

201510004B

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）

脳クレアチン欠乏症候群の臨床研究

平成26年度～27年度 総合研究報告書

研究代表者 和田 敬仁

平成28（2016）年 3月

目 次

I. 総括研究報告	
脳クレアチン欠乏症候群の臨床研究 和田敬仁	1
図1～9	9
資料1、2	16
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	25
III. 研究成果の刊行物・別刷	27
IV. 研究班構成員名簿	49

I. 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）

総合研究報告書

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、近い将来の治験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。(図1、2)

CCDSsにおいて、臨床上重要な点は、(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)

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。

【研究】

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 3T 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。

【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。

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

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

Fig. 1 Case 1 (large deletion of *SLC6A8* gene)
severe atrophy of callosum & cerebellum
putaminal and thalamic abnormal signal
4 years boy

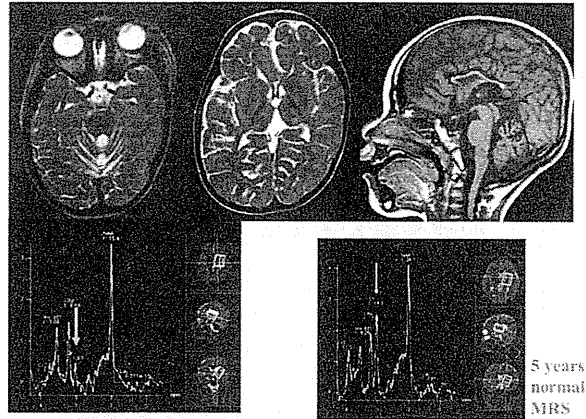


Fig. 2 case 2
thin callosum & mild cerebellar atrophy
5 years boy

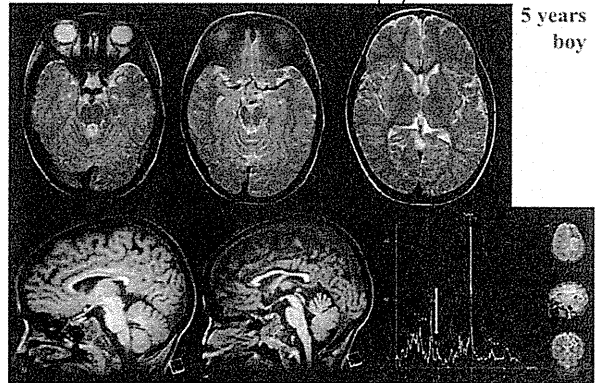
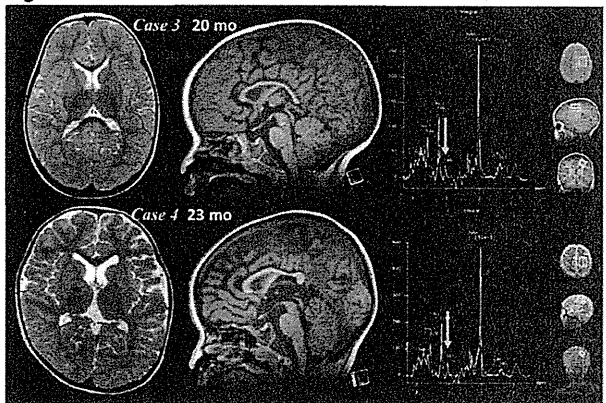


Fig. 3 case 3 & 4 with thin callosum



【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するとしているが、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。

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）

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。

【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、CCDS が疑われた。

【研究】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。

RT-PCR により c.391G>C では、スプライシングの異常を来たしエクソン 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を確認した。

【考察】確定診断により、クレアチン・オルニチン補充療法を開始し、症状の改善を認めた。脳クレアチ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。

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。

【研究】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。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+/-1 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。

【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 Glut1 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。

【結論】 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、同じトランスポーターの異常であるクレアチントランスポーター欠損症にも応用

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)

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にあった。

現在までに本邦において GAMT 欠損症 1 症例、SLC6A8 欠損症 6 例が診断され臨床情報を集積中である。(図 4、5)

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を選択に重要である。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、その有効性を検証した。

(結果)現在までに SLC6A8 欠損症の 6 家系では X 連鎖性の遺伝形式をとるが、男性のみならず、女性も発症しうするため、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 6 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る(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。

本研究においては、症例数が極めて少ないため、日本における発症頻度の推定は困難と判断した。まずは、疾患の周知が第一と考えられ、暫定的な診断基準(資料 1)を作成した。また、臨床家向けにガイドブック(資料 2)を作成した。来年度以降、診断基準およびガイドブックの妥当性を検証し、改訂を進める。

