

DATA REPORT

Open Access

A novel compound heterozygous variant of *ECHS1* identified in a Japanese patient with Leigh syndrome

Shumpei Uchino^{1,2,3}, Aritoshi Iida⁴, Atsushi Sato³, Keiko Ishikawa⁴, Masakazu Mimaki², Ichizo Nishino^{4,5} and Yu-ichi Goto^{1,4}

Abstract

Leigh syndrome (LS) is a heterogeneous neurodegenerative disorder caused by mitochondrial dysfunction. Certain LS cases have mutations in *ECHS1*, which encodes a short-chain enoyl-CoA hydratase involved in the metabolism of fatty acids and branched-chain amino acids in mitochondria. Using exome sequencing, we diagnosed a Japanese patient with LS and identified the patient as a compound heterozygote for a novel variant of *ECHS1*, consisting of NM_004092.4:c.23T>C (p.Leu8Pro) and NM_004092.4:c.176A>G (p.Asn59Ser).

Leigh syndrome (LS; MIM #256000), the most common phenotype of pediatric mitochondrial disease, is characterized by symmetrical central nervous system lesions, especially in the basal ganglia and brainstem, and increased lactate in the blood and cerebrospinal fluid. Patients present with progressive neurological symptoms, including psychomotor developmental delay or regression, hypotonia, and involuntary movements. LS is caused by mutations in either mitochondrial or nuclear genes. To date, more than 75 causative genes have been reported¹.

ECHS1 on chromosome 10q26.3 encodes a short-chain enoyl-coenzyme A hydratase that localizes in the mitochondrial matrix and catalyzes the hydration of enoyl-CoA in many metabolic pathways, including short-chain fatty acid β -oxidation and branched-chain amino acid catabolism. Recently, *ECHS1* has been reported as a novel causative gene for LS^{2,3}. To date, a total of 33 mutations associated with LS have been reported (HGMD

Professional 2018.3). Dysfunction of *ECHS1* protein is suspected to cause brain pathology through the accumulation of toxic metabolites and the impairment of energy production.

In this paper, we report a Japanese patient with LS who is a compound heterozygote for the novel *ECHS1* variant: c.23T>C (p.Leu8Pro) and c.176A>G (p.Asn59Ser).

The patient is a female with nonconsanguineous Japanese parents. She was born at 40 weeks of gestation by normal vaginal delivery after an uneventful pregnancy, and her birth measurements were normal. An auditory screening test at 1 month revealed severe hearing impairment. The patient also showed poor response to visual stimuli. Her early motor development was normal, and she could control her head at 3 months and roll over at 6 months. At 10 months, however, she became hypotonic and less responsive to light and sound. She was referred to pediatric neurologists at the age of 1 year on account of developmental regression. On physical examination, she showed muscle hypotonia and involuntary movements such as dystonia and choreoathetosis, along with almost complete unresponsiveness to visual and auditory stimuli. The lactate levels in the patient's blood and cerebrospinal fluid were elevated to 53.9 mg/dL (reference range: 4.0–19.2) and 53.9 mg/dL (reference

Correspondence: Yu-ichi Goto (goto@ncnp.go.jp)

¹Department of Mental Retardation and Birth Defect Research, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP), Tokyo, Japan

²Department of Pediatrics, Teikyo University School of Medicine, Tokyo, Japan
Full list of author information is available at the end of the article.

© The Author(s) 2019



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

range: 4.0–19.2), respectively. Metabolic screening, including plasma amino acid analysis, showed no abnormal findings. Brain magnetic resonance imaging showed bilateral T2 hyperintensity in the caudate nucleus, putamen, globus pallidus, and substantia nigra (Fig. 1a, b). Ophthalmological examination revealed optic nerve atrophy. The auditory brainstem response showed bilateral sensorineural deafness. The patient was diagnosed with LS. Treatments including thiamine and coenzyme Q10 were administered, but were found to be ineffective. Subsequently, the patient's hypotonia and involuntary movements intensified, and she also developed epilepsy. A gastrostomy was performed due to dysphagia and gastroesophageal reflux. A skeletal muscle biopsy performed at 2 years showed no pathological findings suggesting mitochondrial diseases. At 11 years of age, the patient had severe psychomotor developmental delay, no head control and no eye contact, and her refractory involuntary movements persisted. She needed noninvasive positive-pressure ventilation for central and obstructive apnea. The clinical information and materials from the patient were obtained for diagnostic purposes with written informed consent. All materials and experiments in this study were approved by the Ethical Committee of the National Center of Neurology and Psychiatry.

