

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）

総括・分担研究報告書

ミトコンドリア病に関する調査研究

研究代表者 後藤 雄一 国立精神・神経医療研究センター神経研究所

**研究要旨** ミトコンドリア病の症状は多臓器に及び、心疾患、眼疾患、代謝性疾患としても重要な病気である。本研究班ではミトコンドリア病の正確な診断とそれに基づく適切な治療をめざして、グローバルな観点から診断基準・重症度スケールの策定、診療ガイドラインの策定、患者レジストリー構築を実施した。アウトリーチ活動については、患者会勉強会等に協力した。患者レジストリーについては、個人情報保護法に関連した倫理ガイドライン改正に沿う変更を行うとともに、関連学会やグローバルなミトコンドリア病活動グループとの連携などをめざして本格活動の準備を行った。診療ガイドラインの作成は、実用化研究班（村山班）と連携して行い、MINDS 型の診療ガイドライン策定に向け、平成 28 年 12 月に刊行した「診療マニュアル」の内容改訂を開始した。

研究分担者

- (1) 小坂 仁 自治医科大学小児科
- (2) 大竹 明 埼玉医科大学小児科
- (3) 北風政史 国立循環器病研究センター病院・研究開発基盤センター
- (4) 古賀靖敏 久留米大学医学部小児科
- (5) 小牧宏文 国立精神・神経医療研究センター
- (6) 佐野 輝 鹿児島大学学術研究院医歯学系精神機能病学
- (7) 末岡 浩 慶應義塾大学医学部産婦人科
- (8) 田中雅嗣 東京都健康長寿医療センター
- (9) 三牧正和 帝京大学医学部小児科
- (10) 山嵜達也 東京大学医学部耳鼻咽喉科
- (11) 米田 誠 福井県立大学看護福祉学部

研究協力者

- (1) 太田成男 日本医科大学大学院医学研究科
- (2) 岡崎康司 埼玉医科大学・ゲム医学研究センター
- (3) 木村 円 国立精神・神経医療研究センター
- (4) 杉本立夏 国立精神・神経医療研究センター
- (5) 砂田芳秀 川崎医科大学神経内科
- (6) 須藤 章 榎の会こどもクリニック
- (7) 竹下絵里 国立精神・神経医療研究センター
- (8) 中野和俊 東京女子医科大学病院小児科
- (9) 西野一三 国立精神・神経医療研究センター

- (10) 中川正法 京都府立医科大学附属北部医療センター
- (11) 中村 誠 神戸大学大学院医学系研究科外科系講座眼科学
- (12) 萩野谷和裕 拓桃医療療育センター
- (13) 松村達雄 国立病院機構東京医療センター
- (14) 村山 圭 千葉県こども病院代謝科

A. 目的

ミトコンドリアはすべての細胞内において、エネルギーを産生する小器官である。ミトコンドリアに異常があると、大量のエネルギーを必要とする神経・筋、循環器、代謝系、腎泌尿器系、血液系、視覚系、内分泌系、消化器系などに障害が起こる。なかでも、中枢神経や骨格筋の症状を主体とするミトコンドリア病が代表的な病型である。

国内においてミトコンドリア病の患者数の厳密な実態調査は行われていない。その理由は患者が多くの診療科に分散していること、診断基準が明確ではなかったことなどが挙げられる。そのもっとも大きな要因は確定診断に必要な病理、生化学、遺伝子検査の専門性が高いことにある。平成 27 年 1 月にミトコンドリア病が指定難病に認定され認定基準を制定したが、平成 26 年 10 月に策定した「診断基

準」はミトコンドリア病を包括的にとらえる事を目指したために、やや複雑な基準となっており、より適切な診断基準への改訂を不断に継続しており、比較的大きな改訂がある場合に難病対策課に変更申請を行うこととしている。

また英国では、ミトコンドリア病の一部の病型で、核移植を用いた生殖補助医療の適用が本格的に試みられ (Nature 465: 82-85, 2010)、少数ながら症例報告がなされている。そのようなグローバルな研究や医療の流れに遅れをとらないような本邦での調査研究が不可欠である。