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。

来年度以降、疾患の周知を進めるとともに、診断基準およびガイドブックの妥当性を検証し、改訂を進める。

E. 健康危険情報

特に報告すべき事項はない。

F. 倫理面への配慮

本研究においては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針、および、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針にしたがった。

G. 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.

5. 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 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。
4. 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。

5. 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

6. 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

図1

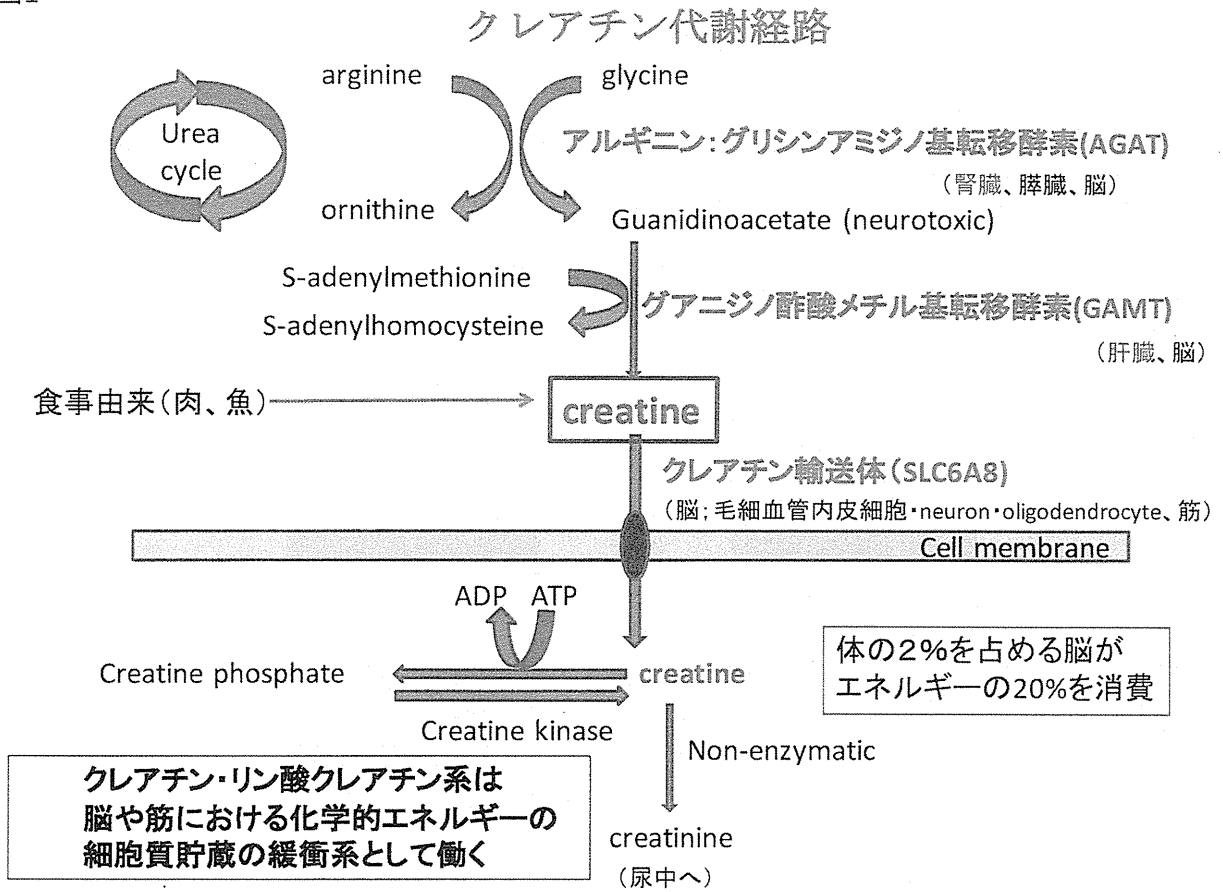


図2

脳クレアチン欠乏症候群

cerebral creatine deficiency syndromes (CCDSs)

