吸鎖と酵素欠損に関連したミトコンドリア病の亜型
ミトコンドリアに局在する呼吸鎖複合体は、mtDNAと核DNAの両支配である。それぞれの酵素サブユニットと欠損した場合の臨床病型を示す。

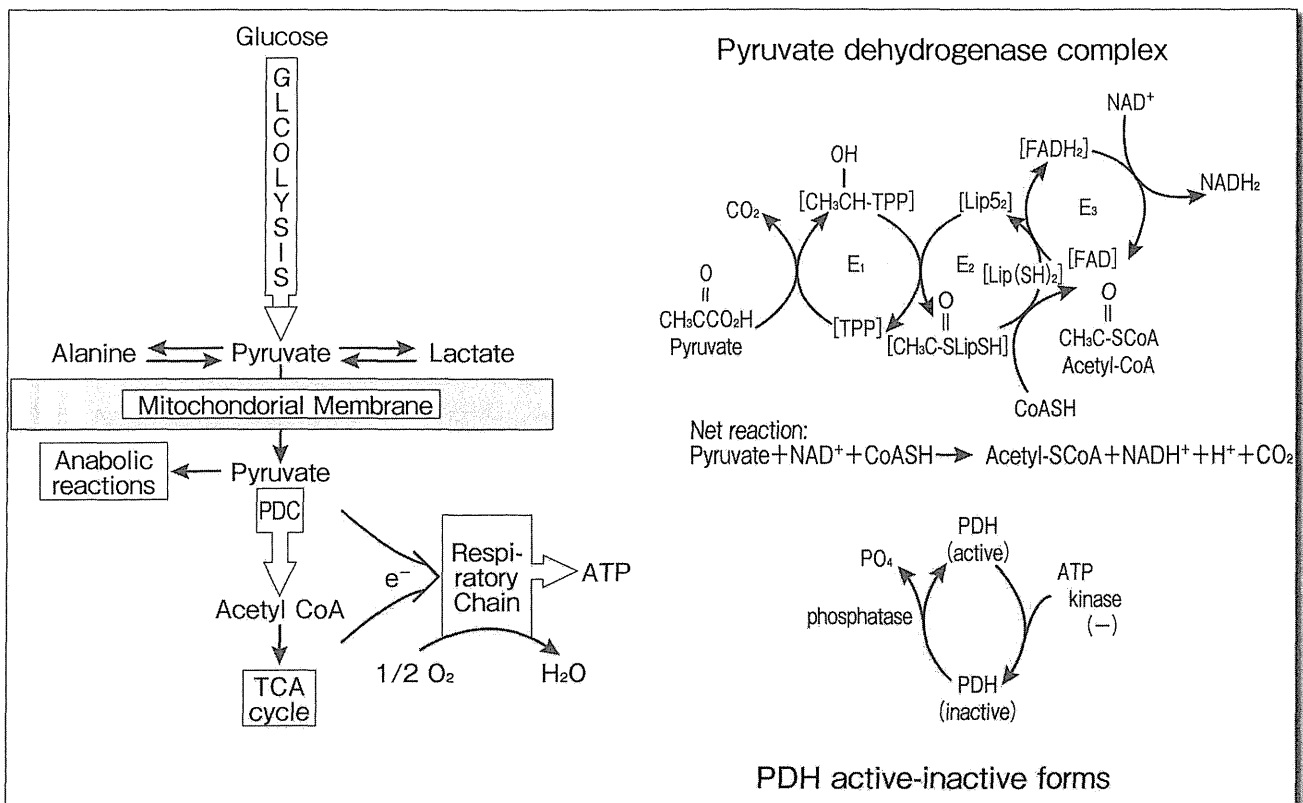


図4 ピルビン酸脱水素酵素複合体とその調節機構

応する症例も含まれる。ピルビン酸代謝異常の詳細は、成書を参考にいただきたい。

カルニチンおよび脂肪酸β酸化

ミトコンドリアのマトリックスには脂肪酸のβ酸化系酵素が局在する。炭水化物からのエネルギーが枯渇した場合、代替エネルギーとしての供給源となる。骨格筋や心筋など、エネルギーを多く必要とする臓器では、特に重要な代謝系である。中でも心筋は、通常の状態でもエネルギー源の60～70%をβ酸化から供給されていると言わ

れている^{4)~5)}。現在わかっているカルニチン転送システムおよび脂肪酸のβ酸化系酵素を図5に示す。脂肪酸をミトコンドリア内のβ酸化系により代謝し、エネルギー産生を行うためには、以下に示すステップが必要である。

