

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

(ハンドブック作成協力)

大槻純男 熊本大学大学院生命科学研究部・教授

伊藤慎悟 熊本大学大学院生命科学研究部・助教

立川正憲 東北大学大学院薬学研究科・准教授

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。

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)

(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
少が明らかな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。

(方法)当センターで診断された4例
の脳クレアチン欠乏症の脳 MRI 所見と
MRS による代謝物絶対濃度との関連を
解析した。

(結果)臨床的重症例においては深部
灰白質の信号異常(1例)と小脳萎縮(2
例)を認め、全例で程度の差はあるが脳
梁の薄い所見を認めた。いずれも非特異
的所見であり、脳内クレアチン濃度と MRI
所見との関連は明らかではなかった。

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。

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）

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ン欠乏症候群クレアチントランスporter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porter疾患である、グルコーストランスporter 1 型欠損症（GLUT1DS）の治療研究を行った。

（研究）Glut 1 (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。

（考察）本研究における AAV ウイルスベクターを用いた遺伝子導入による治療は、同じトランスporterの異常であるクレアチントランスporter欠損症にも応用できることが期待される。

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。

（考察）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。

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。本年度は、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、確定診断のため分子遺伝学的解析を行った。

(結果) exon1 に 12 塩基重複 (c.196_207dup, p. (Val66_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用いた機能解析を進めている。

(結果)

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。遺伝子変異解析だけでは、発症と関連あるか判定が難しいケースもあり、線維芽細胞を用いた機能解析は病態解明および確定診断のために必要である。

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。本年度は、クレアチントランスポーター欠損症が疑われた 1 家系に対して、登録を進めていたが、再検査の結果、本疾患が否定されたため、現時点で、本サイトへの登録症例は 0 件である。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。

6. 診断基準およびハンドブックの作成 (和田)

臨床家への本疾患の周知を目的として、診断基準 (平成 27 年度暫定案) および臨床家を対象としたハンドブックを作成した。(資料 1, 2)

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 7 家系であり、未診断例が多数存在することが推定される。

来年度は診断基準(平成 27 年度暫定案) およびハンドブックの内容の妥当性の評価と改訂作業を行う。

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る。本邦における診断症例数は少なく、未診断例が存在すると考えられる。臨書科における本疾患の周知が急がれる。

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. 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。
2. 和田敬仁 脳クレアチン欠乏症候群 小児科臨床 79;290, 2016

2. 学会発表

1. 和田敬仁 「精神遅滞は治らない」のか？ 第9回東北大学学際科学フロンティア研究所セミナー、第457回東北大学大学院薬学研究科セミナー、薬学送達学分野・薬理学分野主催講演会、2015年8月7日、東北大学、仙台。
2. 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。「脳クレアチン欠乏症候群の臨床研究班」の取り組み。57回日本小児神経学会 平成27年5月28-30日 大

阪

3. 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

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
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