• **常染色体劣性**

– **アルギニン:グリシンアミノ基転移酵素(AGAT)欠損症**

- AGAT遺伝子 (15q15.3)
- 治療: クレアチン400mg/kg/day

**治療法がある
精神遅滞**

– **グアニジノ酢酸メチル基転移酵素(GAMT)欠損症**

- GAMT遺伝子 (19p13.3)
- 治療: クレアチン400mg/kg/day, オルニチン、安息香酸Na摂取、アルギニン摂取制限

• **X連鎖**

– **クレアチン輸送体(SLC6A8)欠損症**

- SLC6A8遺伝子 (Xq28); 中枢神経(neuron, oligodendrocyte, microcapillary endothelial cells)、心筋、骨格筋で発現
- 治療: なし
- 頻度が高い
 - X連鎖精神遅滞の2%
 - 精神遅滞の男性の0.3-3.5%

• **女性保因者**

- 程度は様々; 無症状~学習障害や行動異常

[Stockler, 2007]

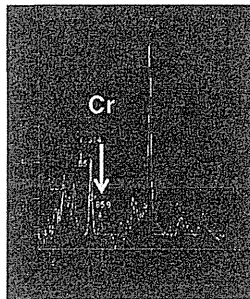
図3

脳クレアチン欠乏症の診断

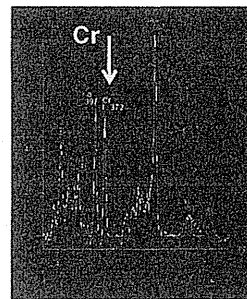
1. deficiency		urine		serum			Cerebrospinal fluid		
		GAA/C	CR/CN	GAA	CR	CN	GAA	CR	CN
AGAT		↓	↓	↓	no data		no data	→	
GAMT		↑	↓	↑↑	↓	↓~→	↑↑	↓	
SLC6A8	male	→	↑	→	?		no data	→	
	female	→	→~↑					?	

(GAA: guanidinoacetic acid, CR: creatine, CN: creatinine)

2. ¹H magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS)



Patient with CTD



control

decreased peak of creatine at basal ganglia

図4

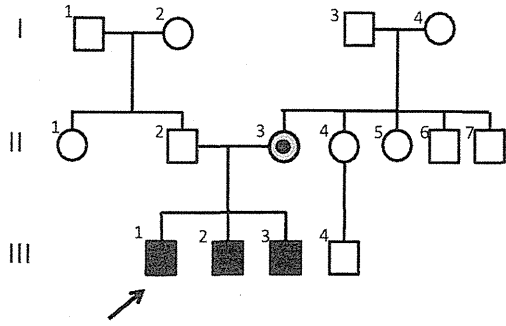
SLC6A8欠損症 臨床情報(抜粋)

	Family A				Family B				Family C			Family D		Family E	Family F
	III-1	III-2	III-3	II-3	III-3	III-6	III-7	II-3	II-1	II-2	I-2	II-1	I-2	II-1	
年齢	6 Yr	4 Yr	2 Yr	29 Yr	17 Yr	19 Yr	9 Yr		10 Yr	5 Yr		1 Yr 8 Mo		6 Yr	
性	M	M	M	F	M	M	M	F	M	M	F	M	F	M	
身長(S.D.)	-0.7	-1.7	-3.4	-2.2		-0.4	-2.1		-0.1	-2.2		-3.2		-4.4	
独歩	24 m	22 m	24 m	18 m		NA	4.7Y		24 m	30 m		25 m		No Head control	
有意語	24 m	20 m	21 m	16 m		-	-		24 m	36 m		-		-	
けいれん F: 熱性、Ep: てんかん	F	F	Ep	Ep	Ep	F(+), Ep	F/A		F	No		F		Ep	
Intellectual Disability	moderate ID	severe ID	severe ID	mild ID	severe ID	Severe ID, autism	Severe ID	mild ID	moderate ID	moderate ID	healthy ID	Moderate ID	healthy ID	Severe ID	
SLC6A8 変異	c.1681 G>C, p.Gly561Arg in exon 12				c.1661C>T, p.Pro554Leu in exon 12				c.321_323del CTT, p.Phe107del in exon 2			c.514 T>C, p.Cys172Arg in exon 3		19-kb 欠失 de novo	c.196_207 dup, p.(Val66_Ala69)nsVGFA

