

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

当センターで過去に診断した 4 例のクレアチン欠乏症の脳 MRI 所見、MRS による代謝物絶対濃度を review し、どのような MRI 所見で MRS を追加する意義があるかどうかを検討した。重症例では深部灰白質の信号異常（1 例）と小脳萎縮（2 例）を認め、全例で程度の軽い例もあるが脳梁が薄い所見を認めたが非特異的であり、クレアチン濃度と MRI 所見の相関は明らかではなかった。

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

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 3 T 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置）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。この方法で診断された 4 例のクレアチン（Cr）欠乏症（全例 Cr トランスポーター欠損症、*SLC6A8* 遺伝子異常確定例）の MRI 所見と脳内 Cr 絶対濃度、臨床的重症度を比較検討した。

（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、临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

4 例の脳内 Cr 濃度を Table に、MRI 画像と MRS 波型を図 1-3 に示す。

全例で生後 20 ヶ月から 5 才での MRS 波型が診断契機となった。MRI 異常所見の内訳は脳梁萎縮/容量低下（全 4 例）、小脳萎縮（2 例）、淡

蒼球信号異常 (1 例)、脳室くも膜下腔拡大 (1 例)であった。前 3 者を認めた例は *SLC6A8* 遺伝子全欠失による重症例であった。MRS による Cr 定量は、基底核が 0.9-1.7mM (正常 6 程度)、半卵円中心 0.7-1.3mM (5 程度)、小脳 (遺伝子全欠失例以外の 3 例で計測) 2.0-2.5mM (8 程度) で、正常の 15-20%程度であった。基底核と半卵円中心における最低値は全欠失症例であったが他との濃度差はごくわずかであった。

Case/ age	Basal ganglia	Centrum semiovale	Cerebellum	gene
1 / 4y	0.9mM	0.7mM	NE	nonsense mutation
2 / 5y	1.5	1.0	2.5	missense mutation
3 / 20mo	1.1	0.8	2.5	missense mutation
4 / 23mo	1.7	1.3	2.0	missense mutation

Normal Cr concentration: about 6 mM in the basal ganglia, about 5 mM in the centrum semiovale and about 8 mM in the cerebellum

Fig. 1 Case 1 (large deletion of *SLC6A* gene)
severe atrophy of callosum & cerebellum
putaminal and thalamic abnormal signal
4 years boy

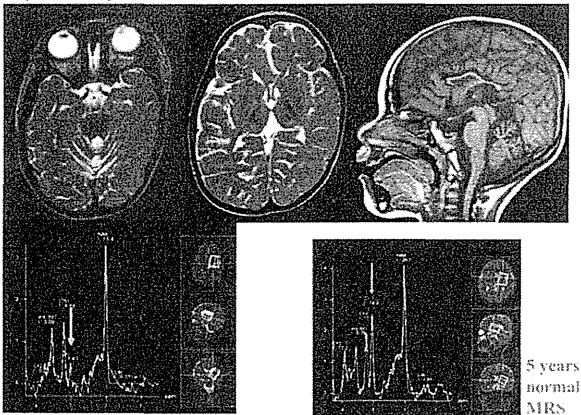


Fig. 2 case 2
thin callosum & mild cerebellar atrophy
5 years boy

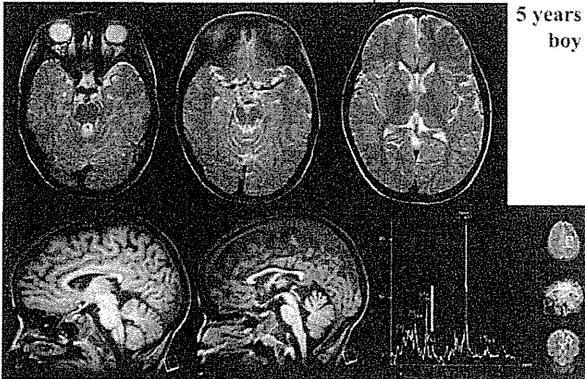
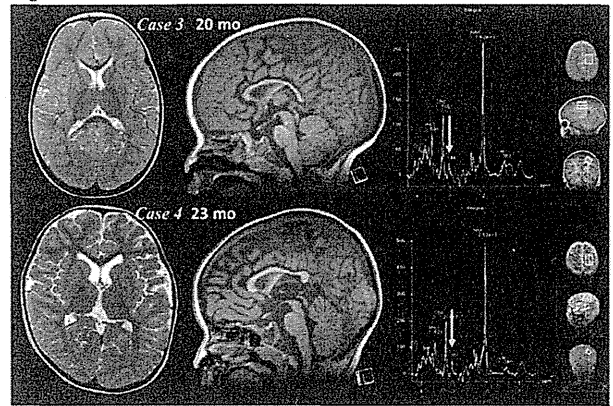


Fig.3 case 3 & 4 with thin callosum



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 4 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。しかし、本検討から、精神遅滞で脳梁の容量低下がある症例では MRS を追加する意義があり、小脳萎縮も認めれば追加したほうがよいと考えられる。

来年度以降は、当センターの 4 例に加えて、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をさらに検討し、診断体制の構築を目指したい。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Niwa T, Aida N, Fujii Y, Nozawa K, Imai Y. Age-related changes of susceptibility-weighted imaging in subependymal nodules of neonates and children with tuberous sclerosis complex. *Brain Dev.* 2015 Nov;37(10):967-73. doi:10.1016/j.braindev.2015.04.003.

- Epub 2015 Apr 20. PubMed PMID: 25907013.
査読あり
- 2) Kuroda Y, Ohashi I, Enomoto Y, Naruto T, Baba N, Tanaka Y, Aida N, Okamoto N, Niihori T, Aoki Y, Kurosawa K. A postzygotic NRAS mutation in a patient with Schimmelpenning syndrome. *Am J Med Genet A*. 2015 Sep;167A(9):2223-5. doi:10.1002/ajmg.a.37135. Epub 2015 Apr 25. PubMed PMID: 25914220. 査読あり
 - 3) Takano K, Shiba N, Wakui K, Yamaguchi T, Aida N, Inaba Y, Fukushima Y, Kosho T. Elevation of neuron specific enolase and brain iron deposition on susceptibility-weighted imaging as diagnostic clues for beta-propeller protein-associated neurodegeneration in early childhood: Additional case report and review of the literature. *Am J Med Genet A*. 2016 Feb;170(2):322-8. doi:10.1002/ajmg.a.37432. Epub 2015 Oct 20. PubMed PMID: 26481852. 査読あり
 - 4) Nakashima M, Takano K, Tsuyusaki Y, Yoshitomi S, Shimono M, Aoki Y, Kato M, Aida N, Mizuguchi T, Miyatake S, Miyake N, Osaka H, Saitsu H, Matsumoto N. WDR45 mutations in three male patients with West syndrome. *J Hum Genet*. 2016 Mar 31. doi: 10.1038/jhg.2016.27. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27030146. 査読あり
2. 学会発表
 - 1) 相田典子、富安もよこ、榎園美香子、野澤久美子、藤井裕太、露崎悠、後藤知英、小島隆行、和田敬仁：脳クレアチン欠乏症のMRI/MRS 所見の検討 第42回日本磁気共鳴医学会（東京 2015年9月10日）
 - 2) Noriko Aida, Moyoko Tomiyasu, Kumiko Nozawa, Yuta Fujii, Mikako Enokizono, Yu Tsuyusaki, Tomohide Goto, Takayuki Obata, Takahito Wada : Brain MRI and ¹H-MRS findings in Japanese patients with Creatine transporter deficiency. 第10回アジアオセアニア神経放射線学会 AOCNR2015（福岡、015.11.5-7）
 - 3) Noriko Aida, Moyoko Tomiyasu, Kumiko Nozawa, Yuta Fujii, Mikako Enokizono, Takayuki Obata, Sumimasa Yamashita : ¹H-MR Spectroscopy in the diagnosis and disease monitoring for pediatric CNS disorders. 第10回アジアオセアニア神経放射線学会 AOCNR2015（福岡、015.11.5-7）
- 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（難治性疾患等政策研究事業（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

