

2014/504/A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)

脳クレアチン欠乏症候群の臨床研究

平成26年度 総括研究報告書

研究代表者 和田敬仁

平成 27 (2015) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告	
脳クレアチン欠乏症候群の臨床研究 和田敬仁	1
(資料) 図1～9	
II. 分担研究報告	
1. 脳クレアチン欠乏症の脳MRI/MRSに関する研究 相田典子	11
2. 脳クレアチニン欠乏症候群の病態解明に対する研究 小坂 仁	14
3. 脳クレアチン欠乏症候群の診断基準作成および疫学調査に関する研究 後藤知英	20
4. 脳クレアチン欠乏症候群の分子遺伝学的診断に関する研究 新保裕子	22
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	27
IV. 研究成果の刊行物・別刷	29
V. 研究班構成員名簿	41

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）

総括研究報告書

脳クレアチン欠乏症候群の臨床研究

研究代表者 和田敬仁 京都大学大学院医学研究科 准教授

研究要旨

脳クレアチン欠乏症候群(cerebral creatine deficiency syndromes: CCDSs)は、グアニジノ酢酸メチル基転移酵素(GAMT)欠損症、アルギニン・グリシンアミジノ基転移酵素(AGAT)欠損症、クレアチン輸送体(SLC6A8)欠損症の3疾患からなり、知的障害・自閉症・てんかんを主症状とする。CCDSsの特徴は、脳内クレアチンの改善が治療法となる点である。SLC6A8欠損症は欧米において最も頻度の高い遺伝性精神遅滞症候群の一つと考えられているが、日本における診断症例は限られている。本研究は日本におけるCCDSsの診断基準、重症度分類、診療ガイドラインを作成し、臨床家に周知させ、症例を登録し、近い将来の治療のための基盤整備を進めることを目的とする。

【研究分担者】

相田典子・神奈川県立こども医療センター放射線科・部長

小坂仁・自治医科大学小児科・教授

後藤知英・神奈川県立こども医療センター神経内科・部長

新保裕子・神奈川県立こども医療センター臨床研究所・臨床研究員

【研究協力者】

加藤秀一・神奈川県立精神医療センター・医員

黒澤裕子・立命館大学・研究員

高野亨子・信州大学医学部・助教

露崎悠・神奈川県立こども医療センター神経内科・医長

(症例紹介)

秋山倫之・岡山大学病院小児神経科・講師

絹笠英世・筑波学園病院・科長

野崎章仁・滋賀県立小児保健医療センター・医員

(患者登録システム)

倉田真由美、樋野村亜希子、深川明子、平田誠、松山晃文・国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所

A. 研究目的

知的障害(intellectual disability:ID)は人口の1-3%を占める頻度の高い病態であり、エビデンスに基づいた治療あるいは療育を行うためには、IDの病態解明は他の疾患と同様に必須である。[和田敬仁 神経研究の進歩、2006]

遺伝学的要因によるIDのなかで代謝異常症は治療可能なIDとして、早期診

断・治療の重要性が指摘されている。[van Karnebeek, 2012]本研究は、IDを主症状とする脳クレアチン代謝異常の臨床研究である。クレアチン/リン酸クレアチン系は、脳や筋における化学的エネルギーの細胞質貯蔵の緩衝系として働く。脳クレアチン欠乏症候群(cerebral creatine deficiency syndromes: CCDSs)は、クレアチン生合成や輸送の障害により脳内クレアチン欠乏をきたし、知的障害・自閉症・てんかんを主症状とし、グアニジノ酢酸メチル基転移酵素(GAMT)欠損症、アルギニン・グリシンアミジノ基転移酵素(AGAT)欠損症、クレアチン輸送体(SLC6A8)欠損症の3疾患からなる。(図1、2)

CCDSsにおいて、臨床上重要な点は、
(1) クレアチンの早期投与により症状の改善が期待される治療可能なIDである
(2) 特にSLC6A8欠損症は欧米においては、男性ID全体の0.3-3.5%、アメリカには42000人、世界では100万人以上と推定され頻度が高い、の2点である。

本年度の目標は、診断基準の作成と疾患の周知、および、基礎研究推進のためのリサーチリソースの基盤整備にあり、近い将来、アメリカを中心に準備が進められている臨床治験に遅滞なく参加するための体制を整備する。

B. 研究方法および結果

(倫理面への配慮)

本研究は、本学における医の倫理委員会で承認を受け(G693)、「臨床研究に関する倫理指針」「医療における遺伝学的検査・

診断に関するガイドライン」などに則って行われる。

1. 脳クレアチン欠乏症の脳 MRI/MRS に関する研究 (相田)

(方法) 脳クレアチン欠乏症候群の臨床症状は非特異的であり、その診断には脳¹H-MR spectroscopy (以下MRS)が重要であり、クレアチンピークの減少が特徴的所見である。(図3)本研究においては、発達遅滞を示す児にMRSを施行し、クレアチン欠乏症の早期診断をはかるとともに、診断確定例の脳MRI所見を解析し、その特徴を明らかにすることを目的とした。

(結果) 本年度は、患児44例(男児30例、女児14例、生後10ヶ月から11才)のうち1例の23ヶ月男児において、視覚的なクレアチンピークの減少を認め、定量解析にてその濃度は正常の2割以下と判断され、クレアチン欠乏症候群と診断した。特異的MRI異常は認めなかった。

2. 脳クレアチン欠乏症候群の病態解明に関する研究 (小坂)

(方法) 脳クレアチン欠乏症はGAMT欠損症、AGAT欠損症、SLC6A8欠損症の3疾患からなり、その鑑別は治療法の選択において重要である。本研究においては、3疾患を鑑別するためHPLC方法を用いた尿スクリーニング方法を開発し、その有効性を検討した。

(結果) 本年度、知的障害を呈する30才代女性において、MRSにより脳クレアチ

ン欠乏症を疑い、HPLC法を用いた尿の分析により、尿グアニジノ酢酸の高値を認めため、GAMT欠損症を疑い、分子遺伝学的解析により確定した。本症例の診断は本邦初であり、クレアチンを用いた治療により症状が著しく改善した。