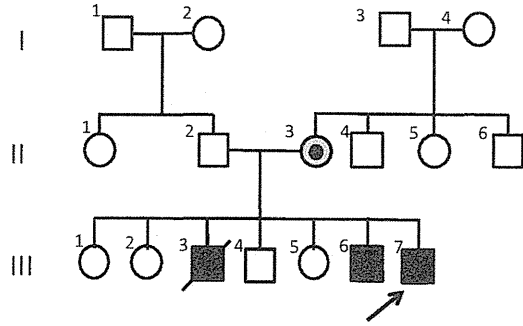
図5

SLC6A8欠損症 日本症例5家系の家系図

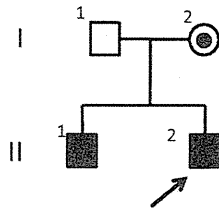
Family A



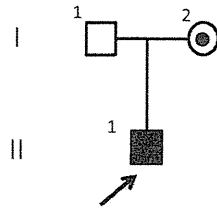
Family B



Family C



Family D



Family E

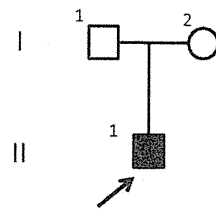
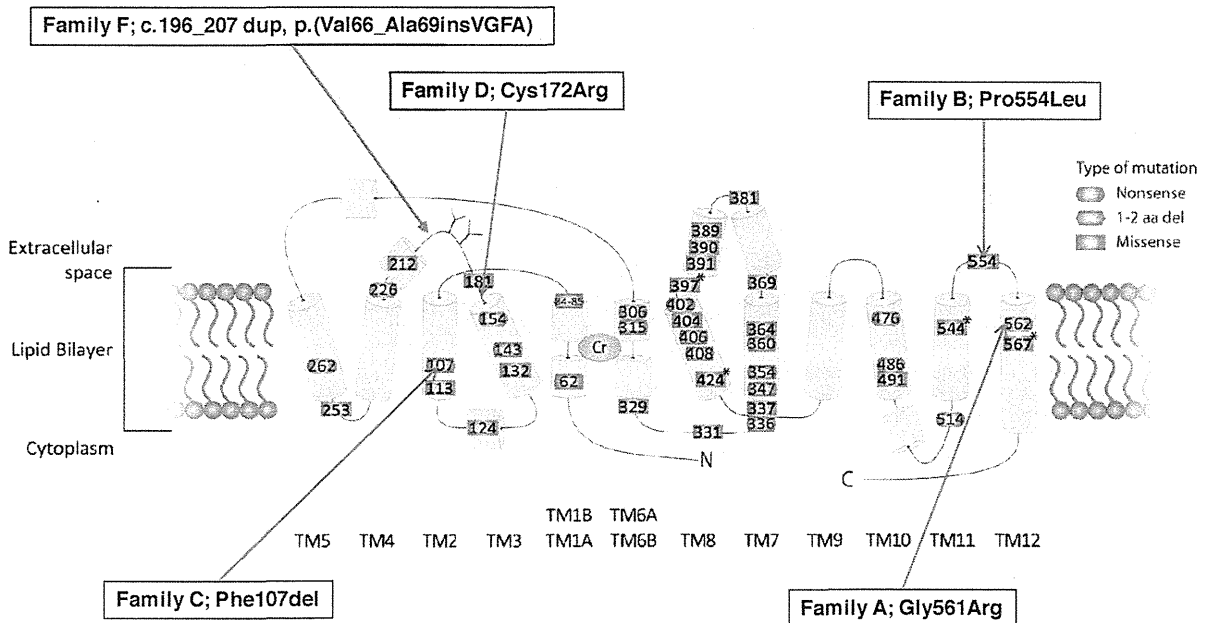


図6

患者で検出された変異の位置



The large deletion of Family E was excluded.

[From Van de Kamp, et al. J Med Genet, 2013]