本研究班では、ミトコンドリア病の検査手段 (病理検査、生化学検査、DNA 検査) の標準化と集約的診断体制の確立、本疾患に関する情報提供手段の整備等を行い、臨床病型、重症度、合併症、主な治療の内容などの標準化をめざす。特に、患者レジストリーを進め、具体的な治療に関する臨床研究や治験を進めるコーディネーター役を担うこと、また主に小児のミトコンドリア病を対象としている AMED 難治性疾患実用化研究事業の村山班と連携して診療ガイドラインを作成するとともに、市民公開講座や難病情報センター等を活用し、広報活動を行うことを目的とする。

## B. 方法

### 1) 診断フローチャートの作成と検査標準化

ミトコンドリア病の診断に必要な3種類の検査法 (病理検査、生化学検査、遺伝子検査) の標準化と集約的な診断体制の構築を継続する。特に次世代シーケンスを中核とする遺伝子検査の重要性が一段と増しており、臨床検査としての遺伝子検査実施体制の構築が行われる中に、ミトコンドリア病の遺伝子検査を位置づける。

#### ① 遺伝子検査の実施と標準化

AMED 難治性疾患実用化研究事業の村山班と協力して、国立精神・神経医療研究センター、埼玉医科大学などを中心として、mtDNA 検査と核 DNA 上の原因遺伝子について、医療の中にもどのように組み込むかを明確にする。また、先端的遺伝子検

査 (出生前診断) や適切な遺伝カウンセリングの提供体制を整備する。<後藤、大竹、田中、末岡、杉本>

#### ② 病理検査の実施

ミトコンドリア異常を病理学的に捉えることは現在でも依然として診断に重要であり、国立精神・神経医療研究センターを中心に検査実施と標準化を行う。骨格筋以外の罹患臓器 (心、肝など) の病理所見についても検討する。<後藤、西野>

#### ③ 生化学検査の標準化

ミトコンドリア代謝系の異常を捉える生化学検査も確定診断に必要であり、特に小児期早期に発症する重症な代謝疾患を適切な診断できる体制を、国立精神・神経医療研究センター、埼玉医科大学等で拠点化して検査を実施し、標準化を行う。<後藤、大竹、村山>

### 2) 認定基準の改定、重症度スケール、グローバルな診断基準作成に参加

新たな難病政策における指定難病として、診断基準と重症度分類の改正作業を継続する。欧米で進んでいる新たな診断基準や評価尺度の作成の動きに応じて、わが国の代表として参加する。これは、患者レジストリーにおける情報項目の共通化、将来の国際共同治験を推進するための基盤整備として行う。

<後藤、古賀、大竹、小牧>

### 3) 診療ガイドラインの作成

ミトコンドリア病では、多くの臨床病型が知られている。ミトコンドリア病に比較的好く合併する臓器症状を診ている関連診療科 (循環器科: 北風、耳鼻科: 山唄、精神神経科: 佐野、など) の専門医も参加し、AMED 難治性疾患実用化研究事業の村山班と協力して、診療ガイドラインを作成をめざす。<全員>

### 4) ミトコンドリア病に詳しい医師のネットワークと情報提供体制の整備とアウトリーチ活動

患者・家族や本疾患を診ている医療従事者に対して、本疾患の医療情報をホームページ等で

提供する。また保健所等でのセミナーも積極的に行う。〈小牧、三牧〉

#### 5) 実態調査を兼ねた患者レジストリーの構築

全国の主要な総合病院に対して、小児科、神経内科ばかりでなく、耳鼻咽喉科、眼科、精神科、循環器内科、腎臓内科、糖尿病内科などにも、調査用紙を配布する実態調査を行う。AMED 難治性疾患実用化研究事業の村山班と連携して、日本におけるミトコンドリア病患者レジストリーを構築する。〈小牧、大竹、三牧〉

