

分担研究課題：シトルリン欠損症に関する研究および重症度分類に関する調査研究

成人型シトルリン血症 (CTLN2) の臨床像と治療戦略

研究要旨

1990年以降、信州大学に入院加療歴のある成人型シトルリン血症(CTLN2)患者36名（男性22名；女性14名）の臨床像と治療成績について検討した。脳症初発年齢は平均40.1±14.5歳で、最少年齢11歳から最高年齢が73歳であった。治療に関しては、16名の患者にこれまで肝移植を施行してきた。1例、移植後15年以上経過後に、*de novo* 肝炎から肝硬変となり死亡したが、他は術後経過良好である。また15名の成人患者に対して、低炭水化物制限食と経口ピルビン酸を投与し、9名（60%）で、脳症の発作頻度軽減などの有効性を観察し得た。重篤な副作用もなく、炭水化物制限食と経口ピルビン酸投与は、まず試みられる治療法と考えられる。

研究協力者

矢崎正英（信州大学バイオメディカル研究所・准教授）

A. 研究目的

成人型シトルリン血症 (CTLN2) は、シトルリン欠損症患者の臨床病型で最重症型であり、以前は多くの患者が、脳症の悪化から死亡していた。今回自験例 CTLN2 患者の臨床像の検討と治療経験から、内科的治療法、特に低炭水化物食と経口ピルビン酸ナトリウム療法の有効性について検討した。

B. 研究方法

1990年以降、信州大学に入院加療歴のある CTLN2 患者36名(男性22名；女性14名)の臨床像と治療成果について後方視的に検討した。また CTLN2 患者15名(男性9名；女性6名)に対し、炭水化物制限食（炭水化物熱量比 40-45%）と経口ピルビン酸（平均7.65±3.45g/day: 4-15g/day）の投与を行い、臨床経過の観察から、治療法の有効性を検討した。

（倫理面への配慮）

成人型シトルリン血症患者に対する経口ピルビン酸投与に関しては、信州大学医学部倫理委員会の承認のもと、患者には十分なインフォームドコンセントを行い投与している。

C. 研究結果

自験例患者36名の臨床像では、脳症初発年齢は平均40.1±14.5歳で、11歳から最高年齢が73歳であった。発症誘因が比較的明らかな患者は、4名(手術1名、飲酒1名、腎不全食2名)であった。33名に飲酒や糖質を嫌う食嗜好が認められたが、73歳発症の患者では、飲酒も可能であり、特異な食癖は顕著ではなかった。脳症以外の臨床像としては、全例で脂肪肝を認め、7例(21%)で脳症発症以前に膵炎の罹患歴が認められた。2例(6%)に肝臓癌、1例で十二指腸ソマトスタチン産生腫瘍を合併していた。また2例で多発のう胞腎、1例で巣状糸球体硬化症による慢性腎不全を併発していた。1名(11歳)で神経性食思不振症・成長障害を合併した。

治療に関しては、16名の患者にこれまで肝移植を施行してきた。1例、移植後15年以上経過後に、*de novo* 肝炎から肝硬変となり死亡したが、他は術後経過良好である。

成人患者15名のピルビン酸投与例において、最長で6年経過観察を行った。投与前後の肝性昏睡度（1-5度：犬山分類 1981年）の比較では、投与前の平均昏睡度が3.87±0.64度であったが、治療開始後は2.07±1.75度と有意に改善した(P<0.01)。9名の患者（60%）で、有効性（最重症昏睡度の低下、脳症発作頻度の低下、脳波所見の改善など）が認められた。このうち、6名では(40%)、脳症発作をほとんど起こさなくなっている。しかしながら、15例中6名については、投与後も発作を繰り返している。

返しており、3名については肝移植を施行した。2名については、慢性腎不全患者であった。

血液検査では、血漿アンモニア値は、治療前の平均が245.5±90 μg/dlで、治療後の平均値が125.7±133.2 μg/dlと有意に低下したが(p<0.01)、血漿シトルリン値、Fisher比などは有意に低下しなかった(表1)。

ピルビン酸投与が有効であった2名と、肝移植施行3名のピルビン酸投与前に施行した肝生検組織を用いて、尿素回路酵素であるASSの免疫染色を施行した所、有効例では門脈域周辺にASSの発現が比較的保たれていたが、非有効例では、2例でほとんど発現がなく、1例でも発現が弱かった。

本治療による副作用に関しては、全例で重篤な副作用は、今のところ認められていない。

D. 考察

本症の臨床像は多様性に富んでおり、脳症発症以前に、肝炎、膵炎、脂肪肝、肝臓癌、神経性食思不振症を併発する。高齢発症患者では、本症に特異な食癖は目立たず、また飲酒も可能であり、高齢発症の肝性脳症患者には、本症の可能性についても注意が必要である。

血液検査上では、血漿シトルリン値は、有意に低下しなかったが、血漿アンモニアの低下や肝性昏睡度は、食事療法とピルビン酸投与により有意に低下・改善した。約60%の患者で、有効性が認められたが、6名では、脳症発作を繰り返しており、3名で肝移植を施行した。また2名では慢性腎不全患者であった。以上の結果から、低炭水化物食と経口ピルビン酸投与は、多くの患者に有効で、脳症の発作消失も期待できるが、残存肝ASSの極めて低い患者や、腎不全患者に有効性が劣る可能性が示された。

E. 結論

本症の臨床像は多様性に富んでおり、脳症発症以前に、肝炎、膵炎、脂肪肝、肝臓癌、神経性食思不振症を併発する。

約60%の患者にピルビン酸の有効性が認められた。重篤な副作用もなく、炭水化物制限食と経口ピルビン酸投与は、まず試みられる治療法と考えられる。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Komatsu M, Kimura T, Yazaki M, Tanaka N, 他11名. Steatogenesis in adult-onset type II citrullinemia is associated with down-regulation of PPARα. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1852:473-481.
- 2) Kyo M, Mii H, Takekita Y, Tokuhara D, Yazaki M, 他3名. A case of adult-onset type II citrullinemia treated as schizophrenia for long times. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2014 doi: 10.1111/pcn.12253. (Epub ahead of print)

2. 学会発表

- 1) 矢崎正英、池田修一：成人型シトルリン血症患者の内科的治療戦略：低炭水化物食と経口ピルビン酸の有効性。第55回日本神経学会総会、福岡、5月、2014

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

	投与前	投与後	有意差
最重症昏睡度	3.87±0.64	2.07±1.75	p<0.01
血漿アンモニア (μg/dL)	245.5±90	125.7±133.2	P<0.01
血漿シトルリン (nmol/mL)	639.3±513.9	454.3±325.8	NS
血漿Fischer比	2.63±1.68	2.28±0.58	NS

表1：ピルビン酸投与前後の平均肝性昏睡度（犬山分類）・血液検査結果

平成 26 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

15 歳を過ぎた先天代謝異常症患者の問題点—トランジションを含めて—
研究分担者 高柳正樹（千葉県こども病院副院長）

研究要旨

成人先天性心疾患という分野が 10 年以上前から日本においても確立されてきている。千葉県循環器センターでは、小児、成人の小児科医、内科医、循環器外科医さらに専門の看護師も加えて、チーム医療としてこれに対応している。先天代謝異常症もこれまで診療を行ってきた小児科医中心のチームに内科医に加わってもらい、共同で患者の治療管理にあたるのが必要と考える。年長の先天代謝異常症の患者を的確に診療するためには、現在の小児科医中心のチームに内科医の参加を求め、共同で治療管理を行っていく必要がある。

研究協力者

村山 圭（千葉県こども病院代謝科 主任医長）

A. 研究目的

千葉県こども病院代謝科に受診している患者のうち、15 歳以上の患者の実態を調査する。先天代謝異常症患者のトランジションにおける問題点を明らかにする。

B. 研究方法

千葉県こども病院の診療録から、2024 年に代謝科に受診したすべての患者を検索し、その患者を年齢別にソートし分析した。

ウィルソン病、ライソゾーム病、リジン尿性タンパク不耐症、メチルマロン酸血症などの症例の現在年齢や治療法などを調査し、トランジションにおける問題点を検討した。

（倫理面への配慮）

疫学的研究である。患者の氏名などの個人情報、これを秘匿している。

C. 研究結果

2014 年に千葉県こども病院に受診した患者数は 438 名であった。この患者を 5 歳ごとの年齢階級に

分け図にあらわした。15 歳以上の患者は 78 名、17.8%であった。最高年齢は 69 歳のファブリー病の女性患者であった。

当院に受診しているウィルソン病は合計 9 症例であり、そのうち 8 例が 15 歳以上であった。3 症例は転居や就職で都内の病院にトランジションしている。年長の患者の治療のアドヒアランスにもっとも関連している事は、就学、就職問題であることが明らかになった。