① カルニチン回路

中鎖および短鎖の脂肪酸は、細胞膜およびミトコンドリア外・内膜を自由に通過でき、カルニチン回路を介する必要なくミトコンドリアマトリックスの脂肪酸β酸化系に到達できる。しかしながら、長鎖脂肪酸は、細胞内に acyl CoA として取

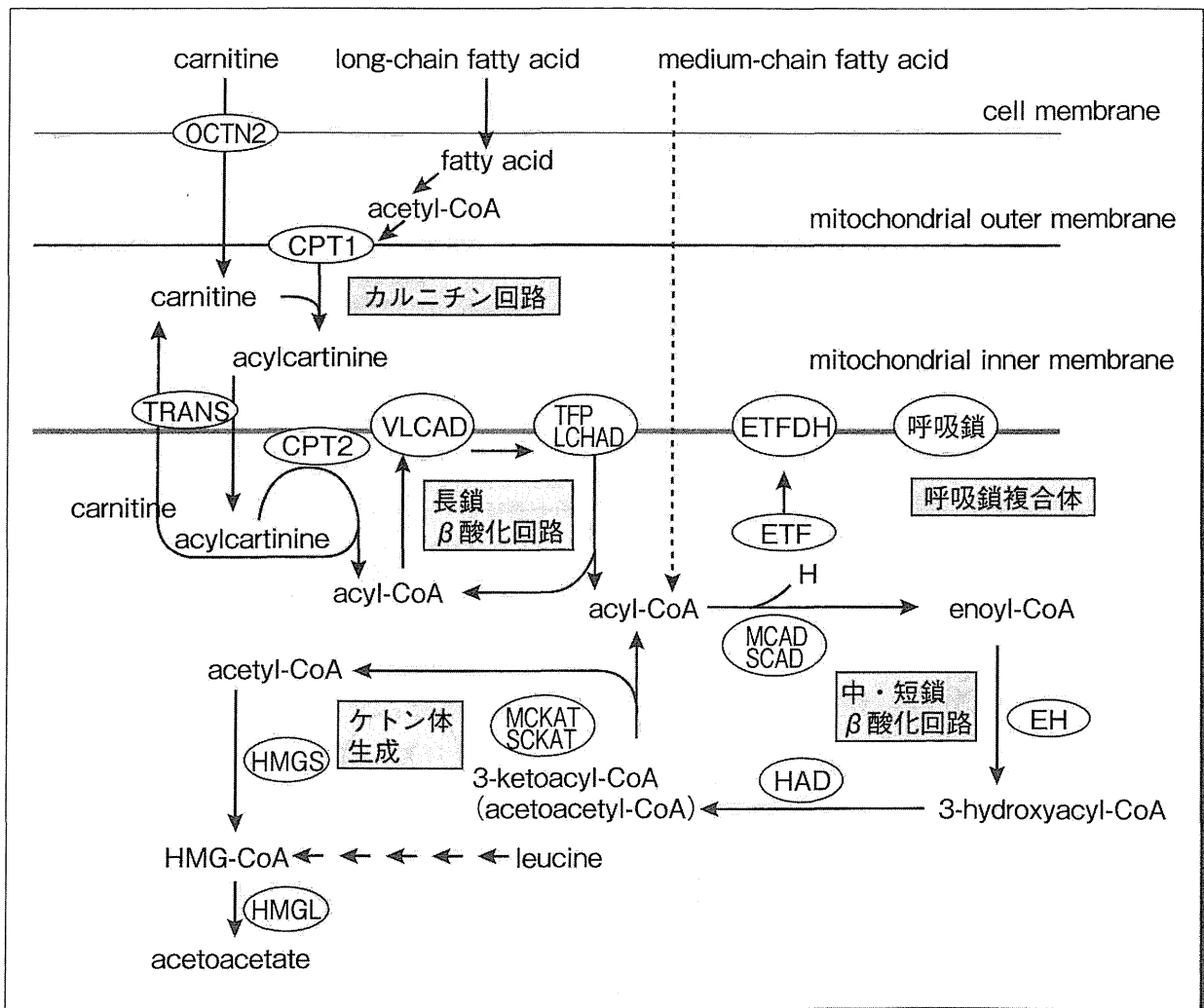


図5 カルニチン転送システムおよび脂肪酸のβ酸化系酵素

OCTN2: organic cation/carnitine transporter novel type 2, CPT1: carnitine palmitoyl transferase 1, CPT2: carnitine palmitoyl transferase 2, TRANS: carnitine acylcarnitine translocase, VLCAD: very long chain acyl-CoA dehydrogenase, TFP: tri-functional enzyme

