

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、临床上重要な点は、(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

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