図7

尿中クレアチン/クレアチニン比106名のコントロール
およびSLC6A8遺伝子変異を持つ男性患者および女性保因者

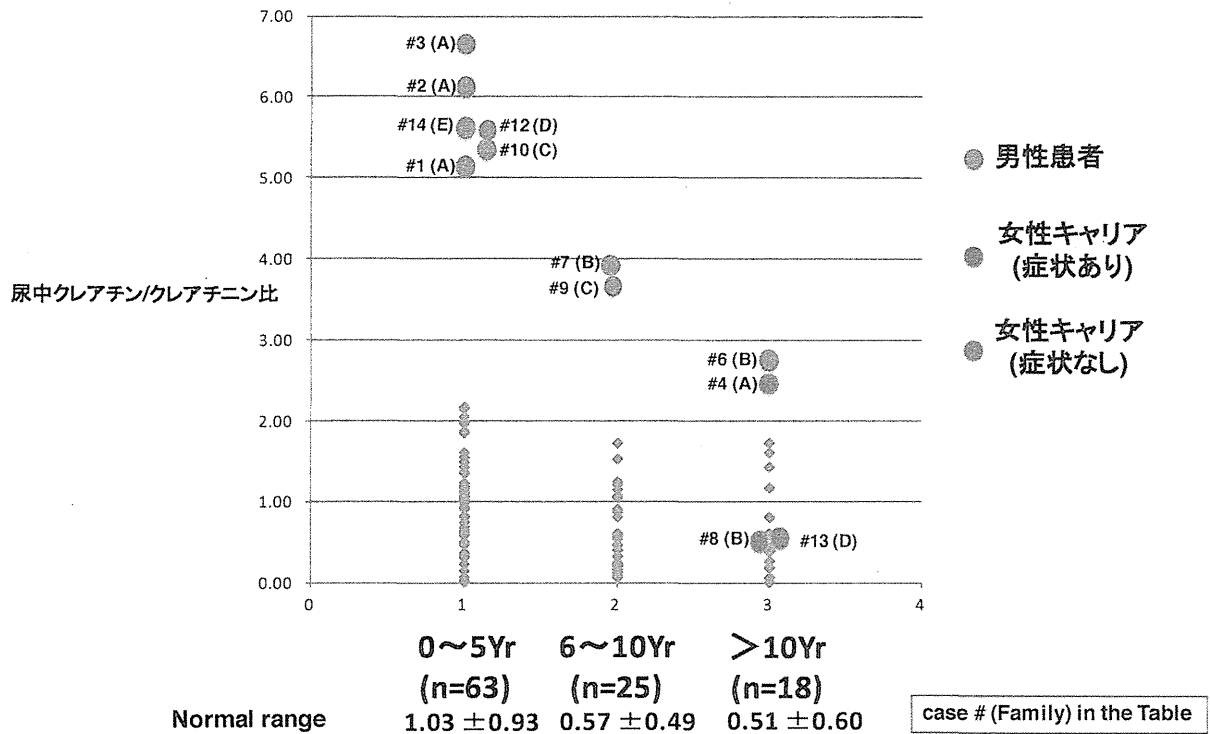


図8

Research Rare Disease R² Square **CURE Path** Creatine deficiency Urine test Rare disease Encounter care

このウェブサイトは患者さまのサイトです。医療従事者の方はこちら「医療従事者のみさまへ」

トップページ 疾患情報 研究者情報 ご協力をお願い お知らせ

精神遅滞や言語発達遅滞を引き起こす
脳クレアチン欠乏症候群
をご存じですか？

本プロジェクトへ参加していただける方を
只今募集しています。

■脳クレアチン欠乏症候群とは
脳クレアチン欠乏症候群(cerebral creatine deficiency syndromes: CCDSs)には、いくつかの種類があり、そのうち一番多くの人がかかっているといわれている「クレアチン輸送体欠損症」は、いまだ研究の途上であり、治療法が確立されていません。ぜひ研究にご協力ください。→ くわしくはこちらへ

■新着情報
2015.04.28 : CURE Path 登録受付開始
2015.03.16 : CURE Path 公開

■ご意見をお寄せください。
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
住所 : 〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7-6-8
TEL/FAX : 072-641-9016 (受付時間: 9:00~16:00【土・日・祝日除く】)
E-mail : raredis-r2@nibiohn.go.jp

制作・運用 : 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
担当 : 和田聡仁先生 (京都大学医学部後援産科学領域医学生講座: 厚生労働省科学研究費助成事業「脳クレアチン欠乏症候群の臨床研究 (H26-務治等(重)・般-006)」代表者)

All copyrights Reserved 2015 National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition

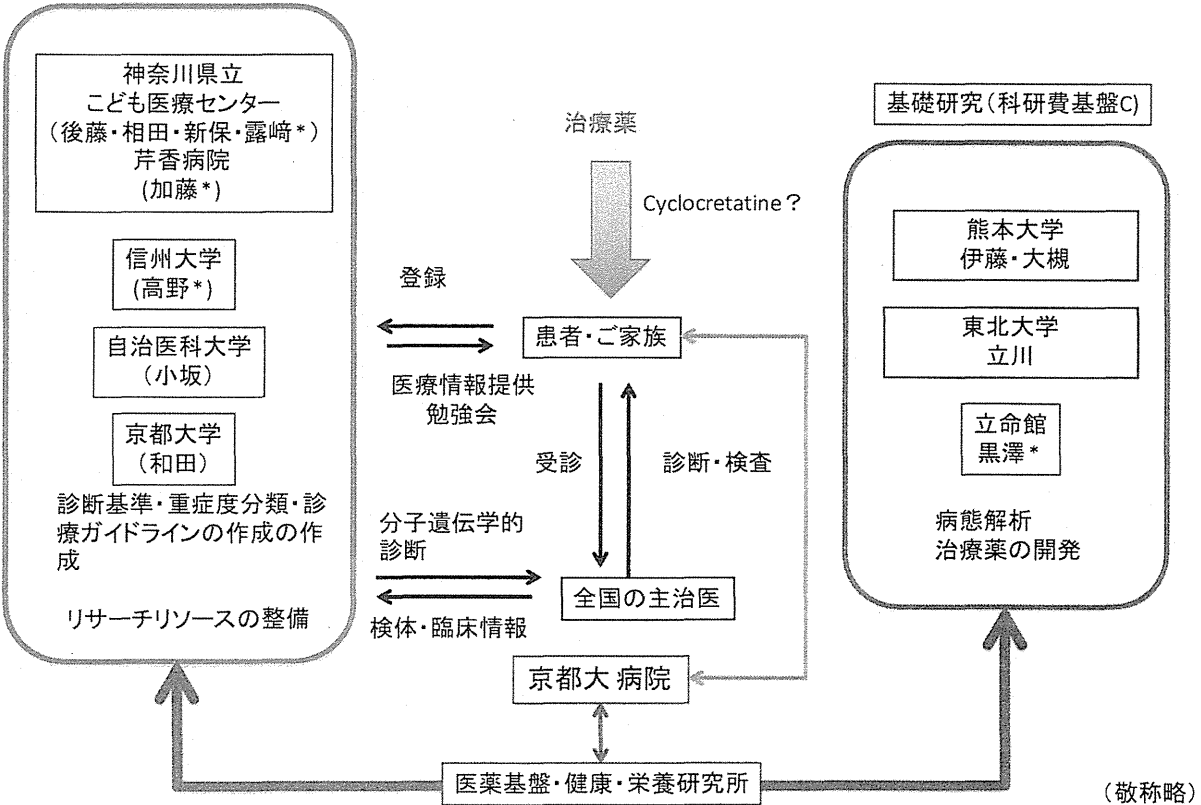
<http://raredis.nibio.go.jp/cure/index.html>

図9

研究班の組織図

臨床研究(厚生労働科学研究費)

基礎研究(科研費基盤C)



資料1

「脳クレアチン欠乏症候群」の診断基準(平成 27 年度暫定案)

A. 症状

1. 知的障害
2. てんかん
3. 言語発達遅滞
4. 発達障害(女性の場合)

B. 検査所見

1. 血液・生化学的検査所見

【SLC6A8 欠損症】

尿中クレアチン(mg/dl)/クレアチニン(mg/dl)比 \uparrow (2.0 以上)

血清クレアチン \rightarrow or \uparrow 、髄液クレアチン \rightarrow

(注;女性では正常値を呈することもある)

【AGAT 欠損症】

尿中クレアチン/クレアチニン比 \rightarrow

尿中グアニジノ酢酸 \downarrow or \rightarrow 、尿中クレアチン/クレアチニン比 \rightarrow

【GAMT 欠損症】

尿中クレアチン/クレアチニン比 \rightarrow

尿中・血清・髄液 グアニジノ酢酸 $\uparrow\uparrow$

2. 画像検査所見:脳¹H-MRSにおけるクレアチンピークの低下

C. 鑑別診断

以下の疾患を鑑別する。

知的障害を呈するすべての疾患。

1. 染色体異常症(微細欠失・重複症候群を含む)
2. 先天性代謝疾患(アミノ酸、有機酸、乳酸・ピルビン酸、血液ガス、生化学検査など)
3. 重度精神遅滞や自閉症を呈する遺伝性知的障害症候群

D. 遺伝学的検査

1. グアニジノ酢酸メチル基転移酵素欠損症 GAMT 遺伝子
アルギニン・グリシンアミジノ基転移酵素欠損症 AGAT 遺伝子
クレアチン輸送体欠損症 SLC6A8 遺伝子