ミトコンドリアの長鎖脂肪酸β-酸化スパイラルの第2の酵素 enoyl-CoA hydratase, 第3の 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase, 第4の 3-ketoacyl-CoA thiolase の3つの機能をもったタンパク質である。

LCHAD: long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase, HMGS: HMG-CoA synthetase, HMGL: HMG-CoA lyase, ETFDH: electron-transferring-flavoprotein dehydrogenase, ETF: electron-transferring-flavoprotein, MCAD: medium chain acyl-CoA dehydrogenase, SCAD: short chain acyl-CoA dehydrogenase, HAD: hydroxyl acyl CoA dehydrogenase

り込まれたのち、ミトコンドリア外膜に存在するカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ1(CTP1)の作用によりアシルカルニチンとなる。アシルカルニチンは、カルニチン・アシルカルニチントランスロカーゼ(TRANS)によってミトコンドリア内に転送される。その後、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ2(CTP2)の作用で長鎖アシルカルニチンはアシルCoAとなり、 β 酸化の基質となる。一方、CTP2の作用で遊離されたカルニチンはTRANSによってミトコンドリア外に放出されて再利用される。

2 長鎖脂肪酸 β 酸化回路

ミトコンドリアに転送され活性化された長鎖アシルCoAは、内膜に結合した β 酸化酵素群により炭素数C12まで短くされてミトコンドリアマトリックスの β 酸化系に渡される。極長鎖アシルCoA脱水素酵素複合体(VLCAD)、や三頭酵素

(TFP)がこの群に含まれる。

3 中鎖・短鎖脂肪酸 β 酸化回路

この β 酸化系は、ミトコンドリアマトリックスに存在する古典的な β 酸化系酵素で代謝される。

4 電子伝達系

アシルCoA脱水素酵素によって発生する水素イオンは、呼吸鎖複合体酵素に渡され、ATP合成に利用される。

5 ケトン体合成

炭水化物からのエネルギー供給が低下した場合、肝臓では β 酸化系で生成されたアセチルCoAからケトン体合成が行われる。生成されたケトン体は血液に放出され、肝外組織に運ばれてエネルギー源として使用される。この代謝は、アセチルCoAからHMG-CoAを介し、アセト酢酸および