リジン尿性タンパク不耐症は 5 症例中 4 例は 30 歳以上であった。これら年長者は腎不全、SLE、妊娠出産、知能発達遅滞など広範な臨床的問題を呈しており、成人内科の関与が必要とされている。

ライソゾーム病の患者は 12 症例中 10 例が 15 歳以上であった。これら年長者の多くが酵素補充療法を受けており、安定した治療の継続についても検討していくべき問題があると考えられた。

メチルマロン酸血症は 5 症例経験したが、新生児発症型の 3 症例はすべて 10 歳前後までに死亡している。Late onset type の 2 例は、1 例が腎不全のため移植を受けている。1 例はビタミン B12 反応性だが、治療に対するアドヒアランスに問題がある。

糖原病 Ia 型の年長児 1 例は、多発性の肝腫瘍が認められており、腎障害と並び本疾患の年長患者に

おける大きな問題である。

D. 考察

先天代謝異常症は慢性疾患であるのはもちろんであるが、最近の治療法の進歩や医学管理の充実から、年長の患者特に15歳を過ぎている患者が急増している。千葉県こども病院の代謝科に受診している患者も15歳以上が17.8%であり、この問題が臨床現場でも切実なものになっている事がうかがわれる。

殊に患者の内科領域の医師への受け渡し（トランジッション）は困難である。これは先天代謝異常症の知識を持った内科医がほとんどいないことに起因する。

成人先天性心疾患という分野が10年以上前から日本においても確立されてきている。千葉県循環器センターでは、小児、成人の小児科医、内科医、循環器外科医さらに専門の看護師も加えて、チーム医療としてこれに対応している。先天代謝異常症もこれまで診療を行ってきた小児科医中心のチームに内科医に加わってもらい、共同で患者の治療管理にあたるのが必要と考える。

E. 結論

年長の先天代謝異常症の患者を的確に診療するためには、現在の小児科医中心のチームに内科医の参加を求め、共同で治療管理を行っていく必要がある。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

平成 26 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

スクリーニング・化学診断、および脂肪酸カルニチン代謝異常症に関する調査研究
研究分担者 山口清次（島根大学医学部小児科教授）

研究要旨

脂肪酸β酸化経路は、炭水化物からのエネルギー供給が低下した時に作動する代謝系である。本研究ではタンデムマス（TMS）を導入した新生児マススクリーニングの時代に対応するため、TMS スクリーニングの対象となる脂肪酸代謝異常症 8 疾患について、それぞれの診断、治療、フォローアップに関する診療指針案を作成した。また、これまでの新生児マススクリーニングのシステムでは把握が出来ていなかった発見患者の正確な数、自然歴、スクリーニングの効果を明らかにするために、悉皆性を目指した患者コホート研究を開始した。現時点では 80.6%自治体からの回答を得たが、来年度は 100%を目指す。そして、TMS スクリーニングが国民の福祉に貢献するためには、医療機関、検査機関、および自治体の連携体制の強化する必要がある。さらに悉皆性のある患者コホート体制は、疾患の重症度別頻度、自然歴の把握、稀少疾患の治療法向上、事業評価、患者 QOL の向上、および障害予防事業の重要性を社会にアピールできることが期待される。

研究協力者

深尾敏幸（岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学教授）
窪田 満（埼玉医療センター総合診療科副部長）
村山 圭（千葉こども病院代謝科部長）
小林弘典（島根大学医学部小児科助教）
長谷川有紀（島根大学医学部小児科助教）

A. 研究目的

脂肪酸代謝異常症（β酸化異常症）はタンデムマス・スクリーニング（TMS スクリーニング）の対象疾患群の一つである。β酸化異常症は超稀少疾患であり診断法、治療法には検討すべき点が少なくない。このため、スクリーニング陽性者に対して迅速かつ適切に対応するための診療ガイドライン作成が望まれている。これまで新生児マススクリーニング（NBS）の対象となっている脂肪酸代謝異常症の一般的な診断基準の作成を行ってきたが、今年度は疾患ごとの診療指針の策定を目指した。

タンデムマス法で発見される疾患の頻度は、国内のパイロット研究によると、個々の疾患は数万出生に 1 人ないし 200 万出生に 1 人以下の頻度で、二次

対象疾患を含めると全体として約 9 千人に 1 人と推定されている。いずれも稀少疾患のため、その自然歴や最適な治療法、治療効果、およびタンデムマス導入による臨床的、医療経済的効果について不明な点が残されている。また、一部では NBS の結果が伝えられる前に急性発症している症例のあることも知られている。NBS が小児の障がい発生防止に効率的に貢献しているかどうかを評価する必要がある。そのためには発見された患者について悉皆性のあるコホート体制が不可欠である。本研究では、タンデムマスで発見された疾患の正確な頻度、自然歴、臨床的効果を明らかにするために、疫学研究としての患者コホート体制の構築を目指して、TMS スクリーニングによる患者発見状況、患者登録体制の問題点について検討した。

B. 研究方法

1) 脂肪酸代謝異常症の診療指針の作成

脂肪酸代謝異常症のうち、TMS スクリーニングの対象疾患となる疾患（表 1）の診療指針を作成した。策定にあたっては、研究分担者および研究協力者 4 名が中心となり、国内外の報告やエキスパートオピ

ニオンを参考にして可能な限りエビデンスを明らかにする事を意識して素案を作成した。

表 1. 診療指針を作成した疾患リスト

1. 極長鎖アシルCoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症
2. 三頭酵素(TFP)欠損症
3. 中鎖アシルCoA脱水素酵素(MCAD)欠損症
4. カルニチン ⁺ 長鎖トランスフェラーゼ ⁻ - I (CPT1)欠損症
5. カルニチン ⁺ 長鎖トランスフェラーゼ ⁻ - II (CPT2)欠損症
6. カルニチン ⁺ 短鎖トランスフェラーゼ ⁻ (CACT)欠損症
7. 全身性カルニチン欠乏症(OCTN2異常症)
8. グルタル酸尿症2型(GA2)

2) マスクリーニングで発見された患者のコホート体制の検討

図 1 に示すように、本研究に同意の得られた自治体を対象にして、TMS スクリーニングによって発見された患者登録体制を下記の方法に従い実施した。患者に関しては連結可能匿名化で扱う方針とした。本研究は島根大学医学部、医の倫理委員会による承認（通知番号 1622 号）を受けた。

●自治体を対象とした調査：

2013 年度内に発見された患者について以下の項目についてアンケート調査を行った。

- (a) 診断名
- (b) 患者生年月日および性別
- (c) 出生医療機関
- (d) 診断した病院
- (e) フォローアップ病院、主治医

●診断した医療機関を対象とした 2 次調査：

自治体からの情報をもとに以下の項目について、診断した病院に対して登録時調査用紙を送付して、アンケート調査を行った。

- (a) 確定診断名（病型）
- (b) 患者の出生体重
- (c) 確定診断した方法
- (d) 診断時の症状の有無
- (e) その他（自由記載、特記すべき臨床所見）

●情報の取り扱い：

自治体から得られた各症例（匿名化）に対して、研究事務局で任意に割り振った識別番号を付した。

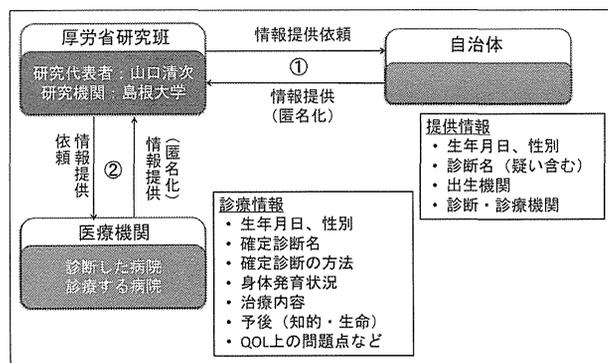


図 1. タンデムマス・スクリーニング患者登録体制

C. 研究結果

1) 脂肪酸代謝異常症の診療指針の作成

診療指針の素案は、前述の方法によって策定し、先天代謝異常学会の評議員からなる診断基準策定委員会の委員間での相互査読を経て、2015年1月21日より2015年2月20日まで日本先天代謝異常学会のホームページを通じて学会員および一般に対してパブリックコメントを受け付けた。

(http://jsimd.net/guideline_pub-come.html)

今後、得られた意見を分担者・協力者間で協議し、学会ホームページ等を通じて公開する予定である。

今回策定した診療指針案では、TMSスクリーニング時代に対応するため、スクリーニングで発見された患者に対して、初期の対応や検査、治療等について詳細な解説を加えた。脂肪酸代謝異常症の治療のうち食事間隔の目安については、昨年の基準に加えて、病態等を考慮して夜間睡眠時の食事間隔の目安を別記載とした(表2参照)。