HPLC法を用いた尿の解析が、脳クレアチン欠乏症候群のスクリーニング方法として有効であることが示された。

3. 脳クレアチン欠乏症候群の診断基準作成および疫学調査に関する研究（後藤・和田）

（方法）脳クレアチン欠乏症候群は発達遅滞やてんかんといった非特異的な臨床像を呈する。よって、本症候群の診断には尿のグアニジノ化合物（クレアチン、クレアチニン、グアニジノ酢酸）の解析を積極的に行い、脳MRI検査機器による脳magnetic resonance spectroscopy (MRS)で異常所見を検出し確定診断することが重要である。我が国では、脳MRSの実施は限られており、未診断となっている脳クレアチン欠乏症候群症例が多数存在していると推定される。

本研究においては、患者を集積し診断基準を作成するとともに、本邦における有病率を推定することが目的である。

（結果）

神奈川県立こども医療センター神経内科における年間559件の新規紹介症例のうち、発達遅滞・自閉症・てんかんのいずれかを主訴に受診したもの352件(2013年度実績。2014年度については集計中であるが、例年同数程度の受診がある)の

ほぼ全例対して、脳MRSを含めた頭部MRI検査を実施し、1症例においてクレアチン輸送体欠損症が強く疑われる所見が得られた。

現在までに本邦においてGAMT欠損症1症例、SLC6A8欠損症5例が診断され臨床情報を集積中である。(図4、5)平成27年度は、当センターにおいて診断された症例を中心に、本邦症例の臨床情報を集積し、診断基準を作成する予定である。

4. 脳クレアチン欠乏症の分子遺伝学的診断に関する研究（新保）

（方法）脳クレアチン症候群はGAMT欠損症、AGAT欠損症、SLC6A8欠損症の3疾患からなるため、その鑑別診断は治療法の選択に重要である。また、尿を用いたグアニジノ化合物の解析による診断方法は、SLC6A8欠損症の女性患者においては有効ではないことが知られている。よって、尿の解析や脳MRSによる診断とともに、分子遺伝学的診断による確定診断が極めて重要である。本研究においては、尿中のクレアチン関連化合物をHPLC法で測定し、次いで血液からRNA、ゲノムDNAを抽出して遺伝子解析を行うことによる診断システムを開発し、その有効性を検証する。

（結果）本年度は脳クレアチン代謝異常症が疑われた3症例に対して尿中クレアチン化合物を測定し、1症例において異常を検出しされた。(現在、遺伝子解析を進めている)。

特にSLC6A8欠損症はX連鎖性の遺伝形式をとるが、男性のみならず、女性も発

症しうるため、男性患者が診断された場合、その母親の保因者診断は、遺伝カウンセリングの立場からも重要である。

現在までに、GAMT 欠損症 1 症例、SLC6A8 欠損症 5 例の遺伝学的診断を行った (図 6)。また、HPLC 法を用いた尿クレアチン/クレアチニン比の正常値を設定した。(図 7)

5. 患者さんの検体登録システムと将来の治験を目指した体制整備 (和田)

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬資源部 難病資源研究室のご協力により、患者さんの検体登録システムを確立し、研究参加支援サイト“CURE Path” (<http://raredis.nibio.go.jp/cure/index.html>) を開設した。(図 8)

また、将来の治験に備えて臨床研究と基礎研究を進めていくための整備を進めていく (図 9)。

C. 考察

脳クレアチン欠乏症の患者は知的障害・自閉症・てんかんの非特異的症状を呈するため、患者に対しては、負担の少ない尿検査によるスクリーニングが必須で有り、そのためにはまず臨床現場における本疾患の周知が重要である。

現在までに本邦で診断が確定しているのは 6 家系であり、未診断例が多数存在することが推定される。

HPLC 法を用いた尿スクリーニング方法は確立しているが、女性に対しては診断を見逃す可能性もあるため、分子遺伝学的診断を平行に行うことが重要である。

また、MRS を用いた診断も必須であり、その診断基準作成を進めている。

D. 結論

GAMT 欠損症、AGAT 欠損症は劣性遺伝性疾患、SLC6A8 欠損症は X 連鎖性疾患であり、早期治療の有効性も考慮すると、適切な遺伝カウンセリングは極めて重要であり、臨床的および分子遺伝学的確定診断および疾患の診断基準、自然歴の確立が求められる。

E. 健康危険情報

特に報告すべき事項はない。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kato H, Miyake F, Shimbo H, Ohya M, Sugawara H, Aida N, Anzai R, Takagi M, Okuda M, Takano K, Wada T, Iai M, Yamashita S, Osaka H. Urine screening for patients with developmental disabilities detected a patient with creatine transporter deficiency due to a novel missense mutation in SLC6A8. *Brain Dev* 36: 630-603, 2014.
2. Akiyama T, Osaka H, Shimbo H, Nakajiri T, Kobayashi K, Oka M, Endoh F, Yoshinaga H. A Japanese adult case of guanidinoacetate methyltransferase deficiency. *JIMD Rep* 12: 665-69, 2014.
3. van de Kamp JM, Errami A, Howidi M, Anselm I, Winter S, Phalin-Roque J, Osaka H, van Dooren SJ, Mancini GM, Steinberg SJ,

Salomons GS. Genotype-phenotype correlation of contiguous gene deletions of SLC6A8, BCAP31 and ABCD1. Clin Genet 87: 141-147, 2015.

4. 野崎 章仁、熊田知浩、柴田実、藤井達哉、和田敬仁、小坂仁。尿中クレアチン/クレアチニン比と家族歴より診断に至ったクレアチントランスポーター欠損症の1家系 本邦3家系目。脳と発達 47; 49-52、2015.

発明者：： 和田敬仁、新保裕子、小坂仁

出願番号： 特願 2011-019561

出願日： 平成 23 年 2 月 1 日

登録日： 平成 26 年 12 月 12 日

2. 学会発表

1. 和田敬仁 脳クレアチン欠乏症への取り組み. 第 35 回グアニジノ化合物研究会、2014 年 10 月 11 日、筑波.

