

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総合研究報告書

先天性代謝異常症の成人期の医療体制および筋型先天性代謝異常症の実態調査研究

研究分担者：西野 一三 国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 疾病研究第一部 部長

研究分担者：福田 冬季子 浜松医科大学 小児科学 准教授

研究要旨

先天性代謝異常症の成人患者は、小児期に診断され成人期へと移行した患者と成人期に診断が付く患者に分けられる。これまで前者のグループについては、成人科への移行への対応を含めた議論が重ねられてきているが、後者の全容把握については十分な対策が取られてこなかった。加えて、成人期に診断される例は、小児期発症例と比較して非典型的な症状を来することが多く、診断が付いていない患者が多数存在する可能性が示唆される。このような患者を見逃さないようにすべく、筋生検凍結筋切片を用いた Pompe 病全例スクリーニングを開始している。当初解析を行った 201 例中活性低下の可能性が指摘されたのは 11 例であった。このうち 4 例は検体不良による酵素活性低値であった。GAA 遺伝子解析および凍結筋での酵素活性測定では、偽欠損アレルを 2 例がヘテロ接合型で、2 例がホモ接合型で有していた。更に、ホモ接合型で偽欠損アレルを有していた例のうち 1 例は、乳児型の原因変異をもヘテロ接合型で有しており、その活性は酸性マルターゼ / 中性マルターゼ活性比が、通常の患者で見られる活性比ほどの低下ではないものの、0.25 と著明な低下を示していた。以上の結果は、本邦では Pompe 病が極めて稀であり、少なくとも高頻度に患者が見逃されているわけではないことを示している。さらに、国立精神・神経医療研究センターで脂質蓄積型ミオパチーと診断された例の最終診断についてのレビューを行った。半数以上の例で原因不明であったが、特に成人症例で原因不明例が多かった。これは、遺伝的要因以外に基礎疾患、薬物内服などの二次的要因が関与する可能性が小児例より高いことが一因と考えられた。Very long acyl-coA dehydrogenase(VLCAD) 欠損症の乳児例で、脂質蓄積ミオパチー像を呈する例が一例見いだされた。通常 VLCAD 欠損症では、脂肪滴増加は認めないか、あっても極めて軽度である。これは、筋生検が施行される例がほぼ全例成人例に限られるためであり、筋生検が施行されない重症の乳児例では脂肪滴が増加している可能性が示唆された。

A：研究目的

1) 成人期先天性代謝異常症患者の実態把握

に向けた問題点を明らかにする。

2) 凍結筋切片を用いた Pompe 病スクリー

ニング実施の成果を明らかにする。

3) 脂質蓄積性ミオパチー例の最終診断と診断ごとの頻度を検討するとともに、小児例と成人例での違いの有無を明らかにする。

B：研究方法

1) 文献および公開情報、既知情報の整理と考察を行った。

2) 中村公俊班長の協力を得て、凍結筋切片を用いた Pompe 病スクリーニングを 2015 年 7 月より開始している。当初解析を行った 201 例での結果を再検討することにより、本邦筋疾患患者の中での Pompe 病の頻度を予測することとした。具体的には、ルーチンで施行されている筋病理診断用標本作製時にスライドグラスを 1 枚多く作製し、そのスライドを一定期間分まとめて熊本大学に送付して、酵素活性測定を行う。酵素活性のカットオフ値は 1 nmol/h/mg protein とした。カットオフ値以下であった例について筋病理標本を再評価し、標本不良や人口産物による二次的な酵素活性低下でないことを確認した例について、常葉大学・杉江秀夫先生および浜松医科大学・福田冬季子先生の協力を得て凍結筋での酵素活性測定を行う。カットオフ値は、酸性マルターゼ/中性マルターゼ活性比で 1 とした。カットオフ値以下であった例について、GAA 遺伝子解析を行い、病的変異の有無および偽欠損アレルの有無を確認する。

3) 国立精神・神経医療研究センターで筋病理学的に脂質蓄積型ミオパチーと診断された患者を対象とし、その年齢分布、診断についてレビューを行った。近年、国立精神・神経医療研究センターでは、次世代シーケンサーの臨床応用を進めており、筋疾患

