

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。

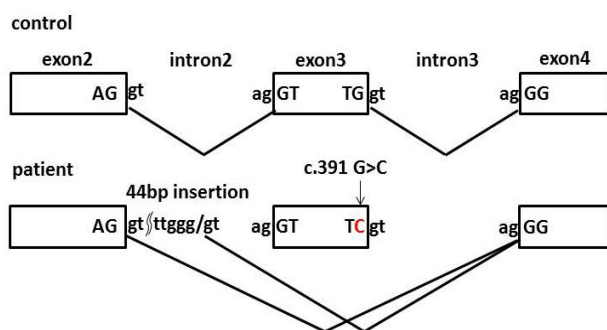
血清クレアチニン (<0.1 mg/dL) とクレアチニン (0 mg/dL) が著明低値であり、頭部 MRS でクレアチンピークが欠損しており、頭部 MRI で両側淡蒼球の異常信号をみとめており、CCCS が疑われた。

C．研究結果

前処理した尿 25 μ l 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.578 A>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 1.0-3.5) 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 0.02-0.50) 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, Saito 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, Saito 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, Saito H, Matsumoto N. Mutations in the glutamyl-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, Saito 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. [Epub ahead of print]
 18. Niwa T, Aida N, Osaka H, Wada T, Saito H, Imai Y. Intracranial Hemorrhage and Tortuosity of Veins Detected on Susceptibility-weighted Imaging of a Child with a Type IV Collagen 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.

Mitochondrial Medicine 2014: Pittsburgh, PA
June 4-7, 2014.

ガバペンチンが有効であった GNA01 変異をもつヒョレアアテトーシスの一例

高木真理子¹, 佐藤睦美¹, 安西里恵¹, 奥田美津子¹, 露崎悠¹, 高野亨子^{1,2}, 井合瑞江¹, 中村和幸^{3,4}, 才津浩智³, 小坂仁^{1,5}, 山下純正¹

¹ 神奈川県立こども医療センター神経内科, ² 信州大学医学部遺伝医学予防医学講座, ³ 横浜市立大学医学部遺伝学講座, ⁴ 山形大学小児科, ⁵ 自治医科大学小児科学講座
56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30.
浜松

重度精神遅滞, 難治性てんかんの臨床像を示し, PIG0 遺伝子変異が同定された 1 例

安西里恵¹, 佐藤睦美¹, 高木真理子¹, 奥田美津子¹, 露崎悠¹, 高野亨子^{1,4}, 井合瑞江¹, 中村和幸^{2,3}, 才津浩智², 小坂仁^{1,5}, 山下純正¹

¹ 神奈川県立こども医療センター神経内科, ² 横浜市立大学医学部遺伝学, ³ 山形大学医学部小児科, ⁴ 信州大学医学部遺伝医学, ⁵ 自治医科大学医学部小児科
56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30.
浜松

Whole exome sequencing reveals molecular basis of childhood cerebellar atrophy

Hitoshi Osaka^{1,2}, Yu Tsuyusaka¹, Mizue Iai², Sumimasa Yamashita², Nobuyuki Shimosawa³, Yoshikatsu Eto⁴, Hiroto Saito⁵

¹Department of Pediatrics, Jichi Medical School, ²Division of Neurology, Kanagawa Childrens Medical Center, ³Division of Genomics Research, Life Science Research Center, Gifu University, ⁴Advanced Clinical

Research Center & Asian LSD Center, Institute of Neurological disorders, ⁵Department of Human Genetics, Graduate School of Medicine, Yokohama City University
56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30.
浜松

Effect of CYP2C19 polymorphisms on stiripentol administration in cases of Dravet syndrome

Takeshi Kouga^{1,2}, Mariko Takagi³, Rie Anzai³, Mutsumi Sato³, Mitsuko Okuda³, Kyoko Takano³, Mizue Iai³, Sumimasa Yamashita³, Hitoshi Osaka^{2,3}

¹Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, ²Department of Pediatrics, Jichi Medical University, ³Division of Neurology, Kanagawa Children's Medical Center
56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30.
浜松

Mutational and functional analysis of Glucose transporter 1 deficiency syndrome.