2. 太田悠介、立川正憲、落合祐介、和田敬仁、大槻純男、寺崎哲也：ヒトクレアチントランスポーター変異症例におけるクレアチン輸送機能の解明. 日本薬学会第 135 年会、2015 年 3 月 28 日、神戸

3. 上村立記、伊藤慎悟、太田悠介、立川正憲、平山未央、和田敬仁、寺崎哲也、大槻純男：脳クレアチン欠乏症候群に関連する新規変異クレアチントランスポーターの発現・局在と輸送機能特性の解析. 日本薬学会第 135 年会、2015 年 3 月 28 日、神戸.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特許第 5662182 号

発明の名称： 生体試料中のアミン測定方法およびその方法を用いる患者のスクリーニング方法

特許権者： 地方独立行政法人神奈川県立病院機構

図1

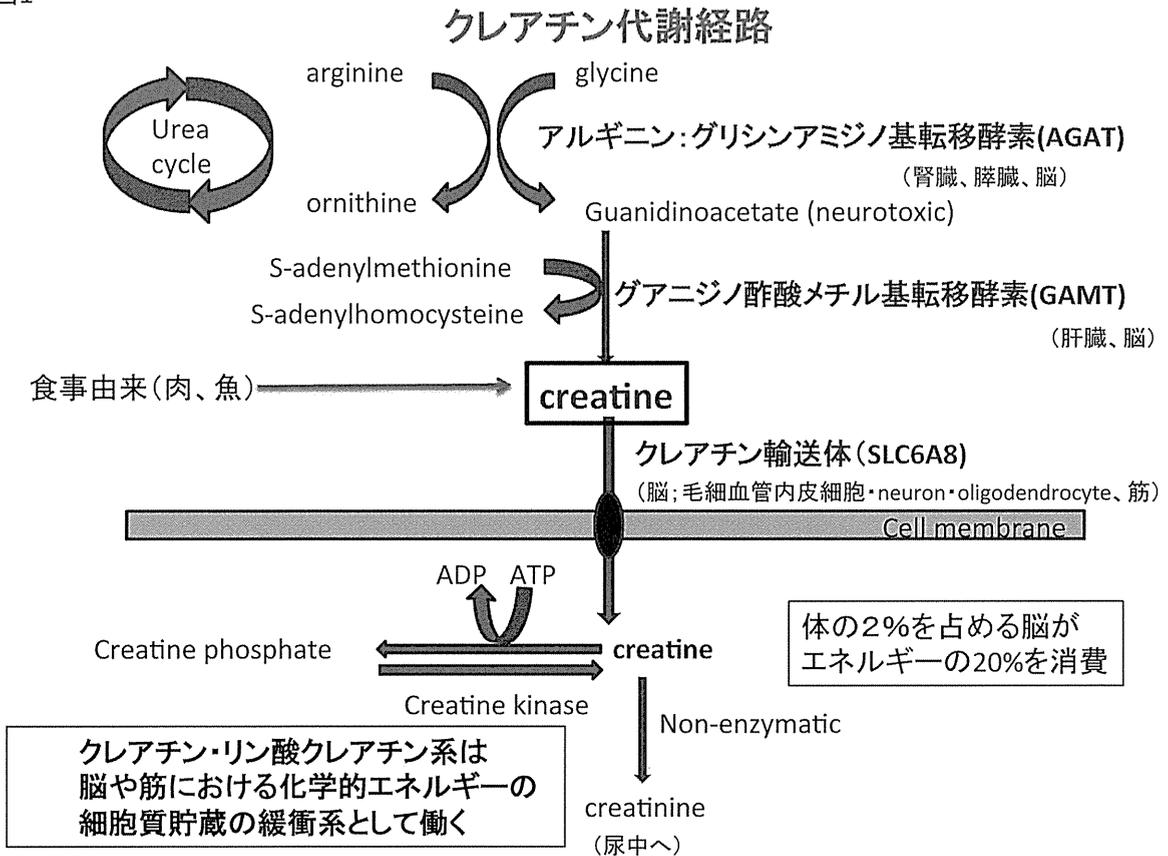


図2

脳クレアチン欠乏症候群

cerebral creatine deficiency syndromes (CCDSs)

• **常染色体劣性**

– アルギニン:グリシンアミノ基転移酵素(AGAT)欠損症

- AGAT遺伝子 (15q15.3)
- 治療:クレアチン400mg/kg/day

治療法がある
精神遅滞

– グアニジノ酢酸メチル基転移酵素(GAMT)欠損症

- GAMT遺伝子 (19p13.3)
- 治療:クレアチン400mg/kg/day, オルニチン、安息香酸Na摂取、アルギニン摂取制限

• **X連鎖**

– クレアチン輸送体(SLC6A8)欠損症

- SLC6A8遺伝子 (Xq28); 中枢神経(neuron, oligodendrocyte, microcapillary endothelial cells)、心筋、骨格筋で発現
- 治療:なし
- 頻度が高い
 - X連鎖精神遅滞の2%
 - 精神遅滞の男性の0.3-3.5%

• **女性保因者**

- 程度は様々; 無症状~学習障害や行動異常

[Stockler, 2007]

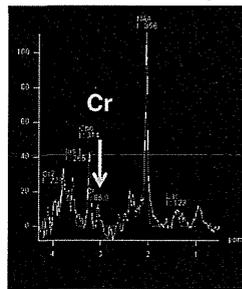
図3

脳クレアチン欠乏症の診断

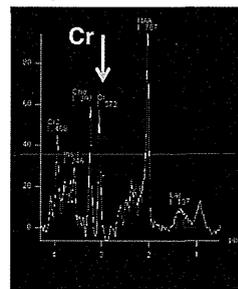
1. deficiency		urine		serum			Cerebrospinal fluid		
		GAA/CN	CR/CN	GAA	CR	CN	GAA	CR	CN
AGAT		↓	↓	↓	no data		no data	→	
GAMT		↑	↓	↑↑	↓	↓~→	↑↑	↓	
SLC6A8	male	→	↑	→	?		no data	→	
	female	→	→~↑					?	