研究要旨 小児期遺伝性疾患は、機能喪失により発症する疾患が多く、原因蛋白の発現増加により機能回復を見るため、ウイルスベクター治療の良い適応となる。現在有効な治療法のない脳クレアチニン欠乏症候群クレアチントランスポーター欠損症も、この治療対象となることが考えられる今年度は、同じく小児期発症のトランスポーター疾患である、グルコーストランスポーター1型欠損症（GLUT1DS）の治療研究を行った。Glut1（SLC2A1）の一過性発現により細胞膜表面での細胞内局在を確認し、糖取込試験では、細胞内糖取り込みが上昇し、取り込み能と重症度との間に相関関係を認め、糖輸送評価系を確立した。また9型 AAV-SLC2A1 ベクターを作製し、Glut1 (+/-)への腹腔内投与を行い、脳内での SLC2A1 蛋白発現を確認した。小児期遺伝性神経疾患は、それぞれの症例数は100例前後と希少で種類の多い疾患からなり、Glut1欠損症を初めとする膜蛋白（トランスポーター、受容体等）の治療法の確立により更に多くの患者の治療が可能になる。

研究協力者

青木志保、中村幸恵 自治医科大学小児科

A. 研究目的

近年の次世代シーケンス解析等により、遺伝子診断される小児遺伝性神経疾患例が飛躍的に増えてきている。しかしながら原因が判明しても大多数の疾患には対症療法のみしか存在せず、根本的治療は確立されていない。小児遺伝性神経疾患は、対象患者は数百人からなる数百種の“希少性難病”より構成されている。これらの希少難病は、劣性遺伝形式をとり、機能欠失で発症するケースが多い事がある。この点で優性遺伝形式をとり、変異による細胞毒性が年余に渡り蓄積し発症する成人発症の遺伝性疾患と比較した特徴である。これらの優性遺伝性疾患では、詳細な病態の解明の上で細胞毒性を軽減させる治療法の開発が必要である。アデノ随伴ウイルス（adeno-associated virus: AAV）は遺伝性疾患治療において、現在最も有望視されている遺伝子治療のベクターであり、本研究班では、AAVベクターを用いたアミノ酸脱炭酸酵素欠損症；Aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC)欠損症での、遺伝子治療臨

床研究を本年度自治医大で行った。AAVベクターによる遺伝子導入は現在治療法の存在しない多くの小児難治性遺伝性疾患患者および家族にとり、大きな希望となっている。この治療法を、今後多くの患児に行うためには、AADC欠損症に加え、新たな対象疾患の拡大が必要である。現在私達は、治療のモデルとしてグルコーストランスポーター1型欠損症（Glucose transporter 1 deficiency syndrome, GLUT1DS）治療研究を細胞レベル、動物モデルで行い、今後クレアチントランスポーター欠損症に適応することを目指す。

B. 研究計画・方法（概要）

1) ヒト培養細胞への SLC2A1 導入

HEK293細胞（ヒト胎児腎臓由来細胞）に SLC2A1 正常型および SLC2A1 変異体ベクター、を用いて遺伝子導入する。変異体ベクターは、ミスセンス変異の2種類（A405D；軽症、R333W；中等症）、フレームシフト変異1種類（V303fs；重症）を作成する。それぞれの変異に対応するオリゴヌクレオチドを作成し、アニーリングの後、制限酵素反応お

変異の2種類(A405D; 軽症、R333W; 中等症)、フレームシフト変異1種類(V303fs; 重症)を作成する。それぞれの変異に対応するオリゴヌクレオチドを作成し、アニーリングの後、制限酵素反応およびライゲーションで発現ベクターに組み込む。フレームシフト変異は患者 cDNA より RT-PCR 法により合成する。作成したプラスミドをリポフェクタミン法により一過性発現させ、得られたタンパク発現確認は anti c-myc Ab. (9E10; anta Cruz Biotechnology)、anti GLUT1 Ab. (N-terminus; OriGene Technologies)を用いて免疫染色およびウェスタンブロットによる蛋白の検出を行う。

2) ヒト神経系培養細胞への AAV9-SLC2A1 導入
SLC2A1 遺伝子をインサート DNA として、経静脈投与で脳移行が確認されている 9 型 AAV ベクター (AAV9) に組み込む。ヒト神経系培養細胞である SH-SY5Y 細胞 1×10^5 cell に AAV9-SLC2A1 (myc-DDK タグ付) を 3×10^9 vg 感染させ免疫染色を行う。

3) Glu1 (+/-) への AAV9-SLC2A1 導入
ウイルスベクターの投与経路として、経静脈投与もしくは髄腔内/脳室内投与の比較検討をおこなう。GLUT1 は、赤血球や脳の血管内皮細胞、神経細胞に発現を認める。今回ニューロン特異的プロモーターであるシナプシン 1 プロモーターを用いた神経細胞で発現効率を上げる。
生後 1 週間前後の新生児マウスは、乳幼児に対応し、脳血液関門の脆弱性があり、腹腔内投与でも薬剤が高率に脳移行するため、日齢 7 にヘテロマウス Glu1 (+/-) に AAV9-SLC2A1 1.5×10^{10} vg 腹腔内投与する。

C. 研究結果

1) ヒト培養細胞への SLC2A1 導入
一過性発現後の細胞を用いたウェスタンブロット法にて、正常型およびミスセンス変異を有する SLC2A1 の発現を確認した。免疫染色では、SLC2A1 正常型およびミスセンス変異で細胞膜近傍に myc 染色陽性を確認した。フレームシフト変異では、ウェスタンブロットティングおよび免疫染色法いずれもタンパク発現はみられず、蛋白が安定せず小胞体で分解していることが考えられた。また GLUT の細胞内の糖取込み機能を 2-デオキシグルコース (2DG) 取込試験で評価した。SLC2A1-正常型、ミスセンス変異、フレームシフト変異、コントロールベクター導入細胞の順に糖取込み能は低下しており重症度との相関を認めた。

2) ヒト神経系培養細胞への AAV9-SLC2A1 導入
AAV9-SLC2A1 を導入した SH-SY5Y 細胞膜近傍に

SLC2A1 の発現を確認した。

3) Glu1 +/- への AAV9-SLC2A1 導入
生後 6 週で、脳組織を採取し採取した脳組織で免疫染色 (anti-GLUT1, anti-myc-tag)、ウェスタンブロット法 (anti-GLUT1, anti-myc-tag) でタンパク発現確認を行ったところ ~ 1 % の中枢神経細胞で発現を認めた。

D. 考察

SLC2A1 遺伝子導入による、糖輸送機能の獲得を、2DG 取込試験で評価する系を作成した。GLUT1DS の重症度と相関しており、GLUT1 の機能評価として適切であることが示された。また Glu1 KO マウス、Glu1 (+/-) に AAV-SLC2A1-9 を腹腔内に投与したところ、脳内での発現を確認した。導入効率が低いため、今後は脳室内投与を行い、導入効率や Glu1 (+/-) に認められる、失調症状、小頭症等の臨床症状の改善が認められるか観察する。

5. 結論

AADC 欠損症に対する遺伝子治療を国内における難治性神経疾患のさきがけとして、更に治療対象を拡大するため GLUT1DS を対象とした研究を行っている。小児期遺伝性神経疾患は、それぞれの症例数は 100 例前後 (希少で) の数多くの (種類の多い) 疾患からなる。AADC のように発現が、脳内の基底核に限られた疾患は、少なく、GLUT1DS のように、欠損蛋白が、広く脳内に分布するものが多いため、GLUT1DS の治療法の確立により、クレアチントランスポーター症に対しても根本治療を提供することになる。

G. 研究発表

1. 論文発表

Omata T, Nagai J, Shimbo H, Koizume S, Miyagi Y, Kurosawa K, Yamashita S, Osaka H, Inoue K. A splicing mutation of proteolipid protein 1 in Pelizaeus-Merzbacher disease. *Brain Dev.* In press.