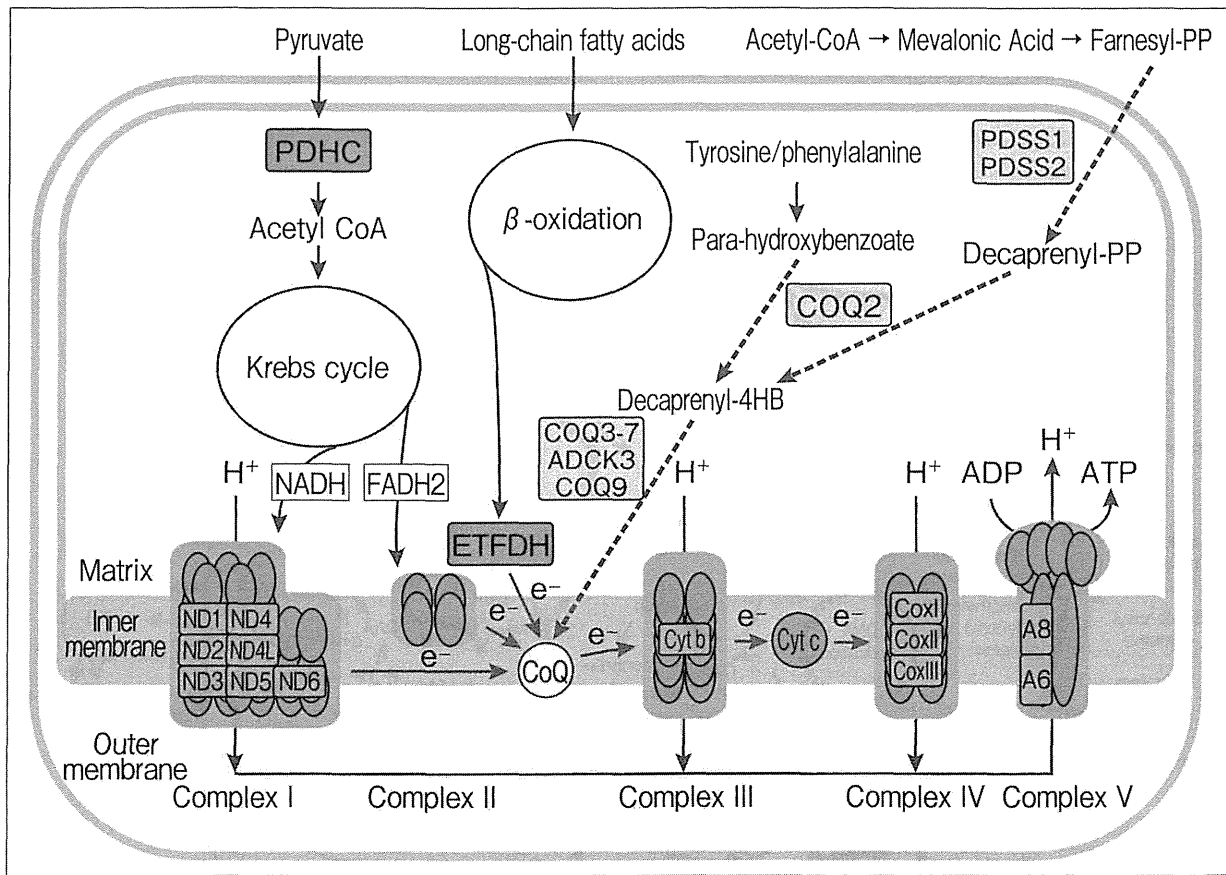


図6 コエンザイムQ生成経路

脂溶性物質であるコエンザイム (Coenzyme) Q10は、酸化還元活性を持つベンゾキノンと10個の炭素鎖を有するイロプレノイド残基を持つ構造体である。ベンゾキノン環は、フェニルアラニンやチロシンであるアミノ基から、10個の炭素鎖を有するイロプレノイド残基はアセチルCoAからメバロン酸系により合成される。図の点線で示す経路が生成経路である。現在までに、次に示す10種 (ADCK3, PDSS1, PDSS2, COQ2, COQ3, COQ4, COQ5, COQ6, COQ7, COQ9) の遺伝子変異が報告されている。

3-ヒドロキシ酪酸が生成される。この経路には、肝内の HMG-CoA 合成酵素および HMG-CoA リアーゼが関与する。β酸化によって生成されたアセチル CoA は、TCA 回路を介して電子伝達系酵素からエネルギー産生に寄与する。この分野の代謝異常には、運動負荷が大きくなる時期に運動に起因して横紋筋融解症を起こすような軽症型(骨格筋型)から、新生児早期に低血糖、肝不全、心筋症で発症し早期に死亡する重症型(新生児型)まで非常に幅広い。診断には、血中アシルカルニチン分析(タンデムマス)、尿中有機酸分析(GC/MS)、遺伝子診断が重要である。

コエンザイム Q 代謝系

コエンザイム Q10 は、複合体 I、II および ETF-DH からの電子を複合体 III に運ぶミトコンドリア呼吸鎖における必須のコンポーネントである⁶⁾。しかも、コエンザイム Q10 は、強力な抗酸化作用をもち、かつピリミジン生合成経路で重要な dihydro-orotate dehydrogenase の補酵素でもあ

る。脂溶性物質であるコエンザイム Q10 は、酸化還元活性を持つベンゾキノンと 10 個の炭素鎖を有するイロプレノイド残基を持つ構造体である。還元型をユビキノン、酸化型をユビキノールとする。コエンザイム Q10 は、図 6 に示す、生合成系で作られ、ミトコンドリアでの呼吸鎖複合体活性の重要な位置を示す。ベンゾキノン環は、フェニルアラニンやチロシンであるアミノ基から、10 個の炭素鎖を有するイロプレノイド残基はアセチル CoA からメバロン酸系により合成される。最初のコエンザイム Q10 欠損症は、1989 年ミトコンドリア脳筋症の兄弟例として Ogasawara らにより報告された。その後、ユビキノン合成系に重要な遺伝子 ADCK3(CABC1)の欠損が報告された。その後、重症乳児致死型の症例で、ユビキノン合成系遺伝子変異(COQ2)が報告された。同様に重症型の症例でイロプレノイド残基の合成に関与する遺伝子の変異(PDSS1, PDSS2)が報告された。その後、腎不全、心筋症を合併した症例で(COQ9, COQ3-7)などが報告された。コエンザイム Q10 欠損症が報告されて以来、臨床病型をまとめると、