#### 6) 生殖補助医療の情報収集と見解のまとめ

ミトコンドリア病、特にミトコンドリア DNA 変異で発症するリー脳症においては、出生前診断や受精卵診断が欧米では行われている。日本においても、受精卵診断が慶應大学病院で2例行われている。しかし、受精卵診断では得られない発症リスクの低い受精卵を得るために「核移植治療」が検討されており、2015年2月に英議会は、その臨床応用を認める判断を行った。この技術の有用性や倫理的問題について、本研究班で検討する。〈末岡、後藤〉

### C. 結果と考察

#### 1) 診断フローチャートの作成と検査標準化

ミトコンドリア病の確定診断には、病理検査、生化学検査、遺伝子検査を行い、総合的な評価が必要である。

##### ① 病理検査

骨格筋の病理検査は国立精神・神経医療研究センター（以下 NCNP）が中心となって実施した。

##### ② 生化学検査

検体は線維芽細胞もしくは各臓器を用いている。NCNP と埼玉医科大学（千葉こども病院）で行われている。NCNP は神経症状を主体とする小児・成人例を、埼玉医科大学では主に代謝異常症状を中心とする乳児、小児例を中心に生化学検査を行った。〈後藤、大竹、村山〉

##### ③ 遺伝子検査

（拠点形成、検査会社の関与、集約化について）

本疾患は、ミトコンドリア DNA 変異の場合は遺伝型と表現型が一对一に対応しない、核 DNA 上に 200 以上の原因遺伝子が報告されている、という特徴が

あるため、可能であれば解析可能な施設に集約すべきである。

ミトコンドリア DNA の全周シーケンスを行える施設として NCNP などのいくつかの施設、検査会社があるが、検査依頼に際しての基準、検査体制の整備、啓発が必要である。NCNP では、次世代シーケンサーを用いたミトコンドリア DNA 検査を確立した。具体的には、ミトコンドリア DNA 全体を 1 セットのプライマーで増幅させ、核 DNA 上のミトコンドリア DNA 類似配列を除外した後に、MiSeq を用いてカバーレージを 1500~3000 程度までにあげること、点変異の位置と種類、変異率が容易に計測できる。また、ミトコンドリア DNA の欠失は比較的頻度の高い変異であるが、その断点同定に時間がかかる作業であったが、MiSeq を用いた方法で断点周辺が簡単に見いだせることになった。

研究分担者の大竹らは、埼玉医科大学を中心に、千葉こども病院、自治医科大学、東京都健康長寿医療センターと協力して、特に乳児期発症の重症ミトコンドリア病に関して、酵素診断から網羅的な遺伝子検査にいたる系統的病因検索システムを構築して、実施した。〈大竹〉

#### 2) 診断基準、重症度スケールについて

平成 27 年 1 月の指定難病の認定に際して、新たな認定基準を作成した（平成 26 年 10 月）。本研究班の分担研究者の多くは、自らの患者における申請作業や各都道府県における認定作業に携わっており、概ね妥当なものとして認識しているが、ミトコンドリア心筋症や肝症などの特異的な病型に対する診断基準の追加等を踏まえて、診断基準の改定を不断に検討している。

一方で、乳児期、小児期に発症するミトコンドリア病は重症例が多く、「代謝病」としての性格が前面にでる傾向がある。そのため、小児慢性特定疾患の認定基準は、代謝病として分類を中心とする認定方式をとっている。したがって、指定難病と小児慢性特定疾患の摺り合わせをどのようにするかが依然として問題になっている。さらに、本年度は、平

成 29 年 4 月に追加してされた指定難病の中に、ミトコンドリア内酵素異常症が含まれており、その整合性について検討を行った。

さらに、本診断基準はできるだけ多くの患者を網羅できるようにと意図して作成しており、いわば「包括的診断基準」となっている。しかしながら、新薬等の臨床試験等を考慮した場合には、個別の病型毎に明確な診断基準を設定しておくことが望ましいという考え方もある。そこで、AMED 難治性疾患実用化研究班（村山班）と共同で、個々の病型の診断基準の作成に着手し、まずは MELAS と Leigh 脳症について確定させた。