Osaka H, Inoue K. Pathophysiology and emerging therapeutic strategies in Pelizaeus-Merzbacher Disease. *Expert Opinion on Orphan Drugs.* 2015 in press. DOI:10.1517/21678707.2015.1106315

Suzuki T, Yamaguchi H, Kikusato M, Hashizume

- O, Nagatoishi S, Matsuo A, Sato T, Kudo T, Matsushashi T, Murayama K, Ohba Y, Watanabe S, Kanno SI, Minaki D, Saigusa D, Shinbo H, Mori N, Yuri A, Yokoro M, Mishima E, Shima H, Akiyama Y, Takeuchi Y, Kikuchi K, Toyohara T, Suzuki C, Ichimura T, Anzai JI, Kohzuki M, Mano N, Kure S, Yanagisawa T, Tomioka Y, Tohyomizu M, Tsumoto K, Nakada K, Bonventre JV, Ito S, Osaka H, Hayashi KI, Abe T. Mitochondrial Acid 5 Binds Mitochondria and Ameliorates Renal Tubular and Cardiac Myocyte Damage. *J Am Soc Nephrol.* 2015 Nov 25. pii: ASN.2015060623. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 26609120.
- Suzuki T, Yamaguchi H, Kikusato M, Matsushashi T, Matsuo A, Sato T, Oba Y, Watanabe S, Minaki D, Saigusa D, Shimbo H, Mori N, Mishima E, Shima H, Akiyama Y, Takeuchi Y, Yuri A, Kikuchi K, Toyohara T, Suzuki C, Kohzuki M, Anzai J, Mano N, Kure S, Yanagisawa T, Tomioka Y, Toyomizu M, Ito S, Osaka H, Hayashi K, Abe T. Mitochondrial Acid 5 (MA-5), a Derivative of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid, Improves Survival of Fibroblasts from Patients with Mitochondrial Diseases. *Tohoku J Exp Med.* 2015;236(3):225-32. doi: 10.1620/tjem.236.225. PubMed PMID: 26118651.
- Kodera, H., H. Osaka, M. Iai, N. Aida, A. Yamashita, Y. Tsurusaki, M. Nakashima, N. Miyake, H. Saitsu and N. Matsumoto (2015). "Mutations in the glutamyl-tRNA synthetase gene cause early-onset epileptic encephalopathy." *J Hum Genet* 60(2): 97-101.
- Kouga, T., H. Shimbo, M. Iai, S. Yamashita, A. Ishii, Y. Ihara, S. Hirose, K. Yamakawa and H. Osaka (2015). "Effect of CYP2C19 polymorphisms on stiripentol administration in Japanese cases of Dravet syndrome." *Brain Dev* 37(2): 243-249.
- Miyatake, C., S. Koizumi, H. Narazaki, T. Asano, H. Osaka, K. Kurosawa, J. Takanashi and O. Fujino (2015). "Clinical pictures in Pelizaeus-Merzbacher disease: a report of a case." *J Nippon Med Sch* 82(2): 74-75.
- Nakamura, S., H. Osaka, S. Muramatsu, S. Aoki, E. F. Jimbo and T. Yamagata (2015). "Mutational and functional analysis of Glucose transporter I deficiency syndrome." *Mol Genet Metab.*
- Ohba, C., K. Haginoya, H. Osaka, K. Kubota, A. Ishiyama, T. Hiraide, H. Komaki, M. Sasaki, S. Miyatake, M. Nakashima, Y. Tsurusaki, N. Miyake, F. Tanaka, H. Saitsu and N. Matsumoto (2015). "De novo KIF1A mutations cause intellectual deficit, cerebellar atrophy, lower limb spasticity and visual disturbance." *J Hum Genet.*
- Ohba, C., M. Kato, N. Takahashi, H. Osaka, T. Shiihara, J. Tohyama, S. Nabatame, J. Azuma, Y. Fujii, M. Hara, R. Tsurusawa, T. Inoue, R. Ogata, Y. Watanabe, N. Togashi, H. Kodera, M. Nakashima, Y. Tsurusaki, N. Miyake, F. Tanaka, H. Saitsu and N. Matsumoto (2015). "De novo KCNT1 mutations in early-onset epileptic encephalopathy." *Epilepsia* 56(9): e121-e128.
- Okada, H., G. Hasegawa, M. Tanaka, T. Osaka, Y. Shiotsu, H. Narumiya, M. Inoue, K. Nakano, N. Nakamura and M. Fukui (2015). "Association between Hemoglobin Concentration and the Progression or Development of Albuminuria in Diabetic Kidney Disease." *PLoS One* 10(5): e0129192.
- Saitsu, H., R. Fukai, B. Ben-Zeev, Y. Sakai, M. Mimaki, N. Okamoto, Y. Suzuki, Y. Monden, H. Saito, B. Tziperman, M. Torio, S. Akamine, N. Takahashi, H. Osaka, T. Yamagata, K. Nakamura, Y. Tsurusaki, M. Nakashima, N.

- Miyake, M. Shiina, K. Ogata and N. Matsumoto (2015). "Phenotypic spectrum of GNAO1 variants: epileptic encephalopathy to involuntary movements with severe developmental delay." *Eur J Hum Genet.*
- Sasaki, M., C. Ohba, M. Iai, S. Hirabayashi, H. Osaka, T. Hiraide, H. Saitsu and N. Matsumoto (2015). "Sporadic infantile-onset spinocerebellar ataxia caused by missense mutations of the inositol 1,4,5-triphosphate receptor type 1 gene." *J Neurol* 262(5): 1278-1284.
- Tada, H., J. I. Takanashi, H. Okuno, M. Kubota, T. Yamagata, G. Kawano, T. Shiihara, S. I. Hamano, S. Hirose, T. Hayashi, H. Osaka and M. Mizuguchi (2015). "Predictive score for early diagnosis of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD)." *J Neurol Sci.*
- Takano, K., Y. Tsuyusaki, M. Sato, M. Takagi, R. Anzai, M. Okuda, M. Iai, S. Yamashita, T. Okabe, N. Aida, Y. Tsurusaki, H. Saitsu, N. Matsumoto and H. Osaka (2015). "A Japanese girl with an early-infantile onset vanishing white matter disease resembling Cree leukoencephalopathy." *Brain Dev* 37(6): 638-642.
- Tamura, M., H. Shimbo, M. Iai, S. Yamashita and H. Osaka (2015). "Seizure recurrence following pyridoxine withdrawal in a patient with pyridoxine-dependent epilepsy." *Brain Dev* 37(4): 442-445.
- Wada, T., K. Takano, Y. Tsurusaki, N. Miyake, M. Nakashima, H. Saitsu, N. Matsumoto and H. Osaka (2015). "Japanese familial case of myoclonus-dystonia syndrome with a splicing mutation in SGCE." *Pediatr Int* 57(2): 324-326.
- Yamamoto, T., J. Takanashi, K. Kurosawa, K. Deguchi, H. Osaka and K. Inoue (2015). "Comment on "Delayed myelination is not a constant feature of Allan-Herndon-Dudley syndrome: Report of a new case and review of the literature" by Azzolini S et al. *Brain & Development* 2014;36:716-720." *Brain Dev* 37(10): 988-989.
2. 学会発表
- SURF1 遺伝子異常をみとめた Leigh 脳症の経過
佐藤睦美 1,2, 露崎悠 1, 新保裕子 3, 渡邊肇子 1, 安西里恵 1, 市川和志 1, 金子かおり 4, 小坂仁 1,5, 井合瑞江 1, 山下純正 1, 後藤知英 1
1 神奈川県立こども医療センター神経内科, 2 小田原市立病院小児科, 3 神奈川県立こども医療センター臨床研究所, 4 藤沢市民病院こども診療センター, 5 自治医科大学小児科学
第 57 回日本小児神経学会 2015.5.27-30. 大阪
- One female case of AADC deficiency
Karin Kojima1, Hitoshi Osaka1, Chihiro Ohba3, Rie Anzai2, Tomohide Goto2, Ayumi Matsumoto1, Sachie Nakamura1, Akihiko Miyauchi1, Hiroto Saitsu3, Naomichi Matsumoto3, Takanori Yamagata1
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神経内科, 3 横浜市立大学医学部遺伝学
第 57 回日本小児神経学会 2015.5.27-30. 大阪
- 急性脳症を反復した Sotos 症候群の 2 症例
桑島真理, 長嶋雅子, 中野祐子, 門田行史, 小坂仁, 山形崇倫
自治医科大学小児科
第 57 回日本小児神経学会 2015.5.27-30. 大阪
- 生直後より呼吸障害を認め、気管切開術を要した Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) の 1 例
植田綾子 1, 小池泰敬 1, 矢田ゆかり 1, 河野由美 1, 新保裕子 2, 小坂仁 1, 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
第 57 回日本小児神経学会 2015.5.27-30. 大阪
- 「脳クレアチン欠乏症候群の臨床研究班」の取り組み
和田敬仁 1, 小坂仁 2, 相田典子 3, 後藤知英 4, 露崎悠 4, 新保裕子 4, 加藤秀一 5, 高野亨子 6, 大槻純男 7, 伊藤慎悟 7, 立川正憲 8, 黒澤裕子 9
1 京都大学大学院医学研究科医療倫理学・遺伝医療学分野, 2 自治医科大学小児科, 3 神奈川県立こども