(GAA: guanidinoacetic acid, CR: creatine, CN: creatinine)

2. ¹H magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS)



Patient with CTD



control

decreased peak of creatine at basal ganglia

図4

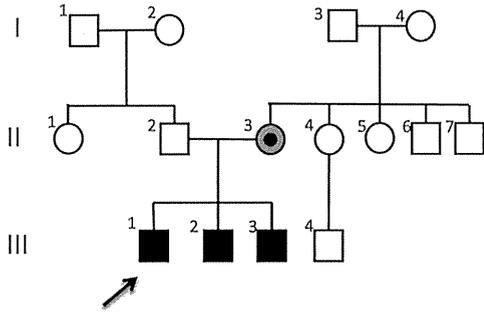
SLC6A8欠損症 臨床情報(抜粋)

	Family A				Family B				Family C			Family D		Family E
	III-1	III-2	III-3	II-3	III-3	III-6	III-7	II-3	II-1	II-2	I-2	II-1	I-2	II-1
年齢	6 Yr	4 Yr	2 Yr	29 Yr	17 Yr	19 Yr	9 Yr		10 Yr	5 Yr		1 Yr 8 Mo		6 Yr
性	M	M	M	F	M	M	M	F	M	M	F	M	F	M
身長(S.D.)	-0.7	-1.7	-3.4	-2.2		-0.4	-2.1		-0.1	-2.2		-3.2		-4.4
独歩	24 m	22 m	24 m	18 m		NA	4.7Y		24 m	30 m		25 m		No Head control
有意語	24 m	20 m	21 m	16 m		-	-		24 m	36 m		-		-
けいれん F: 熱性、Ep: てんかん	F	F	Ep	Ep	Ep	F(+), Ep	F/A		F	No		F		Ep
Intellectual Disability	moderate ID	severe ID	severe ID	mild ID	severe ID	Severe autism	Severe ID	mild ID	moderate ID	moderate ID	healthy	Moderate ID	healthy	Severe ID
SLC6A8 変異	c.1681 G>C, p.Gly561Arg in exon 12				c.1661C>T, p.Pro554Leu in exon 12				c.321_323del CTT, p.Phe107del in exon 2			c.514 T>C, p.Cys172Arg in exon 3		19-kb 欠失 de novo

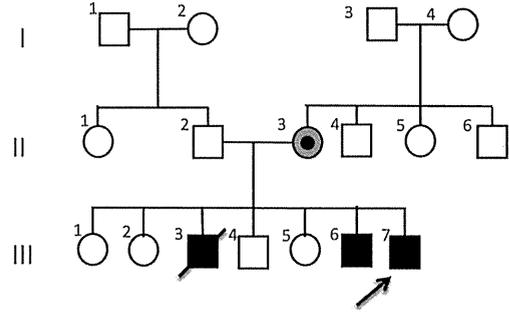
図5

SLC6A8欠損症 日本症例5家系の家系図

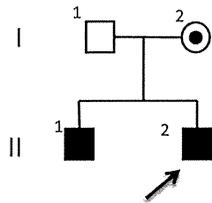
Family A



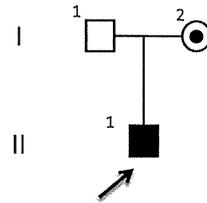
Family B



Family C



Family D



Family E

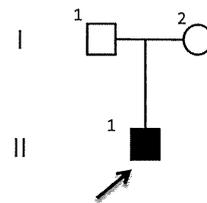
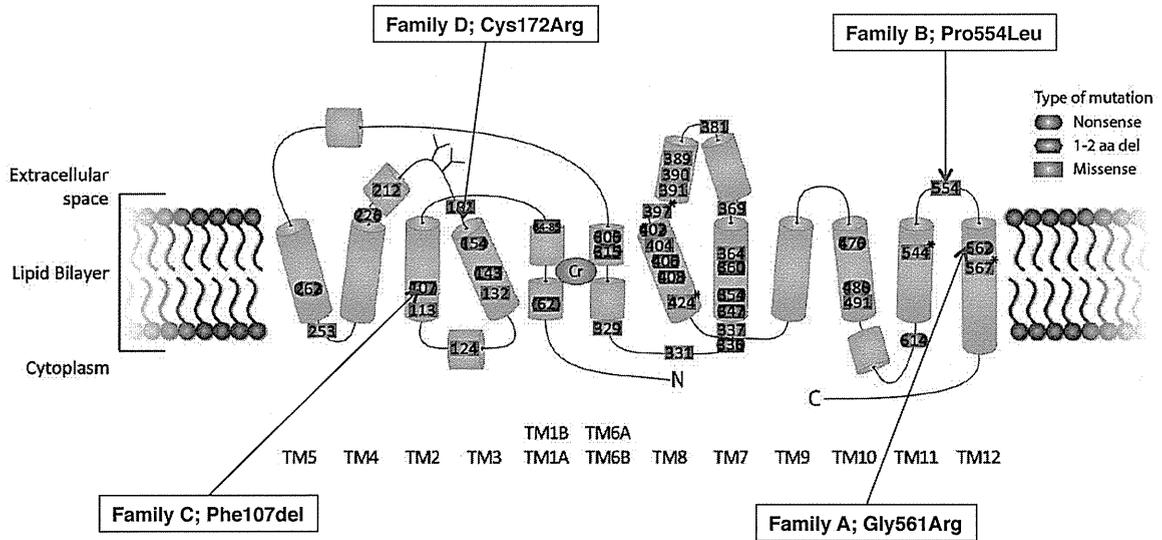


図6

患者で検出された変異の位置



The large deletion of Family E was excluded.

[From Van de Kamp, et al. J Med Genet, 2013]