### 3) 診療ガイドラインの作成

実用化研究班（村山班）と協力して、診療ガイドライン作成を行う予定であった。ミトコンドリア病は診断基準が確定されていないこともあって、エビデンスとして採用できる研究成果が少ない。したがって、Minds 方式のガイドライン作成は極めて困難な状況であり、「診療マニュアル」として平成 28 年 12 月に刊行した。しかし、平成 29 年度から新たな 3 年間の研究班が立ち上がったために、最終年度での Minds 方式のガイドライン策定に向けた活動を開始した。

### 4) ミトコンドリア病に詳しい医師のネットワークと情報提供体制の整備とアウトリーチ活動

患者会主催の勉強会でセミナーを行った（平成 29 年 7 月 82 日：東京、平成 30 年 3 月 25 日：大阪）。

「ミトコンドリア病に詳しい医師のネットワーク」を構築する計画については、当初予定していた全国を 7 つの地域に分け、それぞれの地域毎にミトコンドリア病をよく知る小児科、神経内科の専門医が担当し、医療情報の提供や実態調査の援助をする計画があった。平成 30 年度から始まる「難病医療支援ネットワーク」の構想を踏まえた対応策を検討した。

### 5) 実態調査を兼ねた患者レジストリーの構築

実態調査については、平成 25 年度にミトコンド

リア病の一病型である MELAS に関して、「ミトコンドリア脳筋症 MELAS の脳卒中用発作に対するタウリン療法の開発」研究班（研究代表者：砂田芳秀、川崎医科大学）で行った、日本小児神経学会及び日本神経学の会員に対するアンケート調査に協力した。しかし、他の臨床病型を含め、ミトコンドリア病全体の状況がつかめていないため、平成 27 年 1 月に制定された新たな診断基準に基づく実態調査を行う計画であったが、患者レジストリー構築に手間取り、それに合わせて行う予定の実態調査は来年度にずれ込むことになった。

一方、「難治性疾患の継続的な疫学データの収集・解析に関する研究班（中村好一研究代表者）」との連携を行うこととし、平成 30 年度から産業医科大学の松田晋哉教授、藤野善久教授に分担研究者として加わっていただき、DPC データを活用した全国の医療機関におけるミトコンドリア病の診断数やその経緯、投与されている薬剤等の調査を行うことで、ミトコンドリア病の医療の実態を把握する研究を開始することとなった。

患者レジストリーについては、AMED 難治性疾患実用化研究班（村山班）と連携して行うこととし、村山班では主に先天代謝異常症として小児（成人）患者レジストリーを、国立精神・神経医療研究センターでは、神経症状を中心とする成人（小児）患者レジストリーを行うこととした。

国立精神・神経医療研究センターにおけるミトコンドリア病患者レジストリーは、トランスレーショナル・メディカルセンターが実施している筋ジストロフィーの登録事業（Remudy）を敷衍する形態で作業を進めているが、費用等の面、新たな個人情報保護法施行に伴う倫理ガイドライン変更への対応、欧米での患者レジストリー事業との連携待ちの状況があり、平成 29 年度も実質的な進展は見えない。

一方、病気の原因や病態解析を進めて、新たな治療法、予防法を開発するには、患者の詳細な情報と患者由来の試料が不可欠である。こちらのレジストリーはバイオリソースとの連携で進めて行く必要があり、この点は欧米との連携を目指し、RD コネ

クトなどの活動を注視している。

#### 6) 生殖補助医療の情報収集と見解のまとめ

平成28年10月に、米国ニューヨークの不妊クリニックが、「核移植治療」で8993変異をもち、リー脳症の母から健常な子が産まれたと発表した。この方法では、父と母(核ゲノム)に加えて別の女性(ミトコンドリアゲノム)が関わっており、「3人の親」がいる子となる。英国内でも、英国外でも倫理的問題があると議論されてきており、米国では禁止された行為であった。しかし、今回の米国にあるクリニックでは、この行為のほとんどをメキシコで行う事で法をすり抜けていた。その後、ウクライナでも同様な方法で児が誕生している。

日本においては、核移植を行う技術は十分備わっていることから、実際に行うクリニック等が出現しないか懸念がある。したがって、日本においては、臨床研究として情報公開をしながら施行することを認めることが必要ではないか、という意見が班会議において大勢を占めた。