医療センター放射線科, 4 神奈川県立こども医療センター神経内科, 5 神奈川県立精神医療センター, 6 信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座, 7 熊本大学大学院生命科学研究部微生物薬学分野, 8 東北大学大学院薬学研究科薬物送達学分野, 9 立命館大学総合科学技術研究機構

第 57 回日本小児神経学会 2015. 5. 27-30. 大阪

ゲノム構造異常によって発症した自閉症・発達障害の疾患特異的 iPS 細胞を用いた病態解明と治療法開発

山本俊至 1, 下島圭子 1, 2, 金子博之 1, 岡本伸彦 3, 齋藤潤 4, 北畠康司 5, 永田浩一 6, 矢田俊彦 7, 小坂仁 8, 山形崇倫 8

1 東京女子医科大学統合医科学研究所, 2 科学技術振興機構さきがけ, 3 大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科, 4 京都大学 iPS 細胞研究所, 5 大阪大学小児科学, 6 愛知県コロニー発達障害研究所神経制御学部, 7 自治医科大学統合生理学部門, 8 自治医科大学小児科

第 57 回日本小児神経学会 2015. 5. 27-30. 大阪

磁化率強調画像で早期に病変を検出し得た

beta-propeller protein-associated neurodegeneration (BPAN) の同胞例

露崎悠 1, 高野亨子 2, 佐藤睦美 1, 渡邊肇子 1, 市川和志 1, 井合瑞江 1, 山下純正 1, 後藤知英 1, 相田典子 3, 小坂仁 4, 中島光子 5, 才津浩智 5, 松本直通 5

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 神奈川県立こども医療センター放射線科, 4 自治医科大学小児科学講座, 5 横浜市立大学医学部遺伝学

第 57 回日本小児神経学会 2015. 5. 27-30. 大阪

GNAO1 遺伝子変異を認めた精神運動発達退行と舞踏アテトーゼを呈する 1 例

坂本沙織 1, 門田行史 1, 深井綾子 2, 三宅紀子 2, 齊藤洋 1, 小坂仁 1, 長嶋雅子 1, 松本直通 2, 山形崇倫 1

1 自治医科大学小児科, 2 横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学

第 57 回日本小児神経学会 2015. 5. 27-30. 大阪

持続的な振戦, 動作性ミオクローヌス, てんかんとの知的障害を示す, 新規疾患と考えられる女性例
小林瑞, 宮内彰彦, 小坂仁, 山形崇倫

自治医科大学小児科

第 57 回日本小児神経学会 2015. 5. 27-30. 大阪

レベチラセタムの治療効果と副作用の検討

中野祐子 1, 池田尚広 1, 2, 宮内彰彦 1, 長嶋雅子 1, 門田行史 1, 桑島真理 1, 小坂仁 1, 山形崇倫 1

1 自治医科大学小児科, 2 国際医療福祉リハビリテーションセンターなす療育園小児科

第 57 回日本小児神経学会 2015. 5. 27-30. 大阪

QARS 遺伝子変異を認めた早期発症てんかん性脳症の兄弟例

井合瑞江 1, 小坂仁 2, 小寺啓文 3, 才津浩智 3, 露崎悠 1, 安西里恵 1, 市川和志 1, 佐藤睦美 1, 渡邊肇子 1, 山下純正 1, 松本直通 3, 後藤知英 1

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, 3 横浜市立大学医学部遺伝学

第 57 回日本小児神経学会 2015. 5. 27-30. 大阪

SEPN1 新規変異を認めたマルチミニコア病の女児例
宮内彰彦 1, 宮武聡子 2, 興水江里子 2, 小島華林 1, 門田行史 1, 西野一三 3, 松本直通 2, 小坂仁 1, 山形崇倫 1

1 自治医科大学小児科, 2 横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学, 3 国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所

第 57 回日本小児神経学会 2015. 5. 27-30. 大阪

DDX11 遺伝子に新規 compound hetero 変異をもつ Warsaw Breakage Syndrome と考えられる

女児例

A female case with possible Warsaw Breakage Syndrome harboring novel compound heterozygous mutations in DDX11.

小島華林 (Karin Kojima) 1, 黒岩裕梨 (Yuri Kuroiwa) 1, 若林慶 (Kei Wakabayashi) 1, 長嶋雅子 (Masako Nagashima) 1, 才津浩智 (Hiroto Saito) 2, 松本直通 (Naomichi Matsumoto) 2, 荻朋男 (Tomoo Ogi) 3, 加藤光広 (Mitsuhiro Kato) 4, 5, 小坂仁 (Hitoshi Osaka) 1, 山形崇倫 (Takanori Yamagata) 1

1 自治医科大学医学部小児科 (Department of Pediatrics, Jichi Medical University, Shimotsukeshi, Tochigi, Japan), 2 横浜市立大学医学部大学院遺伝学 (Department of Human Genetics, Yokohama City University Graduate School of Medicine, Yokohama, Kanagawa, Japan), 3 名古屋大学環境医学研究所発生遺伝分野 (Department of Genetics, Research Institute of Environmental Medicine (RIEM), Nagoya University, Nagoya,

Japan), 4 昭和大学医学部小児科学講座 (Department of Pediatrics, Showa University School of Medicine, Tokyo, Japan), 5 山形大学医学部小児科学講座 (Department of Pediatrics, Yamagata University Faculty of Medicine, Yamagata, Japan)

(C)

日本人類遺伝学会第 60 回大会 2015. 10. 14-17.
新宿

Phenotypic spectrum of GNAO1 variants : epileptic encephalopathy to involuntary movements with severe developmental delay

才津浩智 (Hiroto Saito) 1, 深井綾子 (Ryoko Fukai) 1, 酒井康成 (Yasunari Sakai) 2, 三牧正和 (Masakazu Mimaki) 3, 4, 岡本伸彦 (Nobuhiko