表2. 脂肪酸酸化異常症における食事間隔の目安

	日中	睡眠時
新生児期	3時間	
6ヶ月まで	4時間	4時間
1歳まで	4時間	6時間
4歳未満	4時間	8-10時間
4歳以上7歳未満	4時間	10時間

2) 患者コホート体制による調査結果と体制の問題点

2014年11月に自治体に、発見された患者のアンケートを発送した。2015年1月時点で、調査用紙を送った67自治体のうち54自治体(80.6%)より回答を得た。回答の中から得られた患者数は68例でその内訳は表3の通りであった。パイロット研究のデータ(1997~2012年)と比較すると、ホモシスチン尿症やメチルマロン酸血症、MCAD欠損症などのように、予測される頻度に比べて明らかに差がある疾患もあった。

患者コホートの問題点として以下のような点があ

げられた。①自治体の回答の中には、最終診断名を把握していないケースも少なくないこと、②一部の自治体ではマスキングの結果の把握がおろそかになっていると思われる自治体もあること、③個人情報保護の観点から調査協力を慎重な自治体が少ないこと、などが明らかになった。現在、自治体から得られた情報を元にして診断した医療機関を対象にして登録調査票の記入を依頼している。

表3. 自治体から得られた調査結果(患者数)

	本研究 (母数80万人)	発見 頻度	パイロット研究 (195万人)
PKU(高Phe血症)	14(6)	1:4万	1:5.3万
MSUD	1	1:80万	1:195万
ホモシスチン尿症	3	1:27万	1:65万
シトルリン血症1型	1	1:80万	1:33万
アルギニコハク酸尿症	1	1:80万	1:98万
メチルマロン酸血症	1	1:80万	1:11万
プロピオン酸血症	12	1:7万	1:4.5万
メチルクロトニルグリシン血症	2	1:40万	1:15万
イソ吉相酸血症	1	1:80万	1:65万
グルタル酸血症1型	3	1:27万	1:28万
MCAD欠損症	2	1:40万	1:10万
VLCAD欠損症	8	1:10万	1:16万
TFP欠損症	1	1:80万	—
CPT1欠損症	2	1:40万	1:31万
シトルリン欠損症	4	1:20万	1:33万
βケトチオラーゼ欠損症	1	1:80万	—
CPT2欠損症	2	1:40万	1:26万
全身性カルニチン欠乏症	3	1:28万	1:26万
その他	9		
合計	68		

D. 考察

わが国では約16年のパイロット研究を経て、TMSスクリーニングが2014年度から全国実施となった。脂肪酸代謝異常症は稀少疾患であるが、TMSスクリーニングの重要な対象疾患である。今回検討した脂肪酸代謝異常症の診療指針策定にあたって、国内外のエキスパート間でも議論のある課題に直面した。例えば、長鎖脂肪酸代謝異常症に対するカルニチン内服の是非や、最近注目されているベザフィブラートの有効性の是非などである。これらの課題に対するエビデンスを出す研究を計画中である。エビデンスに基づいた診療指針を作成してゆく必要がある。

今年度TMSスクリーニングをモデルとして、悉皆

性を重視した患者コホート体制を作り調査を開始した。今回の調査では年度末の時点で自治体からの回答率は約 80.6%であったが、患者コホート体制における疫学研究の意義を理解してもらい、来年度には自治体からの回答率 100%を目指したい。引き続き、本研究の結果などを公開し、また自治体等に得られた成果をフィードバックすることにより、本研究の安全性、社会的意義等について理解を促す必要がある。

さらに今年度自治体からの回答結果から見えてきたことは、自治体によっては、最終診断名を把握してなかったり、患者数が正確でなかったり、あるいは患者追跡についてフォローする仕組みのないことが明らかになった。マススクリーニング事業が国民の福祉に貢献するためには、検体を採取する産科機関、検査する検査機関、診療を担当する医療機関、および事業の実施母体である自治体の連携を強化することが不可欠である。患者コホートから得られる情報は、行政レベルから事業評価にもつながり、また NBS の意義を社会に向けてアピールすることにつながる。

E. 結論

本研究では、TMS スクリーニングの普及に伴い今後増加すると予想される脂肪酸代謝異常症に対応可能な診療指針案を策定した。今後、得られたパブリックコメントを協議した最終版を学会のホームページ等に公開する予定である。また、TMS スクリーニングの事業評価等に必須である全患者の追跡情報を調査するためのコホート研究を開始した。これまでの疫学情報と実際の患者数などには乖離が見られることが明らかになった。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Naiki M, Ochi N, Kato YS, Purevsuren J, Yamada K,

Kimura R, Fukushi D, Hara S, Yamada Y, Kumagai T, Yamaguchi S, Wakamatsu N: Mutations in HADHB, which encodes the β -subunit of mitochondrial trifunctional protein, cause infantile onset hypoparathyroidism and peripheral polyneuropathy. *American Journal of Medical Genetics A* 164(5): 1180-1187, 2014 (May)

2) Yasuno T, Osafune K, Sakurai H, Asaka I, Tanaka A, Yamaguchi S, Yamada K, Hitomi H, Arai S, Kurose Y, Higaki Y, Sudo M, Ando S, Nakashima H, Saito T, Kaneoka H: Functional analysis of iPSC-derived myocytes from a patient with carnitine palmitoyltransferase II deficiency. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 448(2): 175-181, 2014 (May)

3) Shioya A, Takuma H, Yamaguchi S, Ishii A, Hiroki M, Fukuda T, Sugiee H, Shigematsu Y, Tamaoka A: Amelioration of acylcarnitine profile using bezafibrate and riboflavin in a case of adult-onset glutaric acidemia type 2 with novel mutations of the electron transfer flavoprotein dehydrogenase (ETFDH) gene. *Journal of The Neurological Sciences* 346(1-2): 350-352, 2014 (November)

4) Vatanavicharn N, Yamada K, Aoyama Y, Fukao T, Densupsoontorn N, Jirapinyoe P, Sathienkijkanchai A, Yamaguchi S, Wasant P: Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency: two neonatal cases with common splicing mutation and in vitro bezafibrate response. *Brain and Development*, inpress

5) Sakai C, Yamaguchi S, Sasaki M, Miyamoto Y, Matsushima Y, Goto YI: ECHS1 mutations cause combined respiratory chain deficiency resulting in Leigh syndrome. *Human Mutation*, inpress

6) Kobayashi T, Minami S, Mitani A, Tanizaki Y, Booka M, Okutani T, Yamaguchi S, Ino K: Acute fatty liver of pregnancy associated with fetal mitochondrial trifunctional protein deficiency. *J Obstet Gynaecol Res*, inpress (November)

7) 山口清次: タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングの社会的意義と課題. *公衆衛生情報*

- 44(3): 5-8, 2014 (6 月)
- 8) Tomatsu S, Shimada T, Mason RW, Montano AM, Kelly J, LaMarr WA, Kubaski F, Giugliani R, Guha A, Yasuda E, Mackenzie W, Yamaguchi S, Suzuki Y, Orii T: Establishment of Glycosaminoglycan Assays for Mucopolysaccharidoses . *Metabolites* 4(3): 655-679, 2014 (Aug)
- 9) Mine J, Taketani T, Yoshida K, Yokochi F, Kobayashi J, Maruyama K, Nanishi E, Ono M, Yokoyama A, Arai H, Tamaura S, Suzuki Y, Otsubo S, Hayashi T, Kimura M, Kishi K, Yamaguchi S: Clinical and genetic investigation of 17 Japanese patients with hyperekplexia. *Developmental Medicine & Child Neurology: Online*, 2014 (OCT)
- 10) Tomatsu S, Shimada T, Mason RW, Kelly J, LaMarr WA, Yasuda E, Shibata Y, Futatsumori H, Montano AM, Yamaguchi S, Suzuki Y, Orii T: Assay for glycosaminoglycans by tandem mass spectrometry and its applications. *Journal of Analytical Bioanalytical Techniques Special Issue 2: Online*, 2014 (February)
- 11) 坊岡美奈, 比嘉明日美, 津野嘉伸, 熊谷健, 奥谷貴弘, 吉川徳茂, 城道久, 太田菜美, 八木重孝, 南佐和子, 井籠一彦, 山田健治, 山口清次: 胎児心不全で発症したミトコンドリア三頭酵素欠損症の 1 例. *日本周産期・新生児医学学会雑誌* 50(3): 1015-1021, 2014 (9 月)
- 12) 山口清次: 新しい新生児マススクリーニング: 周産期医療スタッフの役割. *日本周産期・新生児医学学会雑誌* 50(4): 1213-1216, 2015 (1 月)
- 13) 山本幹枝, 安井建一, 渡辺保裕, 古和久典, 山口清次, 中嶋健二: ホモシスチン尿症をともなったメチルマロン酸尿症の 1 例. *臨床神経学* 55(1): 23-28, 2015 (1 月)
- 14) 山口清次: ミトコンドリア脂肪酸 β 酸化異常症. 編: 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.29 神経症候群(第2版) III -その他の神経疾患を含めて- -VII 先天代謝異常-, 日本臨床社, 大阪, p627-631, 2014 (6 月)
- 15) 山口清次: 有機酸代謝異常. 編: 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.29 神経症候群(第2版) III -その他の神経疾患を含めて- -VII 先天代謝異常-, 日本臨床社, 大阪, p622-626, 2014 (6 月)
- 16) 山口清次: 有機酸・脂肪酸代謝異常症. 編: 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.31 神経症候群(第2版) VI -その他の神経疾患を含めて- -XIV てんかん症候群 全般てんかんおよび症候性 特異症候群 先天代謝異常-, 日本臨床社, 大阪, p205-211, 2014 (12 月)