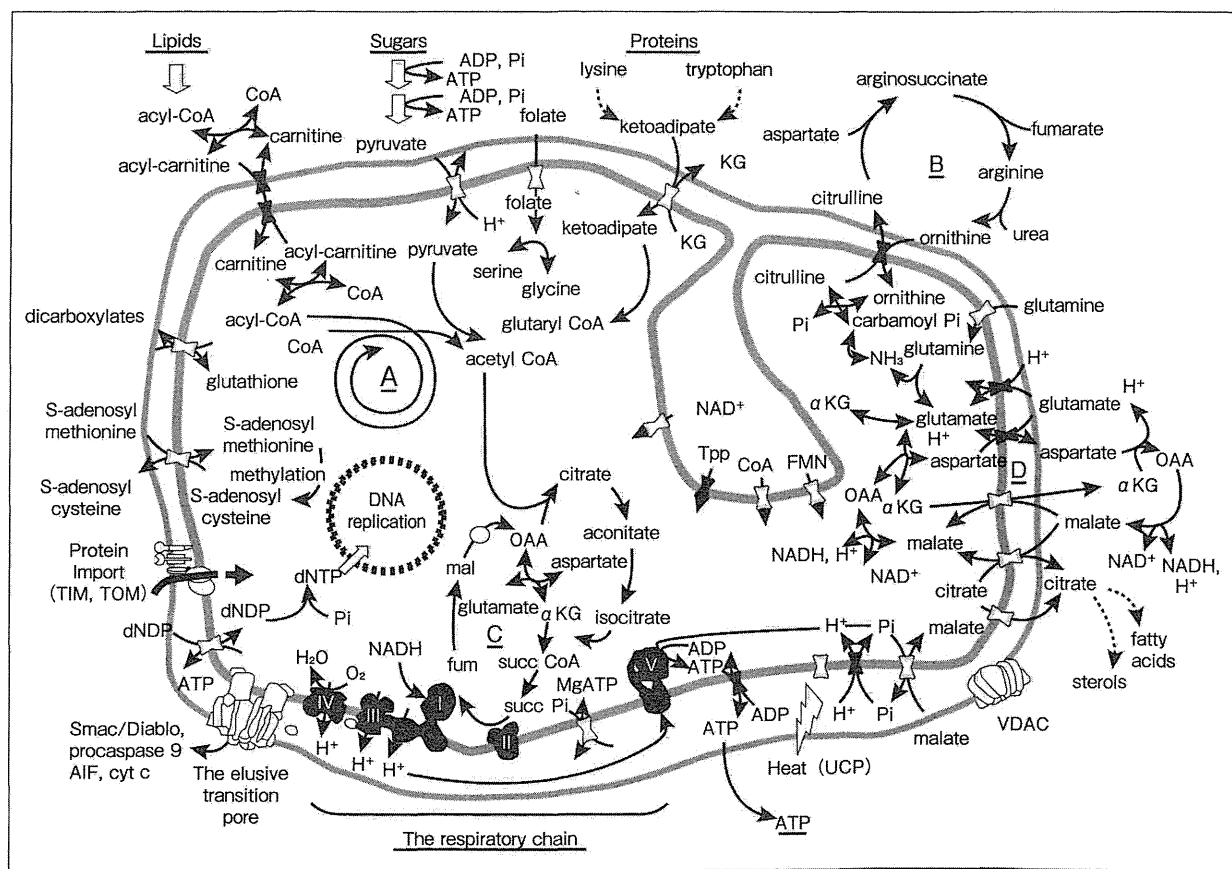


図 7 ミトコンドリア機能と関連した代謝系

ミトコンドリア内に局在する種々の代謝系が細胞の正常な生命活動に関与している。

5つの病型となる。①脳筋症, ②重症乳児全身型, ③腎症, ④小脳失調型, ⑤骨格筋型であり, 臨床スペクトルは幅広い。

その他, 本項ではその詳細には触れないが, スリーラジカルのカスケード系, ATP 転送系, ミトコンドリア形態形成に関わる分子種の存在も, ミトコンドリア機能に影響する代謝経路として重要である(図7)⁷⁾。