<診断のカテゴリー>

Definite: Aのうち1項目以上+Bのうち項目2を満たしCの鑑別すべき疾患を除外し、Dを満たすもの

Probable: Aのうち1項目以上+Bのうち項目1および2を満たしCの鑑別すべき疾患を除外したもの

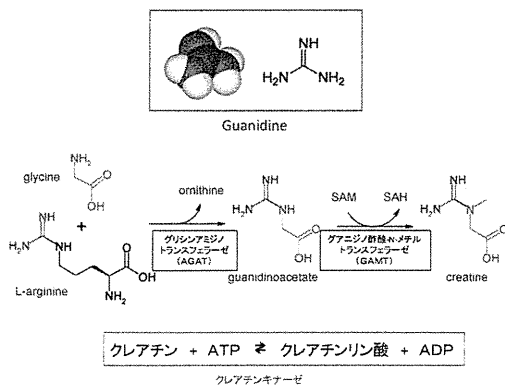
Possible: Aのうち1項目以上+Bのうち項目2のみを満たしているもの。

脳クレアチン欠乏症 ハンドブック2016

クレアチントランスポーター欠損症を中心に

クレアチンの役割

グアニジノ化合物



脳クレアチンの役割

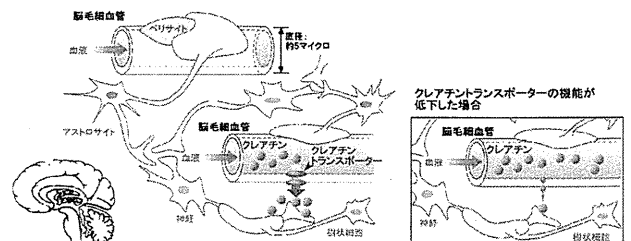
- エネルギー通貨ATPをタイムリーに届ける^[1]
 - ミトコンドリアで産生されたATPをクレアチンリン酸として貯蔵
 - 必要とする細胞内の部位でATPとして取り出す
- 神経伝達の調節作用^[1]
 - GABA受容体や、NMDA受容体の調節
- 抗酸化作用^[2]
- 神経細胞生存増強^[3]

【解説】

- ▶ エネルギーの通貨であるATPを主として、ミトコンドリア内の電子伝達系で作られます。このATPを利用して細胞は細胞内の物質輸送を行い、また細胞膜を介したイオンなどの出し入れを行います。ATPが必要な場所はミトコンドリアの近くばかりではありません。ATPが必要な場所に、届けるためにクレアチン・リン酸として一旦貯蔵し、必要な細胞内の場所で、必要なタイミングでATPを産生するためにクレアチン・リン酸の原料としてクレアチンは必要です。
- ▶ また神経細胞の膜上には、GABAやグルタミン酸を受け取り、電気活動に変換する受容体がたくさんありますが、クレアチンはGABA受容体の働きを弱め（アンタゴニスト：阻害作用）、グルタミン酸受容体特にNMDA受容体に対して働きを強める作用があることが知られています。
- ▶ また細胞内には、特にATP産生の過程で多くの活性酸素種（ヒドロキシルラジカルHO・；スーパーオキシドアニオンラジカルO₂⁻；ヒドロペルオキシラジカルHO₂；過酸化水素H₂O₂）が存在し、酸化反応により細胞を損傷することが知られており、クレアチンはこれらの除去に関与することがわかっています。
- ▶ またクレアチンを投与したマウスでは、脳梗塞による神経細胞死を抑えることが知られています。ミトコンドリアによる細胞死に関与した、VDAC複合体に作用することにより、この働きを発揮すると考えられています。

1. Joncauel-Chevalier Curt, M., et al. Creatine biosynthesis and transport in health and disease. *Biochimie*, 2015, 119: p. 146-65.
2. Wallimann, T., M. Tokarska-Schlattner, and U. Schlattner. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids*, 2011, 40(5): p. 1271-96.
3. Brosnan, J.T. and M.E. Brosnan. Creatine: endogenous metabolite, dietary, and therapeutic supplement. *Annu Rev Nutr*, 2007, 27: p. 241-61.