図7

尿中クレアチン/クレアチニン比106名のコントロール
およびSLC6A8遺伝子変異を持つ男性患者および女性保因者

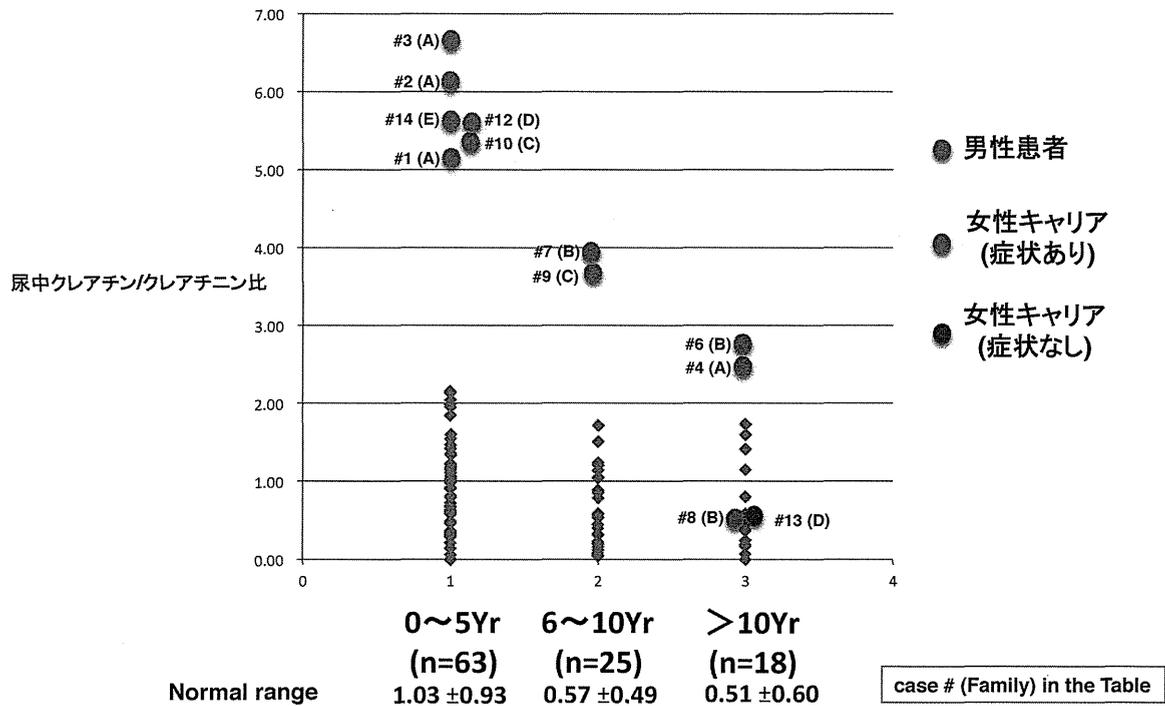


図8

Research Rare Disease R² Square **CURE Path** Creatine deficiency Urine test Rare disease Encounter care

このウェブサイトは患者さまのサイトです。医療従事者の方はこちら
[医療従事者のみなさまへ](#)

トップページ 疾患情報 研究者情報 ご協力をお願い お知らせ

精神遅滞や言語発達遅滞を引き起こす
脳クレアチン欠乏症候群
 をご存じですか？

本プロジェクトへ参加していただける方を
 只今募集しています。

■脳クレアチン欠乏症候群とは
 脳クレアチン欠乏症候群(cerebral creatine deficiency syndromes: CCDSs)には、いくつかの種類があり、そのうち一番多くの人がかかっているといわれている「クレアチン輸送体欠損症」は、いまだ研究の途上であり、治療法が確立されていません。ぜひ研究にご協力ください。→ くわしくはこちらへ

■新着情報
 2015.04.28 : CURE Path 登録受付開始
 2015.03.16 : CURE Path 公開

■ご意見をお寄せください。
 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬資源部 難病資源研究室
 住所 : 〒567-0085 大阪府茨木市彩都あきぎ7-6-8
 TEL/FAX : 072-641-9016 (受付時間: 9:00~16:00【土・日・祝日除く】)
 E-mail : raredis-r2@nibiohn.go.jp

制作・運用 : 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬資源部 難病資源研究室
 監修 : 和田敏仁先生 (京都大学医学部医療倫理学/遺伝医療学講座: 厚生労働省科学研究難治性疾患等政策研究事業「脳クレアチン欠乏症候群の臨床研究 (H26-難治等(難)一般-006)」代表者) フライバシーポリシー

All copyrights Reserved 2015 National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition

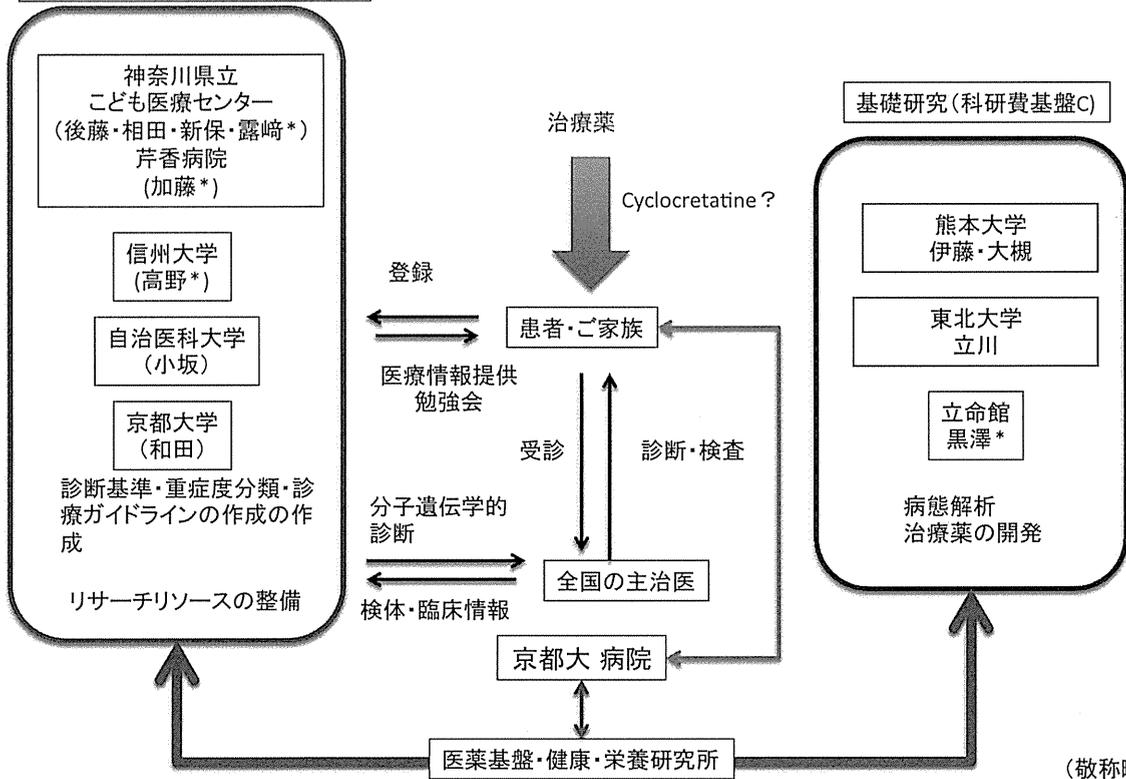
<http://raredis.nibio.go.jp/cure/index.html>

図9

研究班の組織図

臨床研究(厚生労働科学研究費)

基礎研究(科研費基盤C)



(敬称略)