文献

- 1) Schon EA, *et al.*: Therapeutic prospects for mitochondrial disease. *Trends Mol Med* **16**: 268-276, 2010
- 2) Patel KP, *et al.*: The Spectrum of Pyruvate Dehydrogenase Complex Deficiency: Clinical, Biochemical and Genetic Features in 371 Patients. *Mol Genet Metab* **105**: 34-43, 2012
- 3) 内藤悦雄: ピルビン酸脱水素酵素欠損症. 先天代謝異常症第2版上巻, 日本臨床別冊 新領域別症候群シリーズ**19**: 428-431, 2012
- 4) Roe CR, *et al.*: Mitochondrial fatty acid oxidation disorders. In: *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. 8th ed. pp2297-2326, McGraw Hill, 2002
- 5) 山口清次: ミトコンドリア脂肪酸β酸化異常: 概論. 先天代謝異常症第2版上巻, 日本臨床別冊 新領域別症候群シリーズ**19**: 497-504, 2012
- 6) Hirano M, *et al.*: CoQ10 deficiencies and MNGIE: Two Treatable Mitochondrial Disorders. *Bioch Biophys Acta* **1820**: 625-631, 2012
- 7) DiMauro S, *et al.*: A critical approach to the therapy of mitochondrial respiratory chain and oxidative phosphorylation diseases. *Bioch Biophys Acta* **1792**: 1159-1167, 2009

古賀靖敏
久留米大学医学部小児科

3

ミトコンドリア病の診断の進め方

診断

診断で最も大切なことは、まず本症を疑うことである。ミトコンドリア病できたしうる臓器症状は p.23, 図2に示した通りである。この図でわかることは、ミトコンドリア異常症では、あらゆる症状をきたしうることである。逆にいうと、既存の疾患概念に当てはまらない、単独もしくは複数の臓器症状が組み合わさった場合、ミトコンドリア病を疑う必要がある。表1に、頻度の比較的高い mtDNA 異常症の亜型とそのおもな臨床症状を示す。新たに提唱された mtDNA 異常症の亜型は、p.143, 表1に示した。

診断のための検査は、①罹患臓器由来の検体のスクリーニング、②ミトコンドリアの機能異常の証明に分けられる。前者は、通常の病院検査部門で臨床的に精査可能であり、場合によっては、各臓器の専門医と協力して進めていく必要がある。後者は、ミトコンドリア病の確定診断に不可欠なものであり、以下に示す一般的なフローチャートに沿って進めると解りやすい(図1)。

乳酸・ピルビン酸, その他のバイオマーカー (FGF-21, GDF-15) の測定

従来, 乳酸・ピルビン酸がミトコンドリア病の

表1 比較的高頻度の高いミトコンドリア病の鑑別表

Tissue	Symptom/Sign	D-mtDNA		tRNA		ATPase6	
		KSS	Pearson	MERRF	MELAS	NARP	MILS
CNS	Seizures	-	-	+	+	-	+
	Ataxia	+	-	+	+	+	+/-
	Myoclonus	-	-	+	+/-	-	-
	Psychomotor Retardation	-	-	-	-	-	+
	Psychomotor Regression	+	-	+/-	+	-	-
	Hemiparesis/hemianopia	-	-	-	+	-	-
	Cortical blindness	-	-	-	+	-	-
	Migraine-like headaches	-	-	-	+	-	-
	Dystonia	-	-	-	+	-	+
PNS	Peripheral Neuropathy	+/-	-	+/-	+/-	+	-
Muscle	Weakness	+	-	+	+	+	+
	Ophthalmoplegia	+	+/-	-	-	-	-
	Ptosis	+	-	-	-	-	-
Eye	Pigmentary retinopathy	+	-	-	-	+	+/-
	Optic Atrophy	-	-	-	-	+/-	+/-
	Cataracts	-	-	-	-	-	-
Blood	Sideroblastic Anemia	+/-	+	-	-	-	-
Endocrine	Diabetes Mellitus	+/-	-	-	+/-	-	-
	Short stature	+	-	+	+	+	+
	Hypoparathyroidism	+/-	-	-	-	-	-
Heart	Conduction block	+	-	-	+/-	-	-
	Cardiomyopathy	+/-	-	-	+/-	-	+/-
GI	Exocrine pancreas Dysfunction	+/-	+	-	-	-	-
	Intestinal pseudo-obstruction	-	-	-	-	-	-
ENT	Sensorineural hearing loss	-	-	+	+	+/-	-
Kidney	Fanconi's Syndrome	+/-	+/-	-	+/-	-	-
Lab	Lactic Acidosis	+	+	+	+	-	+/-
	Muscle bx: RRF	+	+/-	+	+	-	-
Inheritance	Maternal	-	+	+	+/-	+	+
	Sporadic	+	-	-	+/-	-	-

GI: gastrointestinal tract, ENT: ear-nose-throat, Lab: laboratory test.