の原因遺伝子変異スクリーニングを行いつつある。その結果も含めて、検討した。

C：研究結果

1) 本来、先天性代謝異常症は、小児科領域だけでなく、内科を含む各種成人科に幅広くまたがる分野であるが、本邦では、代謝異常症の研究は小児科領域でしか行われていないに近い。例えば、日本先天代謝異常症学会の役員は、理事長 1 名、理事 12 名、評議員 45 名、監事 2 名、幹事 1 名からなるが全員が小児科医または小児科出身の研究者である

(<http://jsimd.net/overview/member.html>)。このことを見ても、先天性代謝異常症の世界において、成人期患者への対策が十分ではないことが読み取れる。

先天性代謝異常症の成人患者は、小児期に診断され成人期へと移行した患者と成人期に診断が付く患者に分けられる。これまで前者のグループについては、遠藤班班会議を初めとして、成人科への移行への対応等を含めた議論が重ねられてきている。一方、後者のグループに関しては大きな問題がある。本邦の先天性代謝異常症研究者がほぼ小児科医だけで占められている現状を考えると、対策が不十分であることは想像に難くない。

特に成人期に診断される例は、小児期発症例と比較して非典型的な症状を来すことが多く、診断率が低いことはよく知られた事実である。すなわち、依然として診断が付かず、専門的な医療を受けられずにいる患者が多数存在することが示唆される。例えば、Pompe 病では臨床的には肢帯型筋ジストロフィー様の筋力低下と筋萎縮を来すものの疾患特異性の高い所見はなく、また筋組織でも乳児型や小児型で認められるライソゾーム性の特賞

的な空胞を認めないことがしばしばある。そのため多くの患者が見逃されていると考えられている。今後、このような患者を取りこぼしなく診断して行くためには、例えば、筋生検を受ける患者の酵素活性全例調査などを検討していくなど、何らかの具体的な対策が必要である。

もう一つの問題は、成人期にのみ発症する代謝性疾患が、そもそも先天性代謝異常症として認識されていないことである。例えば、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーは、*GNE* ミオパチーとも呼ばれ、シアル酸生合成経路の主要酵素である UDP-GlcNAc 2-epimerase およびその次の反応を触媒する ManNAc kinase の活性を有する蛋白質をコードする *GNE* 遺伝子の劣性変異を原因とする。本疾患においては、シアル酸合成量が減少することがミオパチーの根本的原因であり、シアル酸補充療法により少なくともモデルマウスではミオパチー発症を未然に防ぐことができることが示されている。このことは *GNE* ミオパチーが正に代謝異常症であることを示している。ところが、本疾患は発症が早くとも 10 代後半、通常は 20 代後半以降であることから、小児科医が診断を行うことはまずない。そのような事情もあり、少なくとも本邦では *GNE* ミオパチーが代謝異常症として取り上げられることはこれまでなかった。

また近年、一部の Parkinson 病患者で Gaucher 病の欠損酵素 glucocerebrosidase をコードする *GBA* 遺伝子変異が見いだされ、中年期以降に発症する Parkinson 病でもその一部は代謝異常が病態に関与する可能性が示唆されている。これらの事実は、先天性代謝異常症の枠組みがこれまでとは大きく変わりつつあることを示している。

日本先天性代謝異常症学会などの関係学会は、このような枠組みの変化に受難に対応していくことが求められるが、日本先天代謝異常症学会の役員（理事長 1 名、理事 12 名、評議員 45 名、監事 2 名、幹事 1 名）全員が小児科医または小児科出身の研究者であり

(<http://jsimd.net/overview/member.html>)、その構成からも、成人期疾患への対策が十分でないことが読み取れた。

2) 当初解析を行った 201 例中、凍結切片での活性がカットオフ値以下であったのは 11 例であった。これら 11 例について、筋病理標本を再評価したところ、そのうち 3 例は脂肪および線維組織のみの検体であり、筋線維が全く含まれていなかった。また、1 例では、強い化学的な人口差物が切片全体に認められた。従って、これら 4 例は、検体不良による二次的な酵素活性低値と判断した。残り 7 例のうち十分な検体量のあった 6 例で、凍結筋での酵素活性測定を行ったところ、4 例がカットオフ値以下であった。この 4 例に加えて、残余検体量が少なく生化学的解析を行えなかった 1 例について *GAA* 遺伝子解析を施行した。酵素活性がカットオフ値以下であった 4 例は何れも偽欠損アレルを有していた。4 例のうち 2 例はヘテロ接合型であったが、残り 2 例はホモ接合型で偽欠損アレルを有していた。ヘテロ接合型 2 例の酸性マルターゼ / 中性マルターゼ活性比は、0.6 および 0.84 であったが、ホモ接合型 2 例は、0.25 および 0.52 であった。更に興味深いことに、活性比が 0.25 と一番低かった例は、ホモ接合型の偽欠損アレルに加えて、乳児型の原因変異として知られる c.1798C>T (p.R600C) 変異をヘテロ接合型で有していた。当該例について、臨床および病理学的所見を