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
分担研究報告書

脳クレアチン欠乏症候群の脳MRI/MRSに関する研究

研究分担者 相田 典子

地方独立行政法人神奈川県立病院機構 神奈川県立こども医療センター 放射線科部長

研究要旨

発達遅滞や自閉症を主訴に脳を初回検査した患児44例（男児30例、女児14例、生後10ヶ月から11才）のうち1例の23ヶ月男児において、視覚的なクレアチンピークの減少を認め、定量解析にて濃度は正常の2割以下と判断され、クレアチン欠乏症候群と診断した。特異的MRI異常は認めなかった。

共同研究者

富安 もよこ

放射線医学総合研究所重粒子医科学センター

A. 研究目的

脳クレアチン欠乏症候群の臨床症状は非特異的であり、中枢MRI所見の報告も少ない。一方脳¹H-MR spectroscopy（以下MRS）では、クレアチンピークの減少が明らかになることが知られている。発達遅滞を示す児にMRSを施行し、クレアチン欠乏症の早期診断をはかるとともに、診断確定例の脳MRI所見を解析し、その特徴を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

当センターの神経疾患疑い例でのルーチン脳MRI検査には、2-3カ所（基底核、半卵円中心と小脳）のMRSが組み込まれている。主に3T装置を用い、通常のT2強調像、T1強調像、拡散強調像などを撮像した後にMRSデータを取得する。具体的撮像方法は、single voxel、PRESS法を用い、TR5000、TE30、加算回数は4-32で、取得時間はシミング（磁場を均一にする前処理）時間を入れて約5分弱である。得られたス

ペクトルは視覚的診断とともに、共同研究者であるMRSの専門家によりLC Modelを用いた定量解析が行われる。

（倫理面への配慮）

何らかの神経症状があるか神経疾患が疑われる患児の脳MRI検査の際には、神奈川県立こども医療センターでは通常検査の中にMRSが組み込まれている。本研究での対象者も同様に通常検査の一環としてMRSが取得された。また、臨床上施行された画像診断を後方視的に検討することに関しては、包括同意が院内およびHP上での掲示されており、当センターの規定で倫理委の個別承認は必要とされていない。

C. 研究結果

平成27年度、発達遅滞や自閉症を主訴に脳を初回検査した患児は44例（男児30例、女児14例、生後10ヶ月から11才）でいずれにもMRSが取得された。このうち1例の23ヶ月男児において、視覚的なクレアチンピークの減少を認め（図）、定量解析にて脳内クレアチン濃度は正常の2割以下と判断された。クレアチン代謝の1つ上流のグアニジノアセテート（GAA）は定量解析ソフト上で正常群との差は明らかで

なかった（微量であるため微妙な差の判断は難しい）。したがって、ここの変換酵素（グアニジノアセテートメチルトランスフェラーゼ、GAMT）の低下は考えにくい結果であった。

脳MRIには大きな異常所見は認められなかった(図)。

図 Creatine deficiency

23 months boy with mental retardation

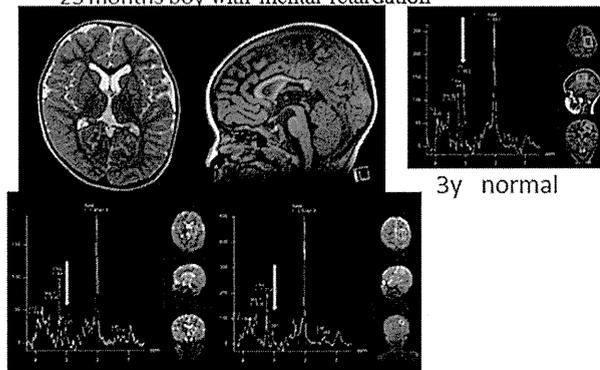


図 クレアチン欠乏症候群のMRI/MRS

23ヶ月男児

基底核、半卵円中心の双方で得られたMRSでクレアチンピークの明らかな低下が見られる(↓)。右は正常児での波型。

本例は現在、病型の確定診断にむけて精査中である。

D. 考察

諸外国の文献によると、クレアチン欠乏症候群による発達遅滞はある頻度で存在しているが、我が国での診断確定例はまだ非常に少ない。当センターの過去3例の経験でも、画像的にも特異所見に乏しく、MRSの追加がなければ容易に診断にたどり着けなかった。今年度の症例は酵素欠損を特定する病型診断あるいは遺伝子診断は検索中であるが、クレアチン欠乏症候群であることは間違いなく、本例もMRSが診断のきっかけとなった。

来年度以降は、当センターの4例と他院での確定例の画像所見、MRS所見、病型との対比を

行い、早期診断に寄与できる方法と検討し、診断体制の構築を目指したい。

F. 研究発表

1, 論文発表

- 1) Nakashima M, Takano K, Osaka H, Aida N, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. Causative novel PNKP mutations and concomitant PCDH15 mutations in a patient with microcephaly with early-onset seizures and developmental delay syndrome and hearing loss. *J Hum Genet.* 2014 Aug;59(8):471-4. doi:10.1038/jhg.2014.51. Epub 2014 Jun 26. PubMed PMID: 24965255. 査読あり
- 2) Takano K, Tsuyusaki Y, Sato M, Takagi M, Anzai R, Okuda M, Iai M, Yamashita S, Okabe T, Aida N, Tsurusaki Y, Saitsu H, Matsumoto N, Osaka H. A Japanese girl with an early-infantile onset vanishing white matter disease resembling Cree leukoencephalopathy. *Brain Dev.* 2014 Oct 27. pii: S0387-7604(14)00250-2. doi:10.1016/j.braindev.2014.10.002. 査読あり
- 3) Matsui K, Kataoka A, Yamamoto A, Tanoue K, Kurosawa K, Shibasaki J, Ohyama M, Aida N. Clinical characteristics and outcomes of Möbius syndrome in a children's hospital. *Pediatr Neurol.* 2014 Dec;51(6):781-9. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2014.08.011. Epub 2014 Aug 27. PubMed PMID: 25306435. 査読あり
- 4) Niwa T, Aida N, Osaka H, Wada T, Saitsu H, Imai Y. Intracranial Hemorrhage and

Tortuosity of Veins Detected on Susceptibility-weighted Imaging of a Child with a Type IV Collagen $\alpha 1$ Mutation and Schizencephaly. Magn Reson Med Sci. 2014 Dec 15. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25500781. 査読あり

2. 学会発表

- 1) Noriko Aida, Moyoko Tomiyasu, Kumiko Nozawa, Yuta Fujii, Mikako Enokizono, Takayuki Obata, Sumimasa Yamashita : Utility of ^1H -MRS in the diagnosis and disease monitoring for pediatric CNS disorders.