Okamoto) 5, 鈴木保宏 (Yasuhiro Suzuki) 6, 門田行史 (Yukifumi Monden) 7, 齊藤洋 (Hiroshi Saito) 7, 鳥尾倫子 (Michiko Torio) 2, 赤峰哲 (Satoshi Akamine) 2, 高橋長久 (Nagahisa Takahashi) 3, 小坂仁 (Hitoshi Osaka) 7, 山形崇倫 (Takanori Yamagata) 7, 中村和幸 (Kazuyuki Nakamura) 8, 中島光子 (Mitsuko Nakashima) 1, 鶴崎美徳 (Yoshinori Tsurusaki) 1, 三宅紀子 (Noriko Miyake) 1, 椎名政昭 9 (Masaaki Shiina) 9, 緒方一博 (Kazuhiro Ogata) 9, 松本直通 (Naomichi Matsumoto) 1

1 横浜市立大学医学部遺伝学 (Department of Human Genetics, Yokohama City University Graduate School of Medicine, Yokohama, Japan), 2 九州大学医学部小児科 (Department of Pediatrics), Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan)

3 東京大学医学部小児科 (Department of Pediatrics, University of Tokyo, Tokyo, Japan), 4 帝京大学医学部小児科 (Department of Pediatrics, Teikyo University, Tokyo, Japan), 5 大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科 (Department of Medical Genetics, Osaka Medical Center and Research Institute for Maternal and Child Health, Osaka, Japan), 6 大阪府立母子保健総合医療センター小児神経科 (Department of Pediatric Neurology, Osaka Medical Center and Research Institute for Maternal and Child Health, Osaka, Japan), 7 自治医科大学小児科 (Department of Pediatrics, Jichi Medical University, Tochigi, Japan), 8 山形大学医学部小児科 (Department of Pediatrics, Yamagata University Faculty of Medicine, Yamagata, Japan), 9 横浜市立大学医学部生化学 (Department of Biochemistry, Yokohama City

University Graduate School of Medicine, Yokohama, Japan)

日本人類遺伝学会第 60 回大会 2015. 10. 14-17.
新宿

乳児期早期からミグルスタット療法を開始した早期乳児型 Niemann-Pick 病 C 型の 1 例

柴原みほ 1, 宮内彰彦 1, 中野祐子 1, 小太刀豪 1, 中村幸恵 1, 板村真司 3, 成田綾 2, 小坂仁 1, 山形崇倫 1

1 自治医科大学小児科, 2 鳥取大学医学部脳神経小児科, 3 広島市民病院神経小児科

第 57 回日本先天代謝異常学会総会 2015. 11. 12-14.
大阪

難治性てんかんと退行を示した MECP2 重複症候群兄弟例の発作型と脳波の経年的変化」

若林慶, 長嶋雅子, 宮内彰彦, 小島華林, 後藤昌英, 安済達也, 植田綾子, 門田行史, 小高淳, 横山孝二, 小坂仁, 山形崇倫

自治医科大学小児科

第 49 回日本てんかん学会 2015. 10. 30-31. 長崎

Gene therapy for a mouse model of glucose transporter-1 deficiency syndrome.

Sachie Nakamura¹, Hitoshi Osaka¹, Shinichi Muramatsu², Naomi Takino, Shiho Aoki¹, Eriko F. Jimbo¹, Kuniko Shimazaki, Tatsushi Onaka, Sumio Ohtsuki, Takanori Yamagata¹

1 Department of Pediatrics, Jichi Medical University, Tochigi, Japan, 2 Division of Neurology, Jichi Medical University, Tochigi, Japan, 3 Department of Neurosurgery, Jichi Medical University, Tochigi, Japan, 4 Division of Brain and Neurophysiology, Jichi Medical University, Tochigi, Japan, 5 Department of Physiology, Jichi Medical University, Tochigi, Japan, 6 Department of Pharmaceutical Microbiology, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University, Kumamoto, Japan.

第 21 回日本遺伝子治療学会学術集会
2015. 7. 24-26. 大阪

A case of Leigh syndrome with atypical spinal cord involvement due to NDUFAL1 mutation

Akihiko Miyauchi¹, Yukifumi Monden¹, Masato Mori¹, Hideo Sugiel, Hitoshi Osaka¹, Kei Murayama², Akira Ohtake³, Takanori Yamagata¹

1 Department of Pediatrics, Jichi Medical University, 2 Division of Metabolism, Chiba Children's Hospital, 3 Department of Pediatrics, Saitama Medical University
第15回日本ミトコンドリア学会 2015. 11. 19-20.
福井

2016. 10. 6~10 Baltimore, MD

2015年11月19日(木)~20日(金)日本ミトコンドリア学会福井県国際交流会館.

ミトコンドリア DNA m. 3243A>T 変異を認めた MELAS の1例

池田尚広¹, 小坂仁¹, 山崎雅世¹, 鈴木峻¹, 門田行史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

第15回日本ミトコンドリア学会 2015. 11. 19-20.
福井

m. G4450A 変異を認めた MELAS の一症例
桑島真理, 長嶋雅子, 小坂仁, 山形崇倫
自治医科大学小児科
第15回日本ミトコンドリア学会 2015. 11. 19-20.
福井

Gene therapy for a mouse model of glucose transporter-1 deficiency syndrome.

Sachie Nakamura^a, Hitoshi Osaka^a, Shinichi Muramatsu^{b,f}, Naomi Takino^b, Shiho Aoki^a, Eriko F. Jimbo^a, Kuniko Shimazaki^c, Tatsushi Onaka^d, Sumio Ohtsuki^e, Takanori Yamagata^a.

^aDepartment of Pediatrics, ^bDivision of Neurology, ^cDepartment of Neurosurgery, ^dDivision of Brain and Neurophysiology, Department of Physiology, Jichi Medical University, Tochigi, Japan;

^eDepartment of Pharmaceutical Microbiology, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University, Kumamoto, Japan; ^fCenter for Gene and Cell Therapy, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Japan.

American Society of Human Genetics Annual Meeting
2016. 10. 6~10 Baltimore, MD

American Society of Human Genetics Annual Meeting

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対する研究

分担研究者 後藤知英

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 神経内科 部長

研究要旨：脳クレアチン欠乏症候群の臨床像は非特異的であり、診断には脳 MRI 検査機器による脳 magnetic resonance spectroscopy (MRS) で異常所見（クレアチンピークの減衰）を検出することが重要である。神奈川県立こども医療センター神経内科では 2015 年度に 506 件の新規紹介受診があり、このうち発達遅滞・自閉症・てんかんのいずれかを主訴に含むものは 309 件であった。これらの症例に対して、ほぼ全例で脳 MRS を含めた頭部 MRI 検査を実施した。その結果、2015 年度はクレアチン輸送体欠損症が強く疑われる症例を 1 件見出し、現在診断を進めている。また、2014 年度に MRS で同疾患が強く疑われた症例で SLC6A8 遺伝子の塩基配列解析を行い診断が確定した。過去に報告された有病率と 2015 年度の対象者数から推測される、当院で遭遇すると期待されるクレアチン輸送体欠損症の症例数は年間 0.46～5.4 人であり、この予測値の範囲内であった。来年度も引き続き MRS 検査による患者スクリーニングを進めていく予定である。

A. 研究目的

脳クレアチン欠乏症候群はクレアチン産生にかかわる酵素（グアニジノ酢酸メチル基転移酵素、アルギニン・グリシンアミジノ基転移酵素）あるいは細胞内への輸送体（クレアチン輸送体）の機能異常によって、脳内のクレアチンの欠乏を生じる先天性代謝疾患である。臨床的には精神遅滞、言語発達遅滞、てんかんなどを引き起こすことが知られている。特にクレアチン輸送体の異常によるもの（SLC6A8 遺伝子欠損症）は遺伝性精神遅滞のうち脆弱 X 症候群に次ぎ頻度が高い疾患とされ、精神遅滞を有する男性の 0.3～3.5%、アメリカでは 42,000 人、世界では 100 万人と推定されている。