Sachie Nakamura¹⁾, Hitoshi Osaka¹⁾, Shinichi Muramatsu²⁾, Shiho Aoki¹⁾, Eriko F. Jimbo¹⁾, Takanori Yamagata¹⁾

Department of Pediatrics¹⁾, Department of Neurology²⁾, Jichi Medical University
2014.10.18-22 第 64 回アメリカ人類遺伝学会 (サンディエゴ)

ミトコンドリア DNA m.3243A>T 変異を認めた mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes の 1 例

池田尚広¹⁾, 山崎雅世¹⁾, 鈴木峻¹⁾, 門田行史¹⁾, 小坂仁¹⁾, 杉江秀夫¹⁾, 新保裕子²⁾, 山形崇倫¹⁾

¹⁾自治医科大学小児科, ²⁾神奈川県立こども医療センター臨床研究所
56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30.

浜松

Infantile Neuroaxonal Dystrophy 様の脳 MRI 所見を示した SLC9A6 変異を有する一例

山本亜矢子 1,2, 和田敬仁 2,3, 新保裕子 2, 松本直通 4, 小坂仁 2,5

1 大和市立病院小児科, 2 神奈川県立こども医療センター神経内科, 3 京都大学大学院医学研究科医療倫理学/遺伝医療学, 4 横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学, 5 自治医科大学小児科学講座 56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松

治療可能な小脳失調: Cerebral Folate Transport Deficiency の同胞例

露崎悠 1, 井合瑞江 1, 安西里恵 1, 佐藤睦美 1, 高木真理子 1, 奥田美津子 1, 高野亨子 1,3, 小坂仁 1,2, 山下純正 1, 才津浩智 4

1 神奈川県立こども医療センター神経内科, 2 自治医科大学小児科学講座, 3 信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座, 4 横浜市立大学医学部遺伝学
56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松

当院における副腎白質ジストロフィー6 例の臨床的検討

宮内彰彦 1, 門田行史 1, 池田尚広 1, 川原勇太 1, 長嶋雅子 1, 小坂仁 1, 杉江秀夫 1, 森本哲 1, 渡辺浩史 3, 下泉秀夫 3, 下澤伸行 2, 山形崇倫 1

1 自治医科大学小児科, 2 岐阜大学生命科学総合研究支援センターゲノム研究分野, 3 国際医療福祉リハビリテーションセンターなす療育園 56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松

非造影灌流画像, ASL で最も鋭敏にとらえた MELAS の脳卒中様発作の一例

奥田美津子 1, 佐藤睦美 1, 安西里恵 1, 高木真

理子 1, 露崎悠 1, 高野亨子 1,2, 井合瑞江 1, 小坂仁 1,3, 山下純正 1

1 神奈川県立こども医療センター神経内科, 2 信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座, 3 自治医科大学小児科学講座 56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松

頸部動脈解離による脳梗塞

佐藤睦美 1, 高木真理子 1, 安西里恵 1, 奥田美津子 1, 露崎悠 1, 高野亨子 1,2, 小坂仁 1,3, 井合瑞江 1, 山下純正 1

1 神奈川県立こども医療センター神経内科, 2 信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座, 3 自治医科大学小児科学講座
56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松

くも膜下出血を合併した Reversible cerebral vasoconstriction syndrome の女児例

吉原尚子 1,2, 和田敬仁 1,3, 高木真理子 1, 佐藤睦美 1, 安西里恵 1, 奥田美津子 1, 露崎悠 1, 小坂仁 1,4, 高野亨子 1,5, 井合瑞江 1, 山下純正 1

1 神奈川県立こども医療センター神経内科, 2 日本赤十字社医療センター小児科, 3 京都大学医学部医療倫理学遺伝医療学講座, 4 自治医科大学小児科学講座, 5 信州大学医学部付属病院遺伝医学講座
56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松

早期ステロイドパルス療法によるけいれん重積型急性脳症発症予防効果の検討

池田尚広, 山形崇倫, 谷口祐子, 宮内彰彦, 石井朋之, 長嶋雅子, 門田行史, 小坂仁, 杉江秀夫自治医科大学小児科 56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松

日内変動を伴うジストニアを認める自閉症スペクトラム障害の男児例

宮内彰彦¹⁾、門田行史¹⁾、長嶋雅子¹⁾、杉江秀夫¹⁾、小黒範子²⁾、小坂仁¹⁾、山形崇倫¹⁾

1) 自治医科大学小児科学

2) とちぎリハビリテーションセンター小児科

2014.9.20 第61回日本小児神経学会関東地方会（筑波）

H. 知的所有権の取得状況

1. エリスロポエチン発現増強剤。国際出願 国際公開番号：W02014/080640A1

2. 生体試料中のアミンの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

特願 2011-019561 特許第 5662182 号