これら海外における情勢を見ながら、日本における同法の適応を検討する段階で止まっている。

#### D. 結論

本研究班の活動はAMED 難治性疾患実用化研究班(村山班)と連携しながら進め、「診療マニュアル」を刊行した。全国レベルの診断体制の整備、診断基準や重症度スケールの改定作業を進めた。アウトリーチ活動として、市民公開講座や患者会勉強会での講演を行い、生殖補助医療の情報収集と日本での実現可能性について議論した。患者レジストリーは、種々の要因で進んでいないが、グローバルな視点でバイオバンクとの連動を図りながら、着実に進めてゆく必要がある。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

##### 著書、総説

後藤雄一:ミトコンドリア脳筋症. 1336 専門家による私の治療 2017-2018 年版 (監修:猿田亨男、北村惣一郎), 日本医事新報社, 東京, pp. 614-615, 2017

後藤雄一:ミトコンドリア病の病因研究の現状, 特集ミトコンドリア研究UPDATE, 別冊・医学のあゆみ pp. 63-66, 2017

後藤雄一:ミトコンドリア病に対する医療体制の現状と課題. 特集ミトコンドリア研究 UPDATE, 別冊・医学のあゆみ pp. 123-127, 2017

三牧正和: 先天代謝異常症 (ミトコンドリア病). 小児科診療増刊号 小児科ケースカンファレンス. 診断と治療社, 東京, pp. 76-79, 2017

三牧正和:先天代謝異常と発達障害. 最新医学別冊 診断と治療のABC 130 発達障害. 最新医学社, 東京, pp. 139-146, 2018

三牧正和: 小児神経科医が知っておくべきミトコンドリア病の多様性 脳と発達 50 巻, pp.7-16, 2018

井川正道, 岡沢秀彦, 米田誠: 神経変異性疾患の酸化ストレスイメージング, pp. 87-93 (Annual Review 神経2017, 中外医学社, 東京) 2017

米田誠, 井川正道, 岡沢秀彦: 脳酸化ストレス PET イメージング, pp. 76-77 (脳内環境辞典, メディカルビュー社, 大阪) 2017

井川正道, 米田誠: ミトコンドリア代謝・酸化ストレスの分子イメージング. 医学のあゆみ 260, pp. 67-72, 2017

井川正道, 米田誠: ミトコンドリア病, 特集: 内科診療に潜む脳炎・脳症. 日本内科学会雑誌 106, pp. 1584-1590, 2017

## 原著論文

Kageyama Y, Kasahara T, Kato M, Sakai S, Deguchi Y, Tani M, Kurida K, Hattori K, Yoshida S, Goto Y, Kinoshita T, Inoue K, Kato T. The relationship between circulating mitochondrial DNA and inflammatory cytokines in patients with major depression. *J Affect Disord* 233: 15–20, 2018

Mizuguchi Y, Hatakeyama H, Sueoka K, Tanaka M, Goto Y. Low dosage of resveratrol ameliorates mitochondrial respiratory dysfunction and enhances cellular reprogramming. *Mitochondrion* 34(5): 43–48, 2017

Matsushashi T, Sato T, Kanno SI, Suzuki T, Matsuo A, Oba Y, Kikusato M, Ogasawara E, Kudo T, Suzuki K, Ohara O, Shimbo H, Nanto F, Yamaguchi H, Saigusa D, Mukaiyama Y, Watabe A, Kikuchi K, Shima H, Mishima E, Akiyama Y, Oikawa Y, Hsin-Jung HO, Akiyama Y, Suzuki C, Uematsu M, Ogata M, Kumagai N, Toyomizu M, Hozawa A, Mano N, Owada Y, Aiba S, Yanagisawa T, Tomioka Y, Kure S, Ito S, Nakada K, Hayashi KI, Osaka H, Abe T. (2017). Mitochondrial Acid 5 (MA-5) Facilitates ATP Synthase Oligomerization and Cell Survival in Various Mitochondrial Diseases. *EBioMedicine* 20, 27–38.