2. 学会発表

- 1) Yamaguchi S: Organic Acidaemias and emergency treatments. 1st Asia Pacific Inborn Errors of Metabolism Course 講演. Tokyo, January 2014
- 2) Vatanavicharn N, Taketani T, Nabangchang C, Yamaguchi S: Isolated sulfite oxidase deficiency: A rare metabolic disorder with neuroimaging mimicking perinatal asphyxia. 第 56 回日本先天代謝異常学会. 仙台, 11 2014
- 3) 坊 亮輔, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: 管理に難渋している CPT-2 欠損症の 4 か月女児例. 第 93 回山陰小児科学会. 米子, 2014 年 9 月
- 4) 李知子, 鶴田悟, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次, 飯島一誠, 竹島泰弘: 黄疸を契機に診断に至った全身性カルニチン欠乏症の一例. 第 56 回日本先天代謝異常学会. 仙台, 2014 年 11 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当するものなし。
2. 実用新案登録
該当するものなし。
3. その他
該当するものなし。

高乳酸血症・ミトコンドリア異常症に関する研究および重症度分類に関する調査研究 分担研究者 大竹 明 埼玉医科大学小児科 教授

研究要旨

高乳酸血症を来す症例に遭遇した場合は、まず心不全他の二次的高乳酸血症症例を除外し、次いで以下に示す先天性高乳酸血症 (Congenital Lactic Acidosis: CLA) を来す症例の鑑別を行う。有機酸代謝異常症、尿素サイクル異常症、脂肪酸代謝異常症、グリコーゲン代謝異常症、糖新生系酵素異常症、ピルビン酸関連酵素異常症、TCA サイクル酵素異常症、およびミトコンドリア呼吸鎖複合体 (MRC) 異常症。

本診療ガイドラインでは、直接の乳酸代謝に関係するピルビン酸関連酵素異常症 [ピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDHC) 欠損症、ピルビン酸カルボキシラーゼ (PC) 欠損症、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) 欠損症]、TCA サイクル酵素異常症、および MRC 異常症を対象とするが、MRC 異常症の詳細はミトコンドリア病の診断基準を参照していただきたい。

研究協力者

山崎 太郎 (埼玉医科大学小児科)
原嶋 宏子 (埼玉医科大学小児科)

A. 研究目的

タンデムマスを用いた新しい新生児代謝スクリーニングが全国に拡大し、対象各疾患に対する新しい診断基準の作成が急務となっている。有機酸代謝異常症とタイアップした先天性高乳酸血症もその一つであり、文献検索と自らの症例データを基に、本年度はその診療ガイドラインの作成と成人期の対策について研究した。

B. 研究方法

基本的に文献検索研究である。関連論文をエビデンスレベルに基づいて分類し内容を要約し、診療ガイドラインの素案を作成した。

これとは別に先天性高乳酸血症の最大の原因であるミトコンドリア呼吸鎖 (MRC) 異常症については、全国から集まった患者検体を以下の方法で分析した。

1) Blue Native 電気泳動を用いた Western Blot と *in gel* enzyme stain、および *in vitro* 酵素アッセイを用いた呼吸鎖酵素複合体蛋白レベルの解析。2) サ

ンガーシーケンス法やライフテクノロジーズ社 Ion PGM シーケンサーによるミトコンドリア DNA 全周塩基配列の解析。3) ミトコンドリア DNA 枯渇症候群 (mitochondrial DNA depletion syndrome: MTDPS) 疑い例については、定量的 PCR (qPCR) による診断確定後、サンガーシーケンス法による頻度の高い 11 種類の原因遺伝子解析。4) 以上で病因が判明しない症例に対する次世代シーケンス法を用いた全エクソーム解析。

(倫理面への配慮)

本研究の患者解析の部分は申請番号 482 (現在更新されて 482-IX) で埼玉医科大学倫理委員会における審査を受け承認を得て行った。遺伝子解析研究についてはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号) および、医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン (日本医学会 2011 年 2 月) に基づいて行い、さらにはこれとは別に各研究機関の倫理審査委員会において承認を得て行った。

C. 研究結果

1. 先天性高乳酸血症症候群の診療ガイドライン作成とその成人期対策について

高乳酸血症を来す症例に遭遇した場合は、まず心不全他の二次的高乳酸血症症例を除外し、次いで以下に示す先天性高乳酸血症 (Congenital Lactic Acidosis: CLA) を来す症例の鑑別を行う。有機酸代謝異常症、尿素サイクル異常症、脂肪酸代謝異常症、グリコーゲン代謝異常症、糖新生系酵素異常症、ピルビン酸関連酵素異常症、TCA サイクル酵素異常症、および MRC 異常症。

本研究では、直接の乳酸代謝に関係するピルビン酸関連酵素異常症 [ピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDHC) 欠損症、ピルビン酸カルボキシラーゼ (PC) 欠損症、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) 欠損症]、TCA サイクル酵素異常症、および MRC 異常症を対象とするが、MRC 異常症の詳細はミトコンドリア病の診断基準 (後藤班) を参照のこと。

診療ガイドラインは未完成であり、ここには各疾病の疾患概要のみ記す。

1) ピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDHC) 欠損症

PDHC はミトコンドリア内に存在し、嫌気性解糖系でブドウ糖から産生されたピルビン酸をアセチル-CoA に変換して TCA 回路に送り込む大切な酵素である。原因遺伝子として複合体の構成成分である、*E1α* (PDHA1), *E1β* (PDHB), *E2* (DLAT), *E3* (DLD), *PDP1-2*, *PDK1-4*, *PDHX*, (*LIAS*) の 8 種類が報告されており、世界で 400 例余りの報告がある。このうち最も多いのは X 連鎖遺伝形式を呈する *E1α* 遺伝子異常症で、PDHC 欠損症全体の 6 割近くを占める。

臨床症状を形作るのはエネルギー産生不足と乳酸アシドーシスで、症状の重篤度により 3 病型に分類される。(1) 重症新生児型: 新生児期から乳児早期に、多呼吸、けいれん、意識障害、嘔吐、脳室拡大などの症状と重症高乳酸血症で発病し、いわゆる乳児致死型ミトコンドリア病 (LIMD) の主たる病因の 1 つである。女兒に多い。(2) 乳幼児型: 精神運動発達遅滞、けいれん、筋緊張低下、中枢神経奇形、顔貌異常などの症状と高乳酸血症で乳幼児期に発病する。画像上 Leigh 脳症を呈する患者も多い。(3) 遅発型: 軽い筋緊張低下、失調と高乳酸血症で幼児期から学童期に発病する。男児に多い。

診断にはまず乳酸 (L) /ピルビン酸 (P) 比が 10 前後と正常な高乳酸血症の存在を確認することが重

要で、軽症型では糖負荷テストも有効である。確定診断には皮膚線維芽細胞を用いた酵素活性測定と遺伝子解析が必要となる。

治療は急性期と慢性期に大別される。急性期の主対策は乳酸アシドーシスの是正で、糖質負荷は厳禁であり、乳酸を含まない輸液、アルカリ剤、呼吸・循環管理を行い、時には透析も必要となる。慢性期は乳酸の蓄積防止とエネルギー産生不足の解消であり、糖質は制限し PDHC を介さずにエネルギーを産生できる高ケトン食、高脂肪食が有効である。ビタミン B1 の大量投与に反応する症例も軽症例には存在する。基本的に予後不良な疾患であるが、B1 反応例には予後良好で成人期に移行するものも存在する。