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ため、診断には脳 MRI 検査機器による脳 magnetic resonance spectroscopy (MRS) で異常所見を検出することが重要である（クレアチンピーク

の減衰）。我が国では MRI 検査機器は広く普及しており発達遅延やてんかんの診断の上でルーチンの検査となっている。しかし、脳 MRS は検査手技あるいは検査時間の制約のため実施される症例は限られている。このことから、未診断となっている脳クレアチン欠乏症候群症例が、我が国にも多数存在する可能性がある。

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。

B. 研究方法

2015 年度の 1 年間に神奈川県立こども医療センター神経内科に新規紹介受診した 506 件のうち、発達遅滞・自閉症・てんかんのいずれかを主訴に含んでいた 309 件のほぼ全例に対して、原因検索のため脳 MRS を含めた頭部 MRI 検査を実施した。本研究は、当センターの倫理委員会承認されている。

C. 研究結果

1) 2015年度は309症例のうち、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(兄がクレアチン輸送体欠損症とすでに診断されており、本児にも発達遅滞が出現したため精査を行うことになった)。現在診断を進めている。また、2014年度にMRS検査と血液・尿検査からクレアチン輸送体欠損症が強く疑われた1症例についてSLC6A8遺伝子の塩基配列解析を行ったところ変異を認め(c.196_207 dup. p.Val66_Ala69insVGFA in exon1)、診断が確定した。

2) 発達遅滞・自閉症・てんかんのいずれかを主訴に含んでいた309件のうち約半数が男児であったとした場合、前述の有病率から当院で遭遇すると期待されるクレアチン輸送体欠損症の症例数は年間0.46~5.4人である。対象者は精神遅滞を伴わないてんかんのみの症例を含むため、実際の期待値はさらに少ない可能性がある。309件のうちてんかんを主訴に含む症例(189件)を除外した場合120件が対象となり、期待値は年間0.18~2.1人となる(ただし、この場合はてんかんに発達遅滞や自閉症を伴う症例が含まれない)。

D. 考察

昨年に引き続き新規にクレアチン輸送体欠損症が強く疑われる症例が1件見出された。MRS検査を行うことはクレアチン輸送体欠損症を診断する上で重要かつ有用なものであることが示された。昨年度の研究では当院で遭遇すると期待されるクレアチン輸送体欠損症の症例数は年間0.5~6.2人と算出されており、本年度も同様の結果となった。したがって、2015年度の1年間に1症例が検出されたことは予測値の範囲内であったことになる。来年度も引き続きMRS検査による患者スクリーニングを進めていく予定である。

E. 結論

脳クレアチン欠乏症候群は発達遅滞、自閉症、てんかんの鑑別疾患として重要である。その診断にはMRSが有用であるが、実施可能な医療施設はごくわずかであり、また疾患自体の認知度が低いことから、日本国内の大多数の症例は診断されていない状態と考える。来年度も引き続き未診断となっている症例の診断を進めていく。また、診断基準作成にむけて、既に診断されている症例の臨床情報を集積するとともに、臨床現場への周知を進めていく予定である。

G. 研究発表 (本研究に関連するものに限る)

1. 論文発表

- 1) 後藤知英(監修)、林雅晴、豊田圭子、日本小児神経学会(2015) 続・イメージからせまる小児神経疾患50 一症例から学ぶ 診断・治療プロセス— 診断と治療社
- 2) 露崎悠(2015) 発達の遅れを主訴に受診した4歳男児. 続・イメージからせまる小児神経疾患50 一症例から学ぶ 診断・治療プロセス—, p23-4. 診断と治療社
- 3) 露崎悠(2015) 治療可能な小児神経疾患. 続・イメージからせまる小児神経疾患50 一症例から学ぶ 診断・治療プロセス—, p33-4. 診断と治療社

2. 学会発表

- 1) Shimbo H, Osaka H, Tachikawa M, Otsuki S, Ito S, Goto T, Tsuyusaki Y, Aida N, Kurosawa K, Kurosawa Y, Kato H, Takano K, Wada T (2015) Molecular genetic study and urine analysis of Japanese patients with cerebral creatine deficiency syndromes. 2015年American Society of Human Genetics (ASHG)年次集会(10月、Baltimore)

H. 知的所有権の取得状況

なし

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））

分担研究報告書

脳クレアチン欠乏症候群の分子遺伝学的診断

分担研究者：新保裕子 神奈川県立こども医療センター 臨床研究所

研究要旨

クレアチン代謝異常症は、重度の精神遅滞を主要症状とし、てんかん、自閉症、重度の言語障害などの様々な臨床症状を有する。その先天的な原因として、クレアチン生合成に関わるグアニジノ酢酸メチルトランスフェラーゼ(GAMT)、アルギニン・グリシンアミジノトランスフェラーゼ(AGAT)、およびクレアチントランスポーター(SLC6A8)の遺伝子の欠損が知られている。臨床症状を有する患者の脳を磁気共鳴スペクトル装置(MRS)で調べて脳内クレアチン値の低下を確認することにより診断されるが、原因遺伝子を特定する手掛かりを得るには、尿や血清中のクレアチン関連化合物（特にグアニジノ酢酸/クレアチニン比、クレアチン/クレアチニン比）を測定する必要がある。昨年度、臨床学的、尿中のクレアチン/クレアチニン比率、MRS 検査よりクレアチン代謝異常症（SLC6A8 欠損症）が疑われた1症例(男児)について、確定診断のため遺伝子検査を行った。その結果、exon1 に12塩基重複(c.196_207 dup, p.(Val166_Ala69insVGFA))が認められた。既知の報告はなく、新規変異と考えられる。クレアチンの取り込みを検討するため、患者由来の皮膚由来線維芽細胞を維持培養し、共同研究先に提供した。

A. 研究目的

クレアチン代謝異常症は、重度の精神遅滞を主要症状とし、てんかん、自閉症、重度の言語障害などの様々な臨床症状を有する疾患である。海外におけるクレアチン代謝異常症の報告が多いが、日本での報告は当院で解析した数例にとどまる。その先天的な原因として、クレアチン生合成に関わるグアニジノ酢酸メチルトランスフェラーゼ(GAMT)、アルギニン・グリシンアミジノトランスフェラーゼ(AGAT)、およびクレアチントランスポーター(SLC6A8)の遺伝子の欠損が知られている[1-3]。臨床症状を有する患者の脳を磁気共鳴スペクトル装置

(MRS)で調べて脳内クレアチン値の低下を確認することにより診断されるが、原因遺伝子を特定する手掛かりを得るには、尿や血清中のクレアチン関連化合物（特にグアニジノ酢酸/クレアチニン比、クレアチン/クレアチニン比）を測定する必要がある。

2011年に当研究室において、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)-UV 検出器で陽イオンクロマトグラフィー用カラムを用いた生体試料中のクレアチン化合物の測定方法及びその方法を用いるクレアチン代謝異常症の患者のスクリーニング方法を開発した[4]。今までに本邦初症例を含むクレアチン代謝異常症7家系（SLC6A8欠損症:6家

系、GAMT 欠損:1 家系) の診断を行った [5-8] (表 1)。生体試料分析において、SLC6A8 欠損症は尿中のクレアチン/クレアチニン比が上昇、GAMT 欠損症は尿、血漿、髄液中のグアニジノ酢酸濃度上昇を特徴とする。

尿のスクリーニング、脳内 MRS、遺伝子検査から早期診断、治療応用を目指す。

B. 研究方法

1. 尿中のクレアチン関連化合物の測定

採取した尿は、直ちに凍結し、 -80°C で保存する。患者尿検体の測定は、凍結尿 500 μl に等量のアセトニトリルを添加後、氷上に静置し、遠心分離により蛋白を除去後の上清を 10~100 倍希釈し、評価する。