血液から脳へのクレアチン供給



【解説】

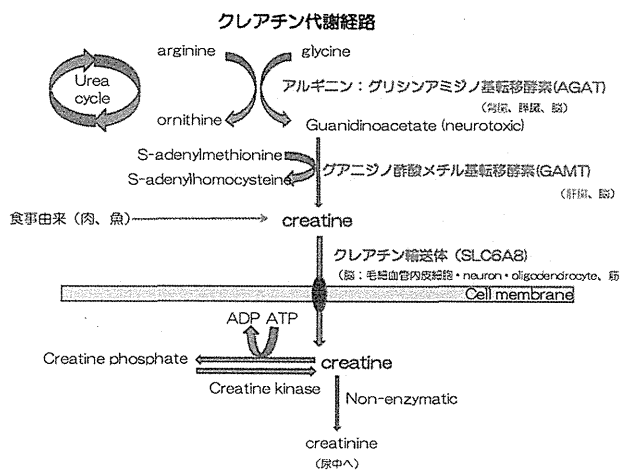
- 脳内には神経をはじめとしたさまざまな細胞が存在し、中枢機能を担っています。
- その機能を維持するために血液から栄養物質等が供給されます。
- 血液から効率よく供給するために脳内には脳毛細血管と呼ばれる細い血管が網の目状に走っています。
- 脳毛細血管の壁（血管内皮細胞）によって血液中の物質は脳へ入れません。
- しかし、脳毛細血管には「トランスポーター」と呼ばれるタンパク質が存在し、脳が必要とする物質を選び、脳内へ供給します。
- このように脳が必要とする物質を選択して供給し、一方で、その他の物質を脳へ入れない仕組みを「血液脳関門」と呼びます。
- クレアチンは、脳毛細血管に存在するクレアチントランスポーターによって血液から脳内へ供給されます。
- しかし、クレアチントランスポーターの機能が低下してしまうと、血液からのクレアチン供給が低下します。
- その結果、脳内のクレアチン量が低下してしまいます。

脳クレアチン欠乏症

脳クレアチン欠乏症候群

cerebral creatine deficiency syndromes (CCDSs)

- ・ 脳内クレアチンの代謝異常により発症
 - 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短時間貯蔵の種系として働く [Brosnan and Brosnan, 2007]
 - ・ 体の2%を占める脳が、全エネルギーの20%を消費している
 - ・ 神経における興奮性の維持・シグナル伝達には、非常に高レベルのATPの消費が必要
- ・ 共通の臨床症状
 - 精神遅滞（軽度～重度）、言語発達障害、てんかん、自閉症
- ・ 常染色体劣性
 - アルギニン：グリシンアミジノ基転移酵素 (AGAT) 欠損症 (MIM 602360)
 - ・ AGAT遺伝子 (15q15.3)
 - ・ 治療：クレアチン400mg/kg/day
 - グアニジノ酢酸メチル基転移酵素 (GAMT) 欠損症 (MIM 601240)
 - ・ GAMT遺伝子 (19p13.3)
 - ・ 治療：クレアチン400mg/kg/day, オルニチン、安息香酸Na摂取、アルギニン摂取制限
- ・ X連鎖
 - クレアチン輸送体 (SLC6A8) 欠損症 (MIM 300036)
 - ・ SLC6A8遺伝子 (Xq28)
 - ・ 治療：クレアチン経口投与は効果なし、アルギニン・グリシン大量(？)
 - ・ 頻度が高い
 - アメリカに42,000人、世界に100万人 [Kurosawa Y, 2012] => 日本に17,500人
 - Fragile X 症候群が認定された精神遅滞男性の0.3~3.5%
 - ・ 女性保因者も発症しうる
 - 程度は様々：無症状～学習障害や行動異常 [Stockler, 2007]



【解説】

- クレアチンは全身に分布していますが、95%は筋肉に、残りの5%は脳、肝、腎、精巣に分布しています。
- クレアチン (creatine: Crn) は、食事由来のCrnと、アルギニンとグリシン、およびメチオニンの3つのアミノ酸から2つの酵素、アルギニン：グリシンアミジノ基転移酵素 (AGAT) と グアニジノ酢酸メチル基転移酵素 (GAMT) により合成される内因性のCrnに分類できます。クレアチンは、細胞膜上にあるクレアチントランスポーターで細胞内に取り込まれます。クレアチンはクレアチンキナーゼによりリン酸化クレアチンと平衡を保ち、また、クレアチンは非酵素的にクレアチニンに変換され、尿として体外に排出されます。
- 腎臓のAGATと肝臓のGAMTは、筋肉に対するクレアチンの供給として主要な働きをしていると考えられますが、脳での役割は小さいと考えられています。
- 脳は、体重の2%を占めるのみですが、全エネルギーの20%を消費していると推定されています。クレアチンキナーゼ-リン酸化クレアチン系は、脳や脊髄におけるエネルギー代謝に重要な役割を果たしていると考えられています。
- 上の図から、クレアチンの投与が、AGAT欠損症やGAMT欠損症では有効ですが、クレアチントランスポーター欠損症では無効であることがわかります。
- クレアチンは、肉や魚に多く含まれます。(1kgあたり5g程度の含有量)
- 成人 (70kg) のクレアチンの体内量は120~140g、1日に代謝されるクレアチンは2g。

クレアチントランスポーター欠損症