XXth Symposium Neuroradiologicum
Istanbul, September 9, 2014

- 2) 相田典子、富安もよこ、小嶋隆行：先天性小児神経代謝疾患の診断・経過における ^1H -MRS の有用性. 第 42 回日本磁気共鳴医学会（京都 2014 年 9 月 19 日）

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
分担研究報告書

脳クレアチニン欠乏症候群の病態解明に対する研究

分担研究者 小坂仁 自治医科大学 小児科 教授

研究要旨：

脳クレアチニン欠乏症候群には L-arginine: glycine amidinotransferase 欠損症, guanidinoacetate methyltransferase 欠損症, creatine transporter 欠損症がある。昨年度までに我々は、本邦における creatine transporter 欠損症を見出してきた。本年度我々は、guanidinoacetate methyltransferase 欠損症の本邦初症例を見出し、治療により著しい改善を認めた。脳クレアチニン欠乏症候群では治療可能な、guanidinoacetate methyltransferase 欠損症, creatine transporter 欠損症のスクリーニング体制および最も多い creatine transporter 欠損症の新たな治療法開発という、2つのアプローチが必要である。

研究協力者 秋山倫之 岡山大学病院 小児
神経科・講師

A. 研究目的

発達遅滞および自閉症の原因として近年、先天的なクレアチン(CR)代謝異常症(CCCS)が注目されている。CRは、脳および筋肉においてATPの速やかな産生に重要な役割を持ち、言語機能を中心とした、知的機能での重要性が近年明らかになりつつある。CRは、血液脳関門を通過しないために、脳において独自の合成、輸送経路を持っている。これらの異常により、脳性クレアチニン欠損症；Cerebral creatine deficiency syndromes, CCCSと総称される疾患を呈する。今までに(L-arginine: glycine amidinotransferase (AGAT)欠損症, guanidinoacetate methyltransferase (GAMT)欠損症, creatine transporter (SLC6A8)がみいだされている。これら3疾患の共通の症状は精神遅滞、自閉症、てんかんであり、欧米では精神遅滞の2%前後を占めるといわれるが、本邦では報告例がなく、その頻度は不明であった。昨年までに私共は、これらの疾患のスクリーニング方法として、HPLCを用いた簡便な方法を開発しSLC6A8欠損症の本邦初症例を報告した。今年度はGAMT欠損例（本邦初）を診断し、治療により改善を認めたので報告する。

B. 症例

30歳台女性。周生期異常なし。定額獲得するもたが、以降の運動発達は遅れた。有意語は未獲得で言語理解も乏しく、30歳頃より長距離が歩けなくなった。1歳半ばよりてんかん発作が出現し、Lennox-Gastaut症候群を呈した。兄が難治性てんかんで死亡している。

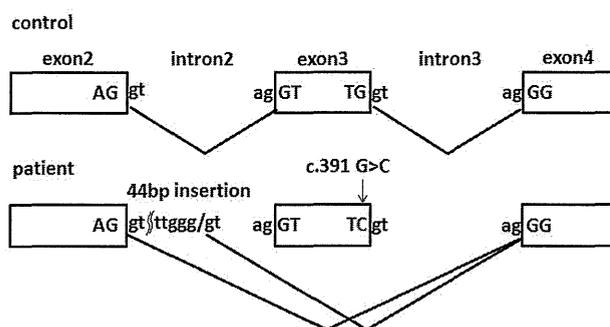
血清クレアチニン (<0.1 mg/dL) とクレアチン (0 mg/dL) が著明低値であり、頭部MRSでクレアチンピークが欠損しており、頭部MRIで両側淡蒼球の異常信号をみとめており、CCCSが疑われた。

C. 研究結果

前処理した尿25 µlを用い、CR:クレアチン、GAA:グアニジノ酢酸、GN:クレアチニンを測定した。尿中グアニジノ酢酸(GAA)が著しく上昇しており(548.64 mmol/mol cr; 基準値3-78)、GAMT欠損症を強く疑った。GAMT遺伝子解析をおこなったところ、c.391G>C p.Gly131Arg in exon3

(p.Val110Glyfs*30 and .Ile111Profs*73)
c.578A>G p.Gln193Arg in exon6の複合ヘテロ変異(2つとも新規変異)を確認した

図1. c. 391G>Cによる2つのスプライシング産物



RT-PCRを行ったところ c. 391G>C では、スプライシングの異常を来たしエクソン3がスプライスアウトされた2つの異常スプライシング産物ができていることが判明した。クレアチン・オルニチン補充療法を開始し、てんかん発作は完全抑制され歩行機能の改善もみられた。

D. 考察

血漿 GAA 値は、治療前の $28.43 \mu\text{mol/L}$ (基準値 $1.0\text{--}3.5$) から、治療開始1、3、6ヶ月後は 7.53 、 6.14 、 $5.45 \mu\text{mol/L}$ と低下した。また髄液 GAA 値は、治療前の $7.09 \mu\text{mol/L}$ (基準値 $0.02\text{--}0.50$) から、治療開始6ヶ月後は $3.01 \mu\text{mol/L}$ と低下しており、臨床症状の改善と平行していた。

(Akiyama T, JIMD rep., 2014)

E. 結論

脳クレアチニン欠乏症候群の中には、治療可能な疾患群；AGAT)欠損症，GAMT欠損症が含まれる。この2疾患の早期発見システムの構築も重要な課題であると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Imagawa E, Osaka H, Yamashita A, Shiina M, Takahashi E, Sugie H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Ogata K, Matsumoto N, Miyake N. A hemizygous GYG2 mutation and Leigh syndrome: a possible link? Hum Genet 2014; 133: 225-34
2. Okabe T, Aida N, Niwa T, Nozawa K, Shibasaki J, Osaka H. Early magnetic resonance detection of cortical necrosis

and acute network injury associated with neonatal and infantile cerebral infarction. Pediatr Radiol. 2014; 53: 448-58