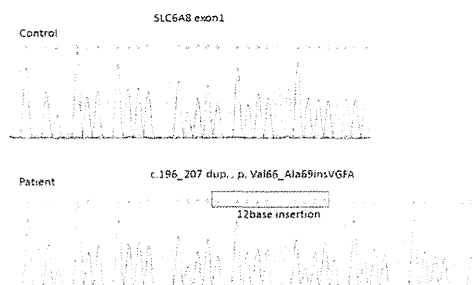
2. 遺伝子検査

末梢血液からゲノム DNA、RNA を抽出し、遺伝子解析に使用する。昨年度、臨床学的クレアチン代謝異常症が疑われた 1 症例(男児)について、尿中クレアチン/クレアチニン比の上昇(同年齢の正常上限値の約 3 倍)、脳 MRS 検査では脳内クレアチン値の低下が認められた。SLC6A8 欠損症が疑われ、確定診断のため遺伝子検査を行った。

C. 研究結果

臨床学的クレアチン代謝異常症が疑われた男児 1 症例の遺伝子検査結果、exon1 に 12 塩基重複 (c.196_207 dup, p.(Val66_Ala69insVGFA)) が認められた。(図 1)。

図 1. クロマトグラム



D. 考察

本研究期間に臨床学、生化学、MRS 検査よりクレアチン代謝異常症 (SLC6A8 欠損症) が疑われた 1 症例(男児)について、遺伝学的に確定診断した。

E. 結論

尿中のクレアチン関連化合物の HPLC 測定は、クレアチン代謝疾患の診断に有用である。遺伝学的に確定診断された症例に関しては、患者由来線維芽細胞を共同研究先に提供し、クレアチンの取り込みを検討し、機能解明を行う。

References

- [1] S. Stockler et al. Guanidinoacetate methyltransferase deficiency: the first inborn error of creatine metabolism in man Am J Hum Genet 58 (1996) 914-922.
- [2] C.B. Item et al. Arginine:glycine amidinotransferase deficiency: the third inborn error of creatine metabolism in humans Am J Hum Genet 69 (2001) 1127-1133.

- [3] G.S. Salomons et al. X-linked creatine-transporter gene (SLC6A8) defect: a new creatine-deficiency syndrome Am J Hum Genet 68 (2001) 1497-1500.
- [4] T. Wada et al. A simple screening method using ion chromatography for the diagnosis of cerebral creatine deficiency syndromes Amino Acids 43 (2012) 993-997.
- [5] H. Osaka et al. Contiguous deletion of SLC6A8 and BAP31 in a patient with severe dystonia and sensorineural deafness Mol Genet Metab 106 (2012) 43-47.
- [6] H. Kato et al. Urine screening for patients with developmental disabilities detected a patient with creatine transporter deficiency due to a novel missense mutation in SLC6A8 Brain Dev (2013).
- [7] T. Akiyama et al. A Japanese adult case of guanidinoacetate methyltransferase deficiency JIMD Rep 12 (2013) 65-69.
- [8] F. Nozaki et al. A family with creatine transporter deficiency diagnosed with urinary creatine / creatinine ratio and the family history: the third Japanese familial case. No To Hattatsu 47 (2015) 49-52.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Omata T, Nagai JI, Shimbo H, Koizume S, Miyagi Y, Kurosawa K, Yamashita S,

Osaka H, Inoue K. Brain Dev. 2015 Dec 22 A splicing mutation of proteolipid protein 1 in Pelizaeus - Merzbacher disease.

2) Suzuki T, Yamaguchi H, Kikusato M, Hashizume O, Nagatoishi S, Matsuo A, Sato T, Kudo T, Matsuhashi T, Murayama K, Ohba Y, Watanabe S, Kanno SI, Minaki D, Saigusa D, Shinbo H, Mori N, Yuri A, Yokoro M, Mishima E, Shima H, Akiyama Y, Takeuchi Y, Kikuchi K, Toyohara T, Suzuki C, Ichimura T, Anzai JI, Kohzuki M, Mano N, Kure S, Yanagisawa T, Tomioka Y, Tohyomizu M, Tsumoto K, Nakada K, Bonventre JV, Ito S, Osaka H, Hayashi KI, Abe T. Mitochondrial Acid 5 Binds Mitochondria and Ameliorates Renal Tubular and Cardiac Myocyte Damage. J Am Soc Nephrol. 2015 Nov 25.

3) Suzuki T, Yamaguchi H, Kikusato M, Matsuhashi T, Matsuo A, Sato T, Oba Y, Watanabe S, Minaki D, Saigusa D, Shimbo H, Mori N, Mishima E, Shima H, Akiyama Y, Takeuchi Y, Yuri A, Kikuchi K, Toyohara T, Suzuki C, Kohzuki M, Anzai J, Mano N, Kure S, Yanagisawa T, Tomioka Y, Toyomizu M, Ito S, Osaka H, Hayashi K, Abe T. Mitochondrial Acid 5 (MA-5), a Derivative of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid, Improves Survival of Fibroblasts from Patients with Mitochondrial Diseases. Tohoku J Exp Med. 2015;236(3):225-32.

2. 学会発表

1) H. Shimbo, H. Osaka, M. Tachikawa, S. Ohtsuki, S. Ito, T. Goto, Y. Tsuyusaki, N. Aida, K. Kurosawa, Y. Kurosawa, H. Kato, K. Takano, T. Wada. Molecular genetic study and urine analysis of Japanese patients with cerebral creatine deficiency syndromes. 65th American Society of Human Genetics 2015.10.6-10 in Baltimore

2) 末梢神経障害を呈したニーマンピック病 C 型の 2 例 溝部吉高, 露崎悠, 新保裕子, 渡邊肇子, 佐藤睦美, 安西里恵, 市川和志, 井合瑞江, 山下純正, 後藤知英 57 回日本小児神経学会 平成 27 年 5 月 28-30 日 大阪

3) 生直後より呼吸障害を認め, 気管切開術を要した Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) の 1 例 植田綾子, 小池泰敬, 矢田ゆかり

河野由美, 新保裕子, 小坂仁, 山形崇倫
57 回日本小児神経学会 平成 27 年 5 月 28-30 日 大阪

4) 「脳クレアチン欠乏症候群の臨床研究班」の取り組み 和田敬仁, 小坂仁, 相田典子, 後藤知英, 露崎悠, 新保裕子, 加藤秀一, 高野亨子, 大槻純男, 伊藤慎悟, 立川正憲, 黒澤裕子 57 回日本小児神経学会 平成 27 年 5 月 28-30 日 大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表 1. SLC6A8 欠損症 6 家系 11 患者と GAMT 欠損症 1 患者の臨床像