2) ピルビン酸カルボキシラーゼ (PC) 欠損症

PC はミトコンドリア内に存在する糖新生系の律速酵素であり、ピルビン酸からオキザロ酢酸を生成する。原因遺伝子は 11q13 に局在する常染色体劣性遺伝病である。

臨床症状を形作るのは、低血糖と、オキザロ酢酸の低値がもたらす TCA 回路の作動不全によるエネルギー不足である。重症例ではオキザロ酢酸由来のアスパラギン酸の不足による尿素サイクル作動不全による高アンモニア血症も問題になる。症状の重篤度により Robinson は 3 病型に分類している。Group A: 乳児型は、主に生後 5 か月以内に発症し、低血糖、高乳酸血症、精神運動発達遅滞、腎尿細管性アシドーシスが高頻度に認められる。Group B: 重症新生児型は、新生児期発症で多くは 3 か月以内に死亡し、低血糖、高アンモニア血症、高シトルリン血症、高リジン血症を伴い、いわゆる乳児致死型ミトコンドリア病 (LIMD) の病因の 1 つである。Group C: 軽症型は生化学上は Group A に似るが精神発達遅滞のほとんど認められない良性型である。

診断にはまず L/P 比が 20 以上と高値の高乳酸血症にもかかわらず 3-ヒドロキシ酪酸/アセト酢酸比は正常ないし低値を取ることが重要で、確定診断には皮膚線維芽細胞を用いた酵素活性測定と遺伝子解析が必要となる。

治療は急性期と慢性期に大別される。急性期の主対策は低血糖と乳酸アシドーシスの是正で、糖質負荷は行っても一次的とすべきであり、乳酸を含まない輸液、

アルカリ剤、呼吸・循環管理を行い、時には透析も必要となる。慢性期は乳酸の蓄積防止とエネルギー産生不足の解消であり、糖質は制限しビタミン B1、ピオチン、クエン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸などが試みられている。Group C 以外は基本的に予後不良な疾患であるが、Group C では成人期移行例も認められる。

3) ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) 欠損症

PEPCK はオキサロ酢酸をホスホエノールピルビン酸へ変換する酵素であり、ミトコンドリア PEPCK (PEPCK2) と細胞質 PEPCK (PEPCK1) の 2 つのアイソザイムが存在する。PEPCK2 は 14q11.2 に局在し主に乳酸からの糖新生を、PEPCK1 は 20q13.31 に局在し主にアミノ酸からの糖新生を司る。どちらも糖新生系の重要な酵素であり、その欠損症では、新生児期または乳児期早期に、成長障害、筋緊張低下、発達障害、けいれん、傾眠、肝腫大などで発症する。低血糖、代謝性アシドーシス、高乳酸血症 (L/P 比正常) を呈し、肝障害、尿酸管性アシドーシス、心筋症などの多臓器障害が進行し 2 才までに死亡する例が多い。

酵素活性測定と遺伝子解析で診断できるが、今までに遺伝子異常の報告例はない。治療は低血糖、代謝性アシドーシスへの対症療法が中心であるが、有効な根本療法はなく、成人期への移行症例の報告はない。

4) TCA サイクル酵素異常症

フマラーゼ欠損症

フマラーゼ欠損症は、フマル酸をリンゴ酸に変換する TCA 回路の主要構成酵素であるフマラーゼの遺伝的欠損に基づく先天代謝異常症である。まれな病気で、報告例は世界で 50 例前後のみである。フマラーゼは細胞質とミトコンドリアに 2 つの酵素が存在するが、遺伝子は 1q42.1 に存在する 1 つのみで 2 つの酵素は N 末端の数個のアミノ酸が異なるだけであり、報告された患者は全て 2 つの酵素の活性が共に欠損している。症状は、(時に胎生期からの) 脳奇形、精神運動発達遅滞、筋緊張低下、顔面奇形、けいれん、発育障害、哺乳障害などの脳神経・筋症状が中心である。血球減少、消化管奇形、肝腫大、視覚障害などの合併は報告があるが、心筋症や心伝導障害の報告はない。高乳酸血症や高アンモニア血症などによる代謝性クラ

イシスは希である。中枢神経症状と尿有機酸分析でのフマル酸著明増加 (正常対照の 15~1,000 倍) が特徴である。

症状と尿中フマル酸増加から本症を疑い、酵素診断と遺伝子診断で確定する。酵素診断対象組織としては、皮膚線維芽細胞、リンパ芽球様細胞、リンパ球、筋肉、肝臓が用いられている。

治療は対症療法のみであり多くが生後数年以内に死亡するか、生存しても重度の精神運動発達遅滞を残す非常に予後不良な疾患である。低タンパク療法が試みられたが有効ではなかった。

スクシニル-CoA リガーゼ (SUCL) 欠損症

SUCL 欠損症は、TCA サイクルの一因でもある SUCL の活性欠損によりミトコンドリア呼吸鎖異常とメチルマロン酸の尿中への少量排泄を伴う常染色体劣性遺伝性疾患であり、古くはメチルマロン酸尿を伴う Leigh 脳症と呼ばれていた。SUCL は TCA サイクルでは α -ケトグルタル酸に、それ以外は主にメチルマロンル-CoA に由来するスクシニル-CoA をコハク酸に転換する酵素で、GDP/GTP 系 (G-SUCL) と ADP/ATP 系 (A-SUCL) の 2 つのタイプが存在する。共に α サブユニットと β サブユニットから成るが、 α サブユニットは 2 つのタイプの酵素で共通の *SUCLG1* がコードし、 β サブユニットはそれぞれ *SUCLG2* と *SUCLA2* がコードする。現在までに *SUCLG1* 異常症 (ミトコンドリア DNA 枯渇症候群 (MTDPS) 9) と *SUCLA2* 異常症 (MTDPS 5) とが報告されている。典型例では生後数日から著名な乳酸アシドーシスを来し、致死型乳児ミトコンドリア病 (LIMD) とされる経過を取る。G-SUCL、A-SUCL の活性が共に低下する *SUCLG1* 異常症の方がより重症で、画像上の基底核病変 (いわゆる Leigh 様症候群)、脂肪肝から肝不全も合併し、多くは乳児期早期までに死亡する。これに対し A-SUCL のみ低下する *SUCLA2* 異常症は、時には LIMD としての重症病型をとる者もあるが、乳児期に運動発達遅滞、筋緊張低下、ジストニア、難聴などの神経症状で発症し、画像上の基底核病変も顕著な者が多く、メチルマロン酸排泄を除けば Leigh 脳症と鑑別できない。感染などを契機とし死亡する例も多いが成人期まで生存例の報告もある。*SUCLG1* 異常症と異なり肝障害はないが、これは A-SUCL が肝臓での発現が低いことで説明できる。

神経症状を伴い高乳酸血症で発症する例が多く、他のミトコンドリア呼吸鎖異常症との鑑別が必要となる。LIMDとして嵐の様な経過で亡くなった場合でも、できるだけ多くの臓器、組織を診断のために生で凍結保存することを忘れてはならない。尿 GC/MS では、メチルマロン酸、メチルクエン酸、3-ヒドロキシプロピオン酸の排泄がありメチルマロン酸尿を来す各疾患との鑑別が必要になるが、その排泄量は極めて微量であり、患児では TCA サイクル中間代謝産物も一緒に検出される。血中に蓄積する C3、C4DC カルニチンもタンデムマス分析で検出できる。組織・臓器を用いてミトコンドリア呼吸鎖酵素活性を測定し複合型の酵素活性低下を認めたら、ミトコンドリア DNA の定量を行う。確定診断のためには SUCL 酵素活性、もしくは遺伝子解析が必要である。

有効な治療法はない。急性期にはミトコンドリアレスキュー療法を考慮し、慢性期には有効とされる各種治療薬を一つ一つ慎重に試すことが必要になる。

2. MRC 異常症の包括的診断システムの構築

1) 酵素診断

現在までのところ、399 家系 403 例を MRCD と診断した。臨床診断では乳児ミトコンドリア病が最も多く 88 例、次いで Leigh 脳症、脳筋症、肝症、心筋症、神経変性疾患と続き、突然死が 53 例、腸症、その他と極めて多岐にわたっていた。

2) ミトコンドリア遺伝子解析

210 例について解析を行い、既知・未知を合わせて病因と考えられる遺伝子変異を 59 例 (28%) に同定した。つまり 7 割の MRCD は核遺伝子異常と考えられた。

3) 核遺伝子解析

142 例についてエキソーム解析が終了し、まず 25 例で既知の原因遺伝子における新規変異を同定した。これらの中には、いずれも日本人初例となる、*BOLA3*, *ACAD9*, *EFTu* 異常患者等が含まれる。次いで 10 例でミトコンドリア局在の未報告遺伝子における変異を同定した。最後に 52 例で上記に当てはまらない新規原因遺伝子候補を同定した。