再検討したところ、臨床的にはLeigh脳症が疑われる例であり、Pompe病と全く異なる表現型であった。また、筋病理標本上も、タイプ2線維萎縮を認めるのみでPompe病を示唆するような空胞性病本はなく、非特異的ながらもLeigh脳症として矛盾しない所見であった。なお、検体量が少なく生化学的解析を行えなかった1例についてもGAA遺伝子解析を行ったが、病的変異も偽欠損アレルも認めなかった。

3) 1987年～2014年までに脂質蓄積性ミオパチーと診断された例は、47例であった。そのうち、小児例(30例 [64%])、成人例(17例 [36%])と小児例が多かった。また、診断不明例は小児例17例、成人例11例と成人例が多かった。主な診断確定例は、原発性カルニチン欠損症3例、多重アシルCoA脱水素酵素欠損症、ミオパチーを伴う中性脂質蓄積病およびミトコンドリア病であった。興味深いことに、小児例のうちの1例は、通常脂質蓄積を示さないVery long acyl-CoA dehydrogenase deficiency (VLCAD欠損症)の乳児例であった。

D. 考察

1) 先天性代謝異常症の分野ではこれまで小児期の患者のみが主な対象であり、成人期の問題と言え、小児科から成人科への移行を如何にスムーズに行うかということが主な論点であった。しかし、先天性代謝異常症の中には、成人期発症のものもあり、さらには、これまで先天性代謝異常症とは考えられていなかった疾患の中にも代謝異常を基盤とするものがあることが分かるようになり、先天性代謝異常症の枠組み自体が変わりつつある。このような時代の変化

に対応すべく、日本先天性代謝異常症学会を初めとする当該学会では、対象疾患拡大などの対応が求められる。また、Pompe病など、臨床病理学的に特異的な所見が乏しく、見逃されている可能性が高い成人期患者については、筋生検全例の酵素活性測定スクリーニングなど、何らかの対策を検討する必要がある。

2) Pompe病と考えられる例は1例も存在しなかった。このことは、本邦ではPompe病の頻度が低いこと、また、筋病理診断の過程で少なくとも多数のPompe病例が見逃されている実態はないことが示された。また、従来から指摘されているとおり、本邦には一定の頻度で偽欠損アレル保有者が存在する事が確認された。まだ十分な症例数とは言えないことに加えて、酵素活性がカットオフ以上の例ではゲノム解析を施行していないことから正確な議論は困難であるが、今回の201例中に2例のホモ接合型偽欠損アレル保有者が居たことは、本邦ホモ接合型偽欠損アレル保有者の頻度は、少なくとも1%以上ある可能性が高いことが示唆される。一方で、偽欠損アレルのヘテロ接合型保有者、ホモ接合型保有者で接合型に比例して酵素活性が低下する傾向が認められたこと、更には、病的変異のヘテロ接合型保因者では更にその活性が低下していた事からは、今回の酵素活性測定システムが一定の感度を有し、診断スクリーニングとして一定の信頼度があることを示している。

3) 成人症例が少数であったが、これは、代謝性筋疾患の多くが小児例である可能性に加えて、成人例の一部では筋症状がはっきりしないために筋生検を受けない例もある可能性が疑われた。小児例も成人例も依然