Family	Family A				Family B				Family C				Family D		Family E		Family F		
Case	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
Sex	M	F	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
Mutation	c.1541G>C,p.G454Yng in exon 12				c.1845G>T,p.P615Mter in exon 12				c.231_232delCTT,p.P76A97del in exon 2				c.524T>C,p.C172Rng in exon 2		c.194_207del p.V198_A247delYCFR in exon 2		c.181G>C&c.65a13Tgpmgpm2 (p.Val100Cys178 and p.Val110Met171) (c.177G>A&c.65a13Tgpmgpm2)		
Intelligence	C				B				Abnormal				Abnormal		S		F		
Subnormal	Normal				Abnormal				Abnormal				Abnormal		S		F		
Estimated Age	4 yr	6 yr	2 yr	29 yr	12 yr	14 yr	8 yr	10 yr	11 yr	1 yr 6 mo	1 yr 6 mo	2 yr	46 month	4 yr	20 yr 9	20 yr 9	18 yr	18 yr	
Sex	male	male	male	female (carrier)	male	male	male	female (carrier)	male	male	female (carrier)	male	female	male	male	male	male	female	
Centralized Age	28 mo	30 mo	40 mo	40 mo	40 mo	40 mo	40 mo	40 mo	40 mo	40 mo	40 mo	40 mo	40 mo	40 mo	40 mo	40 mo	40 mo	40 mo	
Weight at birth	3370g	3922g	2982g	2960g	NA	NA	NA	3422g	3346g	2905g	1812g	2112g	2112g	2112g	2112g	2112g	2112g	2112g	
Parents	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Height (SD)	-0.8	0.4	-0.2	-0.1	NA	NA	NA	-0.8	-0.2	-1.2	-0.9	-0.9	-0.9	-0.9	-0.9	-0.9	-0.9	-0.9	
Head circumference (SD)	-1.2	NA	-0.2	NA	NA	NA	NA	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3	
Major Developmental Milestones	21 months	21 months	24 months	24 months	NA	NA	24 months	24 months	24 months	24 months	24 months	24 months	24 months	24 months	24 months	24 months	24 months	24 months	
Subnormal	21 months	21 months	21 months	21 months	NA	NA	21 months	21 months	21 months	21 months	21 months	21 months	21 months	21 months	21 months	21 months	21 months	21 months	
Level of speech	Words only	3 words only	3 words only	3 words only	NA	NA	Words only	Words only	Words only	Words only	Words only	Words only	Words only	Words only	Words only	Words only	Words only	Words only	
Seizure type at onset	Focal SE (1 yr)	Focal SE (1 yr)	Focal SE (1 yr)	Focal SE (1 yr)	Epilepsy	Epilepsy	Focal SE (1 yr)	Focal SE (1 yr)	No seizure	No seizure	No seizure	No seizure	No seizure	No seizure	No seizure	No seizure	No seizure	No seizure	
EEG	No SE discharge	NA	No SE discharge	EEG abnormal	NA	NA	No SE discharge	No SE	No SE discharge	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Brain MRI/CT	NA	Normal (CT only)	Normal (MRI only)	Normal (MRI only)	NA	NA	Normal	Normal (CT only)	NA	Normal	Normal (MRI only)	NA	Normal (MRI only)	NA	Normal (MRI only)	NA	Normal (MRI only)	Normal (MRI only)	
MR Spectroscopy	decreased CR peak	NA	NA	NA	NA	NA	decreased CR peak	decreased CR peak	NA	decreased CR peak	decreased CR peak	NA	decreased CR peak	decreased CR peak	NA	decreased CR peak	decreased CR peak	decreased CR peak	
Characteristics	moderate ID, mild autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay	severe ID, moderate autistic features, mild motor delay, mild cognitive delay
CR/CH/CA/CT/CP	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	NA	NA	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00	0.00/0.00/0.00/0.00/0.00

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者署名	論文タイトル名	書籍全体の	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
		編集者名					

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
野崎 章仁、熊田知浩、柴田実、藤井達哉、 <u>和田敬仁</u> 、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
<u>和田敬仁</u>	脳クレアチン欠乏症候群	小児科臨床	79	290	2016

IV. 研究成果の刊行物・別刷

= 症 例 報 告 =

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

野崎 章仁¹ 熊田 知浩¹ 柴田 実¹ 藤井 達哉¹ 和田 敬仁² 小坂 仁³

要旨 クレアチントランスポーター欠損症は、筋緊張低下、知的障害とけいれんを特徴とする X 連鎖劣性遺伝性疾患である。本邦3家系目を経験したので報告する。発端者は8歳男児。重度知的障害とけいれんを認めた。2名の兄にてんかんと重度知的障害を認め、長兄は17歳で突然死した。尿中クレアチン／クレアチニン比上昇、頭部MRスペクトロスコピーでクレアチンピーク低下、*SLC6A8* 遺伝子解析で c.1661 C>T; p.Pro554Leu の既報告ミスセンス変異を認め、確定診断した。兄にも同じ変異があり、母はヘテロ接合変異を認めた。知的障害、けいれんや発達障害等を認め、X連鎖劣性遺伝を示唆する男児例では尿中クレアチン／クレアチニン比の測定をすることが重要である。

見出し語 クレアチントランスポーター欠損症、クレアチン代謝異常症、尿中クレアチン／クレアチニン比、頭部MRS

はじめに

クレアチンは、細胞内でクレアチン・キナーゼの働きでホスホクレアチンとなり、エネルギー源として貯蓄される¹⁾。*SLC6A8* (solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, creatine), member 8; MIM*300036) 遺伝子変異によるクレアチントランスポーター (creatine transporter; CRTR) 欠損症 (cerebral creatine deficiency syndrome 1; MIM #300352) は、神経細胞内にクレアチンが輸送出来ず、エネルギー生成不良を来す X 連鎖劣性遺伝のクレアチン代謝異常症である。2001年に Salomons ら²⁾が初めて報告して以来知的障害の新しい原因疾患として注目をされ、これまでに78家系170例が診断されている¹⁾。本邦では2012年に初めて *SLC6A8* を含む欠失例が報告された³⁾。さらに2013年に1家系3症例が尿中クレアチン／クレアチニン比上昇を契機にCRTR欠損症が疑われ、遺伝子検査により確定診断されている⁴⁾。我々は、筋緊張低下、重度知的障害とけいれんを認め、家族歴から X 連鎖性知的障害を疑い、尿中クレアチン／クレアチニン比上昇よりCRTR欠損症の診断に至った8歳男児例から本邦3家系目を経験したので報告する。

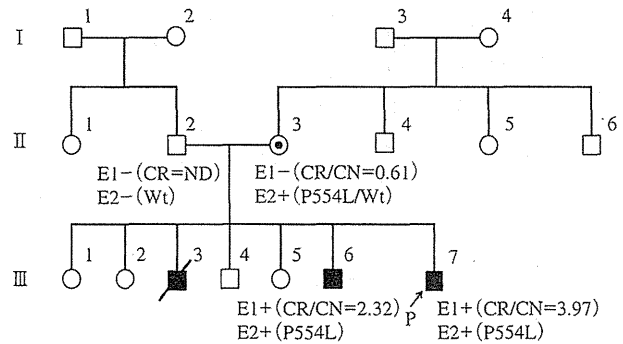


図1 家系図

CR：クレアチン，CN：クレアチニン，ND：検出せず，Wt：野生型。
E1-：尿中クレアチン／クレアチニン比上昇なし，E1+：尿中クレアチン／クレアチニン比上昇あり，E2-：*SLC6A8* 遺伝子変異なし，E2+：*SLC6A8* 遺伝子変異あり。

Ⅲ-2に軽度知的障害，Ⅲ-3にてんかん，重度知的障害および17歳での突然死を認めた。Ⅲ-6(症例2)に難治性てんかん，重度知的障害および自閉症を認めた。Ⅲ-7(症例1)に筋緊張低下，重度知的障害，有熱時のけいれんと無熱性けいれんを認めた。Ⅱ-3は説明内容の理解に乏しさを認めた。

I 症 例

1. 家族歴 (図1)

4名男子，3名女子の7人兄弟姉妹。次女(Ⅲ-2)に軽度知的障害，長兄(Ⅲ-3)にてんかん，重度知的障害および17歳での突然死，三男(Ⅲ-6)にてんかん，重度知的障害および自閉症を認めた。母(Ⅱ-3)は説明内容の理解に乏しさを認めた。

¹ 滋賀県立小児保健医療センター小児科
² 京都大学大学院医学研究科医療倫理学・遺伝医療学分野
³ 自治医科大学小児科
 連絡先 〒524-0022 守山市守山5-7-30
 滋賀県立小児保健医療センター小児科(野崎章仁)
 E-mail: nozaki-kgw@umin.ac.jp
 (受付日: 2014. 1. 9, 受理日: 2014. 6. 26)