4) 新薬の開発

5-アミノレブリン酸 (5-ALA) は一部の患者細胞の

ATP 合成能を回復し、その機序は主に呼吸鎖 III と IV の活性回復であった。

D. 考察

いずれの症例も重篤で調べ得た限り成人期移行例は少ない。しかも移行した者も身体的・精神的にハンディを背負う患者ばかりであり、医療の進歩で今後は長期生存例も増加するものと考えられる。今後も文献検索と実際の例数を重ね、より臨床に添うように順次改訂してゆきたい。

E. 結論

先天性高乳酸血症症候群 (Congenital Lactic Acidosis: CLA) の診療ガイドラインを作成中であり、成人期への移行対策を検討中である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kondo H, Tanda K, Tabata C, Hayashi K, Kihara M, Kizaki Z, Taniguchi-Ikeda M, Mori M, Murayama K, **Ohtake A**: Leigh syndrome with Fukuyama congenital muscular dystrophy: A case report. *Brain Dev* 36(8): 730-3, 2014. doi: 10.1016/j.braindev.2013.09.005. Epub 2013 Oct 7.
- 2) Yamazaki T, Murayama K, Compton AG, Sugiana C, Harashima H, Amemiya S, Ajima M, Tsuruoka T, Fujinami A, Kawachi E, Kurashige Y, Matsushita K, Wakiguchi H, Mori M, Iwasa H, Okazaki Y, Thorburn DR, **Ohtake A**: Molecular diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan: Focusing on mitochondrial DNA depletion syndrome. *Pediatr Int* 56(2):180-187, 2014. doi: 10.1111/ped.12249. Epub 2014 Mar 6.
- 3) **Ohtake A**, Murayama, K, Mori M, Harashima H, Yamazaki T, Tamaru S, Yamashita Y, Kishita Y, Nakachi Y, Kohda M, Tokuzawa Y, Mizuno Y, Moriyama Y, Kato H, Okazaki Y: Diagnosis and molecular basis of mitochondrial respiratory chain disorders: exome sequencing for disease gene identification. *Biochim Biophys Acta* 1840(4):1355-1359, 2014. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.01.025. Epub 2014 Jan 24.

- 4) Nagasaka H, Tsukahara H, Okano Y, Hirano K, Sakurai T, Hui S-P, Ohura T, Usui H, Yorifuji T, Hirayama S, **Ohtake A**, Miida T: Changes of lipoproteins in phenylalanine hydroxylase-deficient children during the first year of life. *Clin Chim Acta* 433:1-4, 2014. doi: 10.1016/j.cca.2014.02.020. Epub 2014 Mar 5.
- 5) Saitsu H, Tohyama J, Walsh T, Kato M, Kobayashi Y, Lee M, Tsurusaki Y, Miyake N, Goto Y, Nishino I, **Ohtake A**, King M-C, Matsumoto N: A girl with West syndrome and autistic features harboring a de novo TBL1XR1 mutation. *J Hum Genet* 59(10):581-3, 2014. doi: 10.1038/jhg.2014.71. Epub 2014 Aug 7.
- 6) Fukao T, Akiba K, Goto M, Kuwayama N, Morita M, Hori T, Aoyama Y, Venkatesan R, Wierenga R, Moriyama Y, Hashimoto T, Usuda N, Murayama K, **Ohtake A**, Hasegawa Y, Shigematsu Y, Hasegawa Y: The first case in Asia of 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase deficiency (HSD10 disease) with atypical presentation. *J Hum Genet* 59(11): 609-14, 2014. doi: 10.1038/jhg.2014.79. Epub 2014 Sep 18.
- 7) Uehara N, Mori M, Tokuzawa Y, Mizuno Y, Tamaru S, Kohda M, Moriyama Y, Nakachi Y, Matoba N, Sakai T, Yamazaki T, Harashima H, Murayama K, Hattori K, Hayashi J, Yamagata T, Fujita Y, Ito M, Tanaka M, Nibu K, **Ohtake A**, Okazaki Y: New *MT-ND6* and *NDUFA1* mutations in mitochondrial respiratory chain disorders. *Ann Clin Transl Neurol* 1(5):361-9, 2014. doi: 10.1002/acn3.59. Epub 2014 Apr 28. PMID: 25356405 [PubMed]
- 8) Izumi Y, Musha I, Suzuki E, Iso M, Jinno T, Horikawa R, Amemiya S, Ogata T, Fukami M, **Ohtake A**: Hypogonadotropic Hypogonadism in a Female Patient Previously Diagnosed as Having Waardenburg Syndrome Due to a *SOX10* Mutation. *Endocrine*. 2014 Oct 2. [Epub ahead of print]
- 9) Kopajtich R, Nicholls TJ, Rorbach J, Metodiev MD, Freisinger P, Mandel H, Vanlander A, Ghezzi D, Carrozzo R, Taylor RW, Marquard K, Murayama K, Wieland T, Schwarzmayr T, Mayr JA, Pearce SF, Powell CA, Saada A, **Ohtake A**, Invernizzi F, Lamantea E, Sommerville EW, Pyle A, Chinnery PF, Crushell E, Okazaki Y, Kohda M, Kishita Y, Tokuzawa Y, Assouline Z, Rio M, Feillet F, de Camaret BM, Chretien D, Munnich A, Menten B, Sante T, Smet J, Régal L, Lorber A, Khoury A, Zeviani M, Strom TM, Meitinger T, Bertini ES, Van Coster R, Klopstock T, Rötig A, Haack TB, Minczuk M, Prokisch H: Mutations in *GTPBP3* cause a mitochondrial translation defect associated with hypertrophic cardiomyopathy, lactic acidosis and encephalopathy. *Am J Hum Genet* 95(6):708-20, 2014. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.10.017. Epub 2014 Nov 26.
- 10) Montassir H, Maegaki Y, Murayama K, Yamazaki T, Kohda M, **Ohtake A**, Iwasa H, Yatsuka Y, Okazaki Y, Sugiura C, Nagata I, Toyoshima M, Saito Y, Itoh M, Nishino I, Ohno K: Myocerebrohepatopathy spectrum disorder due to *POLG* mutations: A clinicopathological report. *Brain Dev.* 2014 Nov 18. pii: S0387-7604(14)00261-7. doi: 10.1016/j.braindev.2014.10.013. [Epub ahead of print]
- 11) Akatsuka J, Mochizuki M, Musha I, **Ohtake A**, Kobayashi K, Kikuchi T, Kikuchi N, Kawamura T, Urakami T, Sugihara S, Hoshino T, Amemiya S: The Japanese Study Group of Insulin Therapy for Childhood and Adolescent Diabetes: The ratio of glycated albumin to hemoglobin A1c measured in IFCC units accurately represents the glycation gap. *Endocr J* 62(2): 161-172, 2015. 2014 Nov 2. [Epub ahead of print]
- 12) Nozaki F, Kumada T, Kusunoki T, Fujii T, Murayama K, **Ohtake A**: Fever of Unknown Origin as the Initial Manifestation of Valproate-Induced Fanconi Syndrome. *Pediatr Neurol* 51(6): 846-849, 2014. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2014.09.007. Epub 2014 Sep 21.
- 13) Brea-Calvo G, Tobias B Haack, Karall D, **Ohtake A**, Invernizzi F, Carrozzo R, Kremer L, Dusi S, Fauth C, Scholl-Bürgi S, Graf E, Ahting U, Resta

N, Laforgia N, Verrigni D, Okazaki Y, Kohda M, Martinelli D, Freisinger P, Strom TM, Meitinger T, Lamperti C, Lacson A, Navas P, Mayr JA, Bertini E, Murayama K, Zeviani M, Prokisch H, Ghezzi D: COQ4 mutations cause a broad spectrum of mitochondrial disorders associated with CoQ10 deficiency. *Am J Hum Genet* 96: 309-317, 2015. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.12.023. Epub 2014 Dec.

14) 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* in press, 2015.

15) Haack T, Jackson C, Murayama K, Kremer L, Schaller A, Kotzaeridou U, de Vries M, Schottmann G, Santra S, Büchner B, Wieland T, Graf E, Freisinger P, Eggemann S, **Ohtake A**, Okazaki Y, Kohda M, Kishita Y, Tokuzawa Y, Sauer S, Memari Y, Kolb-Kokocinski A, Durbin R, Hasselmann O, Cremer K, Albrecht B, Wiczorek D, Engels H, Hahn D, Zink A, Alston C, Taylor R, Rodenburg R, Trollmann R, Sperl W, Strom T, Hoffmann G, Mayr J, Meitinger T,

Bolognini R, Schuelke M, Nuoffer J-M, Kölker S, Prokisch H, Klopstock T: Deficiency of multifunctional ECHS1 causes mitochondrial encephalomyopathy. *Ann Clin Transl Neurol*, in press, 2015.

