

**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。鑑別の対象疾患は、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)異常症等である。

個別疾患の診療ガイドラインのうち、本年度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の作成を手がけ、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ(PEPCK)欠損症のガイドラインの学会承認を得た。

さらに、ミトコンドリア病データベースを、後藤班、村山班と連携して、JaSMIn(先天代謝異常症患者登録システム)と共有し、ミトコンドリア病に特化したMO Bank(Mitochondrial disease research Organization data Bank / 新生児・小児ミトコンドリア病臨床情報バンク)の登録を進めた。

**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。さらに、ミトコンドリア病に特化したMO Bank(Mitochondrial disease research Organization data Bank / 新生児・小児ミトコンドリア病臨床情報バンク)の登録を進めた。

**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) フラックスアナライザーを用いた細胞レベルでの酸素消費量の解析。3) 次世代シーケンサーを用いたミトコンドリア DNA 全周塩基配列と既報核遺伝子 135 個のパネル解析。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キソーム解析。

(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-XI)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

ではヒトゲノム・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。鑑別の対象疾患は、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 異常症である。

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。

本年はホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) 欠損症のみ診療ガイドラインを完成したので、その疾患概要のみ記す。

#### 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。

## 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、461 家系 482 例を MRCD と診断した。臨床診断では Leigh 脳症が最も多く 104 例、次いで乳児ミトコンドリア病、脳筋症、肝症、心筋症、神経変性疾患と続き、突然死が 68 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 6 例で新規遺伝子を病因として同定した (*MRPS23*、*QRSL1*、*PNPLA4*、*SLC25A26*、*COQ4*、*GTPBP3*)。

### 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。現在 Leigh 脳症患者を対象に医師主導として治験を進行中である。

### 5) ミトコンドリア病データベース

さらに、ミトコンドリア病データベースを、後藤班、村山班と連携して、JaSMIn (先天代謝異常症患者登録システム) と共有し、ミトコンドリア病に特化した MO Bank (Mitochondrial disease research Organization data Bank / 新生児・小児ミトコンドリア病臨床情報バンク) の登録を進めている。

## 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し、成人期への移行対策を検討した。

## G . 研究発表

### 1 . 論文発表

1) Ogawa E, Shimura M, Fushimi T, Tajika M, Ichimoto K, Matsunaga A, Tsuruoka T, Ishige M, Fuchigami T, Yamazaki T, Mori M, Kohda M, Kishita Y, Okazaki Y, Takahashi S, Ohtake A, Murayama K. Clinical validity of biochemical and molecular analysis in diagnosing Leigh syndrome: a study of 106 Japanese patients. *J Inherit Metab Dis.* 2017 Apr 20. doi: 10.1007/s10545-017-0042-6. [Epub ahead of print]

2) Borna NN, Kishita Y, Ishikawa K, Nakada K, Hayashi JI, Tokuzawa Y, Kohda M, Nyuzuki H, Yamashita-Sugahara Y, Nasu T, Takeda A, Murayama K, Ohtake A, Okazaki Y. A novel mutation in TAZ causes mitochondrial respiratory chain disorder without cardiomyopathy. *J Hum Genet.* 2017 Apr;62(5):539-547. doi: 10.1038/jhg.2016.165. Epub 2017 Jan 26.

3) Zaha K, Matsumoto H, Itoh M, Saitsu H, Kato K, Kato M, Ogata S, Murayama K, Kishita Y, Mizuno Y, Kohda M, Nishino I, Ohtake A, Okazaki Y, Matsumoto N, Nonoyama S. DNMT1L-related encephalopathy in infancy with Leigh syndrome-like phenotype and suppression-burst. *Clin Genet.* 2016 Nov;90(5):472-474. doi: 10.1111/cge.12805. Epub 2016 Jun 14.

4) Kopajtich R, Murayama K, Janecke AR, Haack TB, Breuer M, Knisely AS, Harting I, Ohashi T, Okazaki Y, Watanabe D, Tokuzawa Y, Kotzaeridou U, Kölker S, Sauer S, Carl M, Straub S, Entenmann A, Gizewski E, Feichtinger RG, Mayr JA, Lackner K, Strom TM, Meitinger T, Müller T, Ohtake A, Hoffmann GF, Prokisch H, Staufner C. Biallelic IARS Mutations Cause Growth Retardation with Prenatal Onset, Intellectual Disability, Muscular Hypotonia, and Infantile Hepatopathy. *Am J Hum Genet.* 2016 Aug 4;99(2):414-22. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.05.027. Epub 2016 Jul 14.

5) Imai A, Kishita Y, Nakayama Y, Fujita S, Futatani T, Kohda M, Yatsuka Y, Nakaya A, Sakata Y, Murayama K, Ohtake A, Okazaki Y. Dried blood spots for newborn screening allows easy determination of a high heteroplasmy rate in severe infantile cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2016 Oct 15;221:446-9. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.06.287. Epub 2016 Jun 29.

6) Imai A, Kohda M, Nakaya A, Sakata Y, Murayama K, Ohtake A, Lathrop M, Okazaki Y, Ott J. HDR: a statistical two-step approach successfully identifies disease genes in autosomal recessive families. *J Hum Genet.* 2016 Nov;61(11):959-963. doi: 10.1038/jhg.2016.85. Epub 2016 Jun 30.

7) Hashimura Y, Morioka I, Hisamatsu C, Yokoyama N, Taniguchi-Ikeda M, Yokozaki H, Murayama K, Ohtake A, Itoh K, Takeshima Y, Iijima K. Mitochondrial respiratory chain complex IV deficiency complicated with chronic intestinal pseudo-obstruction in a neonate. *Pediatr Int.* 2016 Jul;58(7):651-5. doi: 10.1111/ped.12907. Epub 2016 Jun 6.

8) Imai A, Fujita S, Kishita Y, Kohda M, Tokuzawa Y, Hirata T, Mizuno Y, Harashima H, Nakaya A, Sakata Y, Takeda A, Mori M, Murayama K, Ohtake A, Okazaki Y. Rapidly progressive infantile cardiomyopathy with mitochondrial respiratory chain complex V deficiency due to loss of ATPase 6 and 8 protein. *Int J Cardiol.* 2016 Mar 15;207:203-5. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.01.026. Epub 2016 Jan 7.

9) Kohda M, Tokuzawa Y, Kishita Y, Nyuzuki H, Moriyama Y, Mizuno Y, Hirata T, Yatsuka Y, Yamashita-Sugahara Y, Nakachi Y, Kato H, Okuda A, Tamaru S, Borna NN, Banshoya K, Aigaki T, Sato-Miyata Y, Ohnuma K, Suzuki T, Nagao A, Maehata H, Matsuda F, Higasa K, Nagasaki M, Yasuda J, Yamamoto M, Fushimi T, Shimura M, Kaiho-Ichimoto K, Harashima H, Yamazaki T, Mori M, Murayama K, Ohtake A, Okazaki Y. A Comprehensive Genomic Analysis Reveals the Genetic Landscape of Mitochondrial Respiratory Chain Complex Deficiencies. *PLoS Genet.* 2016 Jan 7;12(1):e1005679. doi: 10.1371/journal.pgen.1005679. eCollection 2016 Jan.

### 2. 学会発表

特になし

## H . 知的財産権の出願・登録状況

特になし。