3. Akiyama T, Osaka H, Shimbo H, Nakajiri T, Kobayashi K, Oka M, Endoh F, Yoshinaga H. A Japanese Adult Case of Guanidinoacetate Methyltransferase Deficiency. JIMD Rep. 2014; 12: 65-9
4. Wada T, Haddad MR, Yi L, Murakami T, Sasaki A, Shimbo H, Kodama H, Osaka H, Kaler SG. A Novel Two-Nucleotide Deletion in the ATP7A Gene Associated With Delayed Infantile Onset of Menkes Disease. Pediatr Neurol. 2014; 50: 417-20
5. Shimbo H, Takagi M, Okuda M, Tsuyusaki Y, Takano K, Iai M, Yamashita S, Murayama K, Ohtake A, Goto Y, Aida N, Osaka H. A rapid screening with direct sequencing from blood samples for the diagnosis of Leigh syndrome. Mol Genet Metab Report, 2014; 1:133-138.
6. Ohshiro-Sasaki A, Shimbo H, Takano K, Wada T, Osaka H. A Three-Year-Old Boy With Glucose Transporter Type 1 Deficiency Syndrome Presenting With Episodic Ataxia. Pediatr Neurol. 2014 Jan;50(1):99-100.
7. Nakashima M, Takano K, Osaka H, Aida N, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. Causative novel PNKP mutations and concomitant PCDH15 mutations in a patient with microcephaly with early-onset seizures and developmental delay syndrome and hearing loss. J Hum Genet. 2014 Aug;59(8):471-4.
8. Miyatake S, Osaka H, Shiina M, Sasaki M, Takanashi J, Haginoya K, Wada T, Morimoto M, Ando N, Ikuta Y, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Ogata K, Matsumoto N, Saitsu H. Expanding the phenotypic spectrum of TUBB4A-associated hypomyelinating leukoencephalopathies. Neurology. 2014 Jun 17;82(24):2230-7.
9. Kouga T, Shimbo H, Iai M, Yamashita S, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Yamakawa K, Osaka H. Effect of CYP2C19

- polymorphisms on stiripentol administration in Japanese cases of Dravet syndrome. *Brain Dev.* 2014 May 9.
10. Kato M, Saitsu H, Murakami Y, Kikuchi K, Watanabe S, Iai M, Miya K, Matsuura R, Takayama R, Ohba C, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Hamano S, Osaka H, Hayasaka K, Kinoshita T, Matsumoto N. PIGA mutations cause early-onset epileptic encephalopathies and distinctive features. *Neurology.* 2014 May 6;82(18):1587-96.
 11. van de Kamp J, Errami A, Howidi M, Anselm I, Winter S, Phalin-Roque J, Osaka H, van Dooren S, Mancini G, Steinberg S, Salomons G. Genotype-phenotype correlation of contiguous gene deletions of SLC6A8, BCAP31 and ABCD1. *Clin Genet* 2014 Mar 5. doi: 10.1111/cge.12355. [Epub ahead of print]
 12. Numata Y, Gotoh L, Iwaki A, Kurosawa K, Takanashi J, Deguchi K, Yamamoto T, Osaka H, Inoue K. Epidemiological, clinical, and genetic landscapes of hypomyelinating leukodystrophies. *J Neurol.* 2014 Apr;261(4):752-8.
 13. Nakamura K, Osaka H, Murakami Y, Anzai R, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Kinoshita T, Matsumoto N, Saitsu H. PIGO mutations in intractable epilepsy and severe developmental delay with mild elevation of alkaline phosphatase levels. *Epilepsia.* 2014 Feb;55(2):e13-7.
 14. Numasawa-Kuroiwa Y, Okada Y, Shibata S, Kishi N, Akamatsu W, Shoji M, Nakanishi A, Oyama M, Osaka H, Inoue K, Takahashi K, Yamanaka S, Kosaki K, Takahashi T, Okano H. Involvement of ER Stress in Dysmyelination of Pelizaeus-Merzbacher Disease with PLP1 Missense Mutations Shown by iPSC-Derived Oligodendrocytes. *Stem Cell Reports.* 2014 Apr 24;2(5):648-61.
 15. Tamaura M, Shimbo H, Iai M, Yamashita S, Osaka H. Seizure recurrence following pyridoxine withdrawal in a patient with pyridoxine-dependent epilepsy. *Brain Dev.* 2014 Aug 7. pii: S0387-7604(14)00185-5. doi: 10.1016/j.braindev.2014.07.008. [Epub ahead of print]
 16. Kodera H, Osaka H, Iai M, Aida N, Yamashita A, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. Mutations in the glutaminyl-tRNA synthetase gene cause early-onset epileptic encephalopathy. *J Hum Genet.* 2014 Dec 4. doi:10.1038/jhg.2014.103. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25471517.
 17. Takano K, Tsuyusaki Y, Sato M, Takagi M, Anzai R, Okuda M, Iai M, Yamashita S, Okabe T, Aida N, Tsurusaki Y, Saitsu H, Matsumoto N, Osaka H. A Japanese girl with an early-infantile onset vanishing white matter disease resembling Creeleukoencephalopathy. *Brain Dev.* 2014 Oct 27. pii: S0387-7604(14)00250-2. doi:10.1016/j.braindev.2014.10.002. [Epub ahead of print]
 18. Niwa T, Aida N, Osaka H, Wada T, Saitsu H, Imai Y. Intracranial Hemorrhage and Tortuosity of Veins Detected on Susceptibility-weighted Imaging of a Child with a Type IV Collagen $\alpha 1$ Mutation and Schizencephaly. *Magn Reson Med Sci.* 2014 Dec 15. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25500781.
- 雑誌
- 1) 小坂 仁 大脳萎縮症 編集 水澤秀洋、新領域別症候群シリーズ No. 29 「神経症候群(第2版)IV、日本臨牀社 p. 319-324. 2014
 - 2) 小坂 仁 小脳萎縮症 編集 水澤秀洋、新領域別症候群シリーズ No. 29 「神経症候群(第2版)IV、日本臨牀社 p. 325-328. 2014 (査読無)
2. 学会発表
- Hitoshi Osaka, Hiroko Shimbo, Kei Murayama, Akira Ohtake, Noriko Aida
- A rapid screening with direct sequencing from blood samples for the diagnosis of Leigh syndrome.