として多くの例で原因が同定できないことが明らかとなったが、特に成人症例では半数以上が、最終診断不明であった。脂質蓄積性ミオパチーは筋線維内の脂肪滴増加が唯一の診断基準である。一方で、肥満や糖尿病などでは筋線維内の脂肪滴が増加する可能性があることが知られている。加えて、薬剤などにより二次的に脂肪滴が増加する可能性も否定できない。このような二次的な要因による脂質代謝異常の可能性は、成人患者でより高まることは想像に難くない。このような問題に関して、診断サービスを行う施設と診断を依頼する側の個々の医療施設との間で、患者の基礎疾患や薬剤歴の情報提供・連携を充実させるシステムづくりが必要であると考えられた。今回脂質蓄積性ミオパチーの病理増を呈したVLCAD欠損症の乳児例が存在することが明らかとなった。通常、VLCAD欠損症では、筋線維内の脂肪滴増加はないか、あってもごく軽度とされている。しかし、これまでにVLCAD欠損症と診断された例は、全ての例が青年期または成人期の患者であった。恐らく、重症の乳児例では筋症状よりも代謝性疾患としての症状が前景に立つために筋生検を受けることが殆どないのであろう。このことは、重症型のVLCAD欠損症は、筋症状が前景に立たないために筋生検は受けられないものの、筋線維内には脂肪滴が増加している可能性を示唆している。

E：結論

1) 成人期発症の代謝異常症ならびに最近代謝異常症を病態の基盤とすることが明らかになった成人期疾患は代謝異常症としての十分な対策ができていない。今後当該学会での対

象疾患拡大などの対応が求められる。Pompe病を初めとする見逃されやすい成人期患者については、筋生検全例スクリーニングなどの抜本的対策の検討が必要である。

2) 凍結筋切片を用いたPompe病スクリーニングが有効に機能していることが確認された。本邦では、Pompe病の頻度は低いこと、また、筋病理診断サービスの過程で多数のPompe病患者が見逃されている訳ではないことを示している。また、従来から指摘されているとおり、一定の頻度で偽欠損アレル保有者が存在する事も確認された。更には、偽欠損アレル保有者で病的変異のヘテロ接合型保因者の場合には、更に酵素活性が低下するものの、少なくとも筋生検時点ではPompe病を発症していない事が確認された。

3) 成人発症の脂質蓄積性ミオパチーでは、遺伝的要因以外の基礎疾患等の関与を検討する必要がある。重症VLCAD欠損症で脂質蓄積性ミオパチーの病理増を呈する例がある。

F：健康危険情報

なし

G：研究発表

1：論文発表

Mori-Yoshimura M, Segawa K, Minami N, Oya Y, Komaki H, Nonaka I, Nishino I, Murata M: Cardiopulmonary dysfunction in patients with limb-girdle muscular dystrophy 2A. Muscle Nerve. [Epub ahead of print]
doi: 10.1002/mus.25369. PMID: 27500519

Miyake N, Fukai R, Ohba C, Chihara T, Miura M, Shimizu H, Kakita A, Imagawa E, Shiina M, Ogata K, Okuno-Yuguchi J, Fueki N, Ogiso Y, Suzumura H, Watabe Y, Imataka G, Leong HY, Fattal-Valevski A, Kramer U, Miyatake S, Kato M, Okamoto N, Sato Y, Mitsuhashi S, Nishino I, Kaneko N, Nishiyama A, Tamura T, Mizuguchi T, Nakashima M, Tanaka F, Saitsu H, Matsumoto N: Biallelic TBCD Mutations Cause Early-Onset Neurodegenerative Encephalopathy. *Am J Hum Genet.* 99(4): 950-961, Oct, 2016
doi: 10.1016/j.ajhg.2016.08.005. PMID: 27666374

Preethish-Kumar V, Pogoryelova O, Polavarapu K, Gayathri N, Seena V, Hudson J, Nishino I, Prasad C, Lochmuller H, Nalini A: Beevor's sign: a potential clinical marker for GNE myopathy. *Eur J Neurol.* 23(8): e46-8, Aug, 2016
doi: 10.1111/ene.13041. PMID: 27431025

Hatakeyama H, Katayama A, Komaki H, Nishino I, Goto YI: Molecular pathomechanisms and cell-type-specific disease phenotypes of MELAS caused by mutant mitochondrial tRNA (Trp). *Acta Neuropathol Commun.* 3(1): 52, Aug, 2015

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.* 37(7): 719-724, Aug 2015

Furuta A, Kikuchi H, Fujita H, Yamada D, Fujiwara Y, Kabuta T, Nishino I, Wada K, Uchiyama Y: Property of Lysosomal Storage Disease Associated with Midbrain Pathology in the Central Nervous System of *Lamp-2* - Deficient Mice. *Am J Pathol.* 185(6): 1713-1723, Jun, 2015

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