Kouga T, Takagi M, Miyauchi A, Shimbo H, Iai M, Yamashita S, Murayama K, Klein MB, Miller G, Goto T, Osaka H. (2018). Japanese Leigh syndrome case treated with EPI-743. *Brain Dev* 40, 145–149.

Neishi H, Ikawa M, Okazawa H, Tsujikawa T, Arishima H, Kikuta K, Yoneda M. Precise evaluation of striatal oxidative stress corrected for severity of dopaminergic neuronal degeneration in patients with Parkinson's disease: A study with  $^{62}\text{Cu}$ -ATSM PET and  $^{123}\text{I}$ -FP-CIT SPECT. *Eur Neurol* 78: 161–168, 2017

## 2. 学会発表

### 国際学会

Ikawa M, Okazawa H, Tsujikawa T, Nakamoto Y, Yoneda M. PET neuroimaging for oxidative stress based on mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. World Congress of Neurology, Kyoto, Japan, 9.16–21, 2017

Yoneda M, Ikawa M, Tsujikawa T, Kimura H, Okazawa H. Molecular brain imaging evaluates the pathophysiology of stroke-like episodes in MELAS. World Congress of Neurology, Kyoto, Japan, 9.16–21, 2017

### 国内学会

杉本立夏, 竹下絵里, 村山久美子, 南成祐, 佐藤卓, 末岡浩, 山下進太郎, 後藤雄一: ミトコンドリア DNA 変異による Leigh 脳症の出生前診断に関する相談. 第 41 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 東大阪, 6.24, 2017

笠毛溪, 中村雅之, 大毛葉子, 梅原ひろみ, 佐野輝: mtDNA 多重欠失を伴うミトコンドリア病の遺伝子解析. 第 39 回日本生物学的精神医学会, 北海道, 9.28–9.30, 2017

眞木順子, 末岡 浩, 佐藤 卓, 佐藤健二, 水口雄貴, 仙波宏史, 田中 守: m. T8993G 変異で発症するミトコンドリア病における変異ミトコンドリア DNA の skewed segregation と着床前診断の実施可能性.

第 35 回日本受精着床学会学術講演会, 鳥取, 7. 20, 2017

眞木順子、末岡 浩、佐藤 卓、佐藤健二、水口雄貴、仙波宏史、田中 守: 卵子変異ミトコンドリア DNA の skewed segregation 現象を着床前診断で解明する. 日本人類遺伝学会第 62 回大会, 兵庫, 11. 16, 2017

水口雄貴、末岡 浩、眞木順子、佐藤 卓、佐藤健二、田中 守: ミトコンドリア病の着床前遺伝子診断 (PGD) における移植可能胚の安全域を考える. 日本人類遺伝学会第 62 回大会, 兵庫, 11. 16, 2017

眞木順子、末岡 浩、佐藤 卓、佐藤健二、水口雄貴、仙波宏史、田中 守: 着床前遺伝子診断技術が示唆する卵子形成過程における変異ミトコンドリア DNA の skewed segregation 現象. 第 62 回日本生殖医学会学術講演会, 山口, 11. 16, 2017

三牧正和: Leigh 症候群の多様性. 第 59 回日本先天代謝異常学会シンポジウム, 川越, 10. 1, 2017

三牧正和: 小児科医が知っておくべきミトコンドリア病の基礎と臨床. 第 144 回日本小児科学会静岡地方会特別講演, 静岡, 11.13, 2017

井川正道, 岡沢秀彦, 辻川哲也, 清野智恵子, 前田浩幸, 川谷正男, 畑郁江, 木村浩彦, 米田誠. 分子イメージングによる MELAS 脳卒中様発作の病態解明. 第 62 回日本人類遺伝学会, 神戸, 11. 15-18, 2017

米田誠. オーバービュー, ミトコンドリア病, 第 17 回日本ミトコンドリア学会年会. 京都, 11. 22-23, 2017

#### その他

後藤雄一: ミトコンドリア病をとりまく医療と治

療研究の現況, ミトコンドリア病患者家族の会 2017 年東京勉強会, 東京, 7. 5, 2017

#### G. 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