16) Abe Y, Terashima H, Hoshino H, Sassa K, Sakai T, **Ohtake A**, Kubota M, Yamanouchi H: Characteristic MRI features of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Brain Dev.* 2015 Feb 13. pii: S0387-7604(15)00022-4. doi: 10.1016/j.braindev.2015.01.006. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

以下の患者会フォーラムの実施

- 1) 第3回先天代謝異常症患者会フォーラム 2014.11.9 TKP ガーデンシティ品川
- 2) 第4回有機酸・脂肪酸代謝異常症 医師と患者のシンポジウム 2014.12.6 TKP 品川カンファレンスルーム

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

糖原病に関する調査研究：
糖原病の重症度分類に向けた臨床症状評価法について

研究分担者 杉江 秀夫 常葉大学保健医療学部 教授

研究要旨

- (1) 糖原病診断・治療基準の設定に向けてパブリックコメント、外部評価による意見収集に学会として進む予定であるが、進歩の早い代謝性疾患については3～4年に1回の頻度で改訂に向けての取り組みも重要である。
- (2) 糖原病の成人期の医療体制について患者の状況、主治医の意識についてアンケートを中村（熊本大学）と作成し調査を行った。
- (3) 糖原病患者の臨床症状を評価する事は、自然歴、重症度評価を科学的に評価するうえで重要である。そのためには糖原病患者に応用できる臨床症状評価尺度の開発が必要である。しかし糖原病は多くの病型、症状の多様性があり、一律の症状評価は困難である。そのため他の多様性を持つ疾患で既に症状評価が行われ、validationもできている Congenital Disorders of glycosylation (CDG)の症状評価に注目し、その評価基準に準拠しながら、糖原病用に改編した。今後その validation が必要でありさらに重症度分類への応用などについて検討が必要である。

研究協力者

福田 冬季子 浜松医科大学 小児科 准教授

A. 研究目的

グリコーゲン代謝異常症は酵素欠損に起因する primary type と、異なるメカニズムでグリコーゲン代謝の異常を来たす secondary type のものと大別できる。しかし本症自体が希少疾患であることもあり、診断に至らない症例も多いのではないかと推測される。本症は新生児マススクリーニング対象疾患ではないが、今回診断基準策定に含まれるべき疾患として位置づけられている。本分担研究では、糖原病の診断・治療基準の策定、成人期医療のあり方、重症度分類に役立つための臨床評価尺度の策定について検討した。

B. 研究方法

1. 診断・治療基準（案）について

日本先天代謝異常学会ガイドライン作成委員会において糖原病を研究協力者福田と担当し、委員間での議論を深め最終版への準備を行った。

2. 糖原病患者のトランジションの現状および主治医の意向調査について

熊本大学中村と共同で「肝型糖原病患者のトランジション（移行期医療）に関する調査」のアンケート用紙を作成した（アンケート内容については、中村らの報告書を参照）。

（倫理面への配慮）

疫学調査については常葉大学研究倫理委員会の承認を得ている。

3. 臨床症状評価法（案）の提案

糖原病患者の重症度を評価するうえで、患者の状況を客観的に把握する臨床症状評価が必要である。重症度はその評価に基づいて行うことで客観的で科学的な評価が可能である。一方糖原病は多くの病型があり、臨床症状が多彩であることから、単一の

評価法では臨床症状評価が困難であることが予想される。そこで、同様な多彩な症状を示す疾患すでに validation されている評価法がないかどうかを検索した。その結果同様に多彩な症状を呈することで知られている Congenital Disorders of glycosylation (CDG) を対象としたもので、オランダで作成された NPCRS (Nijmegen Pediatric CDG Rating Scale) を応用することで、臨床評価が作成できないかを検討した。NPCRS を参考に作成した糖原病用の臨床評価 (案) (表 1) を用いて糖原病 IX 型 (2 歳、13 歳)、phosphoglycerate kinase (PGK) 欠損症 (7 歳、26 歳)、糖原病 Ia 型 (4 歳、40 歳)、の 3 病型を対象に、年齢別 (小児と成人) にこの評価法を用いてその臨床症状の変化について評価した。また日本先天代謝異常学会で作成した重症度評価である深尾案と一部比較した。

C. 研究結果

1. 診断・治療基準 (案) について

糖原病は好発病型がある。特に糖原病 I 型、II 型、III 型、V 型、IX 型の 5 型で全体の 95% を占めることから、この 5 病型を中心として糖原病の診断・治療基準をまず整えてゆくのが、合理的であろう。

糖原病は一つの疾患単位ではあるが、臨床像は多様性があることから、すべての病型の診断・治療基準を網羅するより好発病型を検討する方が実際の臨床現場では有益である。外部の評価を得てその対応を検討して最終版の作成を行ってゆく。

2. 糖原病患者のトランジションの現状および主治医の意向調査について

熊本大学中村と共同で「肝型糖原病患者のトランジション (移行期医療) に関する調査」のアンケート用紙を作成した (アンケート内容については、中村らの報告書を参照)。トランジションについては現在各診療科の大きな注目点であり、今後その方策が提案されると思われる。

3. 臨床症状評価法 (案) 表 1

NPCRS を参考にした評価法では、評価を 3 つの domain から構成している。また近年の症状評価では患者の訴え (patient reported clinical/social

severity) を評価の一つに加えることが推奨されている。そこで糖原病の臨床症状評価として表 1 のような domain と項目で作成した。Section 1 は現在の状況、Section 2 は臓器特異的障害程度、Section 3 は患者報告アウトカムとした。採点は 0; normal、1; mild、2; moderate、3; severe impairment と分類しスコアをつけた (0~63)。

Section 1: 現在の状態

コミュニケーション
発達
精神
運動
身体発育
身辺自立
学業
代謝病態コントロール
障害手帳
臨床全般印象

血液

神経筋
中枢神経

Section 3: 患者報告アウトカム

社会適応 (学校、仕事など)
通院
病気について
全体的な自分の状況の評価

Section 2: 臓器特異的障害程度

消化器
内分泌
呼吸器
心血管系
腎
肝

Rating

0: normal,

1: mild,

2: moderate,

3: severe impairment

表 1 糖原病臨床症状評価 (案)

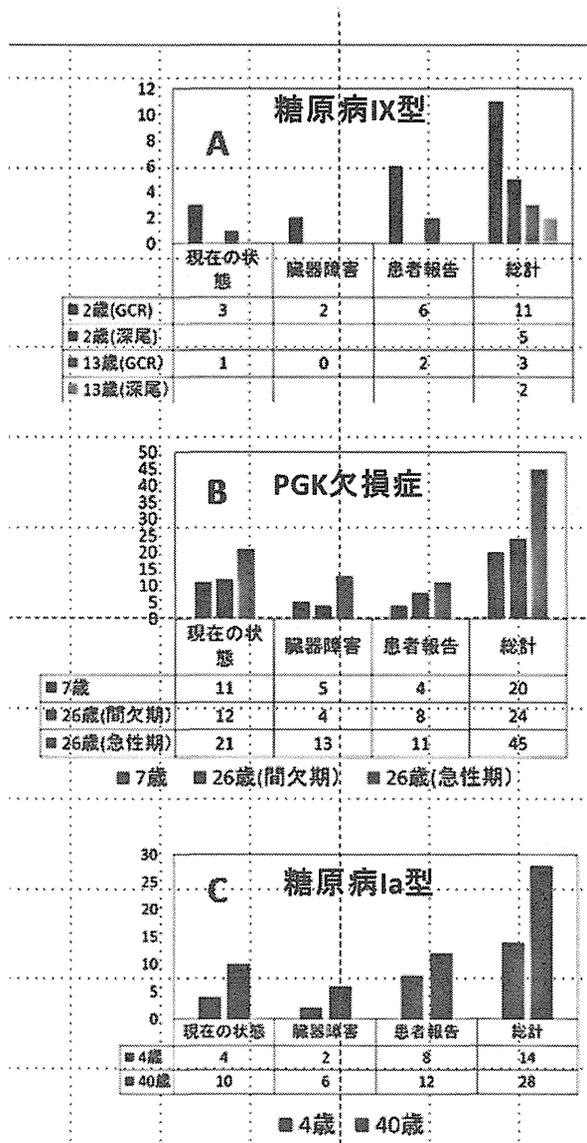


図1 糖原病各病型による臨床症状評価

図1 A~Cに各糖原病病型におけるスコアを示す。

糖原病でも軽症の経過を示すIX型では、幼児期から学童期へ明らかにスコアの低下が見られ、症状が軽症化していた。PGK欠損症では、筋型糖原病に中枢神経症状が伴うことが特徴であるが、中枢神経症状の増悪に従い学童期に比較すると、成人期でスコアが著明に上昇していた。糖原病Ia型では乳幼児期に比較すると、成人期で肝臓がんを合併するなど、臨床症状の悪化に伴って明らかにスコアも上昇した。深尾による重症度案との比較では、重症度を客観的に見るスコア化をはかることで、有用な評価法であることが判明した。なおこのスコアをつけるには10~15分程度で可能であった。

D. 考察

先天代謝異常症は診断、治療など進歩が著しい疾患分野であり、学会員のみならず一般小児科医に役立つ診断・治療基準の作成は重要である。現在多くの学会で、ガイドライン作成が進行している。基本的にはMINDSに準拠して作成されている。すなわちclinical questionについてシステムチックレビューを行い、EBMに基いたエビデンスレベルと推奨度を決定する。しかしMINDSに準拠したガイドラインづくりはすべての疾患について策定することはすぐには困難である。今回学会主導で策定した診断・治療基準はエキスパートオピニオンではあるが、一般臨床場面では有用である。今後医学の進歩に合わせて3~4年程度での改訂が望まれる。

改訂に当たっては策定担当者を中心として改訂委員会を発足させ、持続的な診断・治療基準の維持管理が望ましい。また本診断基準が有用かどうかの検証が重要で、出版後に実際にこの診断・治療基準を利用した臨床医からのフィードバックを調査する必要がある。

小児科から成人診療科へのトランジションについては、近年各学会で認識が高まり、その対応が議論されている。しかしながら、日本における現状、あるいはトランジションに対する医師の意識については十分な調査がなされていない。今回肝型糖原病について調査を行い、そこで得られた結果は今後

のトランジションのあり方の参考となると思われる。

疾患の重症度を科学的に評価するには、その疾患の臨床症状の客観的評価を行うことが必須である。糖原病では症状が多様なことから、本疾患を一つの評価法で評価するのは困難であり、一定の工夫が必要である。その方策として同様に多彩な症状を持つ疾患であるCDGを参考にした。これはオランダで作成されているが、一定のvalidationもされていることと、多彩な症状に適応するように症状評価が工夫されている点が参考になった。今回作成した糖原病臨床症状評価法は簡便でかつどの病型にも適応可能であり、かつ患者からの意見も取り入れているという特色がある。今後はこの評価法について多施設共同でvalidationを行い、さらにその評価を用いて重症度を分類できるかどうか検証が必要である。

E. 結論

本年度の診断基準作成により、広く標準化された診断と治療介入がなされる症例の増加が期待される。重症度判定の基準となる臨床症状評価について検討し今後この評価法の検証が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shioya A, Takuma H, Yamaguchi S, Ishii A, Hiroki M, Fukuda T, Sugie H, Shigematsu Y, Tamaoka A. Amelioration of acylcarnitine profile using bezafibrate and riboflavin in a case of adult-onset glutaric acidemia type 2 with novel mutations of the electrontransfer flavoprotein dehydrogenase (ETFDH) gene. *J Neurol Sci.* 2014 ;15:346(1-2):350-2
2. Miyauchi A, Monden Y, Watanabe M, Sugie H, Morita M, Kezuka T, Momoi M, Yamagata T. Persistent presence of the anti-myelin oligodendrocyte glycoprotein

autoantibody in a pediatric case of acute disseminated encephalomyelitis followed by optic neuritis. *Neuropediatrics*.

2014;45(3):196-9

3. Imagawa E, Osaka H, Yamashita A, Shiina M, Takahashi E, Sugie H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saito H, Ogata K, Matsumoto N, Miyake N A hemizygous GYG2 mutation and Leigh syndrome: a possible link? *Hum Genet*. 2014;133(2):225-34
4. 杉江秀夫:筋型糖原病 「代謝性ミオパチー」
杉江秀夫総編集 診断と治療社 2014年5月
5. 杉江秀夫:筋型糖原病 神経内科研修ノート
pp402-4、 診断と治療社 2015年1月

2. 学会発表

1. 杉江秀夫. 「グリコーゲン代謝—筋肉から脳へ」
第56回日本小児神経学会学術集会会長講演、
2014.5.30 浜松市
2. 杉江秀夫. 「発達障害の医療教育連携」 第2
6回栃木県小児保健会総会 2014.7.19 宇都
宮市
3. 杉江秀夫, 杉江陽子, 福田冬季子, 武関美香:
簡易血糖検査器を用いたベッドサイドでの
Pompe 病スクリーニング 第56回日本小児
神経学会学術集会、2014.5.浜松
4. 池田尚広, 山崎雅世, 鈴木峻, 門田行史, 小坂
仁, 杉江秀夫, 新保裕子, 山形崇倫: 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 第
56回日本小児神経学会学術集会、2014.5.浜
松

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

1. 実用新案登録

なし

2. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業政策研究）
研究分担報告書

1) 新生児マススクリーニング対象疾患の診療ガイドライン案策定の総括
2) 日本の先天性ケトン体代謝異常症に関する調査研究

研究分担者 深尾 敏幸 岐阜大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

「新しい先天代謝異常症スクリーニング時代に適応した治療ガイドラインの作成および生涯にわたる診療体制の確立に向けた調査研究」班の主な研究分担者の指導のもとで、多くの若手研究協力者と、新生児マススクリーニング対象疾患等の診療ガイドラインの第1版を作成した。先天代謝異常学会診断基準、診療ガイドライン委員会を経て、先天代謝異常学会承認のガイドラインとして公表する予定である。

日本において、これまで報告のなかったケトン体代謝異常症の1つである HMG-CoA 合成酵素欠損症、ケトン体代謝異常症の1つである β -ケトチオラーゼ欠損症の鑑別上重要な HSD10 病などがこの数年で見つかってきており、今後これらの疾患の啓蒙も必要である。

研究協力者

伊藤 哲哉（名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野）
窪田 満（埼玉県立小児医療センター総合診療科）
小林 弘典（島根大学医学部小児科）
坂本 修（東北大学医学系研究科小児病態学）
清水教一（東邦大学医療センター大橋病院小児科）
但馬 剛（広島大学大学院医歯薬保健学研究院統合健康科学小児科学）
長谷川（小村）有紀（島根大学医学部小児科）
濱崎孝史（大阪市立大学医学部小児科学）
福田冬季子（浜松医科大学小児科）
小林正久（東京慈恵会医科大学小児科）
堀 友博（岐阜大学医学部附属病院）
村山 圭（千葉県こども病院代謝科）

A. 研究目的

1) 代表的疾患における診療ガイドライン策定のための検討

昨年までの先行研究「新しい新生児代謝スクリーニング時代に適応した先天代謝異常症の診断基準作成と治療ガイドラインの作成および新たな薬剤開発に向けた調査研究（H24-難治等（難）一般-071）」（遠藤）班において、1 昨年度診断基準案作成を行った。昨年度は引き続きそれぞれの分野の若手エキスパートを研究協力者とし、形式を統一した診療ガイドライン案を策定し、それを各分担研究者に示し、学会認定の診療ガイドラインを統一した形式で作成できるための準備を行った。本年度はそのブラッシュアップと相互査読を行い、学会認定に持っていくのが目的である。

2) 先天性ケトン体代謝異常症の研究

先天性ケトン体代謝異常症は、1) ケトン体産生系の以上であるミトコンドリア HMG-CoA 合成酵素欠損症と HMG-CoA リアーゼ欠損症、および 2) ケトン

体産生障害をきたすサクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ (SCOT) 欠損症と β -ケトチオラーゼ (T2) 欠損症に分類される。ケトン体代謝が血糖維持に重要な幼少期を適切に管理すれば、重篤な発作を防ぎ、予後は比較的良好と考えられる疾患群であり、早期診断、発作予防が重要である。このうち HMG-CoA リアーゼ欠損症はタンデムマススクリーニング疾患の1次疾患、 β -ケトチオラーゼ欠損症は2次疾患に分類され、今回の研究班での有機酸代謝異常症の範疇にも入れることができる。今回その2疾患に対する診療ガイドラインのブラッシュアップ、学会提出案を作成する。

B. 研究方法

1) 代表的疾患における診療ガイドライン案策定のための検討

まずガイドライン作りのための共通の認識としてエビデンスレベルと推奨度レベルについてコンセンサスを作成し、その上でこの疾患につき、診断基準策定に加わった若手エキスパートから成るガイドライン策定班会議でコンセンサスを得て記載することになった。その後相互査読によるブラッシュアップを行った。

2) 先天性ケトン体代謝異常症の研究

HMG-CoA リアーゼ欠損症および β -ケトチオラーゼ欠損症についての診療ガイドライン案を上記の全体の形式に合わせて策定した。また先天性ケトン体代謝異常症の診断について引き続き、患者相談、酵素診断、遺伝子診断を行った。

C. 研究結果

1) 代表的疾患における診療ガイドライン案策定のための検討

タンデムマススクリーニング開始後の対象疾患であるアミノ酸代謝異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、ガラクトース血症、これに加えて糖尿病、