To diagnose this patient at the molecular level, we first screened for pathogenic variants in mitochondrial DNA with a MiSeq sequencer (Illumina, USA), but no pathogenic variant was found. We then conducted exome sequencing to identify variants in the nuclear genes. Genomic DNA was extracted from the patient's blood by standard methods. The DNA was processed with SureSelect XT Human All Exon V6 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Captured DNA was sequenced using a HiSeq 4000 (Illumina, San Diego, CA, USA) with 150 bp paired-end reads. The reads were mapped to the human reference genome (GRCh37/hg19) by Burrows–Wheeler Aligner (BWA) 0.7.5a-r405. Duplicate reads were removed with Picard 1.99. Variants were identified with the Genome Analysis Toolkit (GATK) v3.2 based on the GATK Best Practice Workflow and annotated with ANNOVAR (2017Jul16).

Two variants of *ECHS1*, namely, NM_004092.4:c.23T>C (p.Leu8Pro) and NM_004092.4:c.176A>G (p.Asn59Ser), were identified and confirmed by Sanger sequencing. As no samples from the patient's parents were available, we synthesized *ECHS1* cDNA from mRNA extracted from the patient's muscle biopsy sample and then cloned and sequenced it. The patient's haplotype phase was confirmed (Fig. 1c).

c.176A>G (p.Asn59Ser) is a known variant associated with LS (HGMD, Professional 2018.3). c.23 T>C (p.Leu8Pro) has also been deposited in dbSNP (Build 150) as number rs775833766, but no association has been

reported between this variant and LS. Hence, this is the first report identifying c.23T>C (p.Leu8Pro) as a novel variant associated with LS.

c.23T>C (p.Leu8Pro) was also not described in any other databases, including the ESP6500, 1000 Genomes, Exome Aggregation Consortium, Human Genetic Variation, and ClinVar databases (as of the beginning of May 2018). SIFT and PolyPhen-2 predicted the variant to be “damaging” with a score of 0.02 and “probably damaging” with a score of 0.97, respectively. In addition, the mutated leucine was conserved in mouse, rat, cow, and opossum (Fig. 1d).

To confirm the pathogenicity of these variants, we performed SDS-PAGE and immunoblotting with antibodies against *ECHS1* (Sigma-Aldrich; SAB2100643) using the mitochondrial fraction isolated from patient-derived myoblasts. Anti-SDHA antibodies (Invitrogen; 459200) were used as a loading control for mitochondria. The *ECHS1* protein was undetectable in the patient, whereas the expression level of SDHA was normal (Fig. 1e). Next, we measured the enzyme activity of enoyl-CoA hydratase in the mitochondrial fraction from patient myoblasts as previously described⁴. Each sample was measured in triplicate and normalized to citrate synthase activity. Enoyl-CoA hydratase activity was markedly decreased in the patient (to 8% of the level observed in controls; Fig. 1f).

Here, we report a patient with a compound heterozygous variant of *ECHS1*. Almost all reported cases of *ECHS1* deficiency show LS, with or without cardiomyopathy⁵. This patient's clinical course was also compatible with typical LS.

This patient had a compound heterozygous variant of *ECHS1*, consisting of c.23T>C (p.Leu8Pro) and c.176A>G (p.Asn59Ser). c.23T>C (p.Leu8Pro) affected mitochondrial transit peptide (amino acids 1–27) in exon 1 and was therefore predicted to impair protein transport into mitochondria. c.176A>G (p.Asn59Ser) in exon 2 has been reported in six cases of *ECHS1* deficiency, all of them Japanese^{5–7}, which implies that this variant may be common in the Japanese population. Moreover, the variant was located in the catalytic domain (amino acids 30–289). In fact, our functional analysis revealed that both the amount of *ECHS1* protein and its level of enzymatic activity were substantially decreased in the mitochondria of the patient's myoblasts, supporting the pathogenicity of these variants. Because *ECHS1* protein was undetectable in mitochondria, we suspected that the patient's pathology was a consequence of impaired protein transport and/or degradation of mutant proteins.

As is often the case with LS and other mitochondrial diseases, treatment was ineffective, and the patient's symptoms were progressive. In *ECHS1* deficiency, however, it is speculated that some dietary treatments, such as

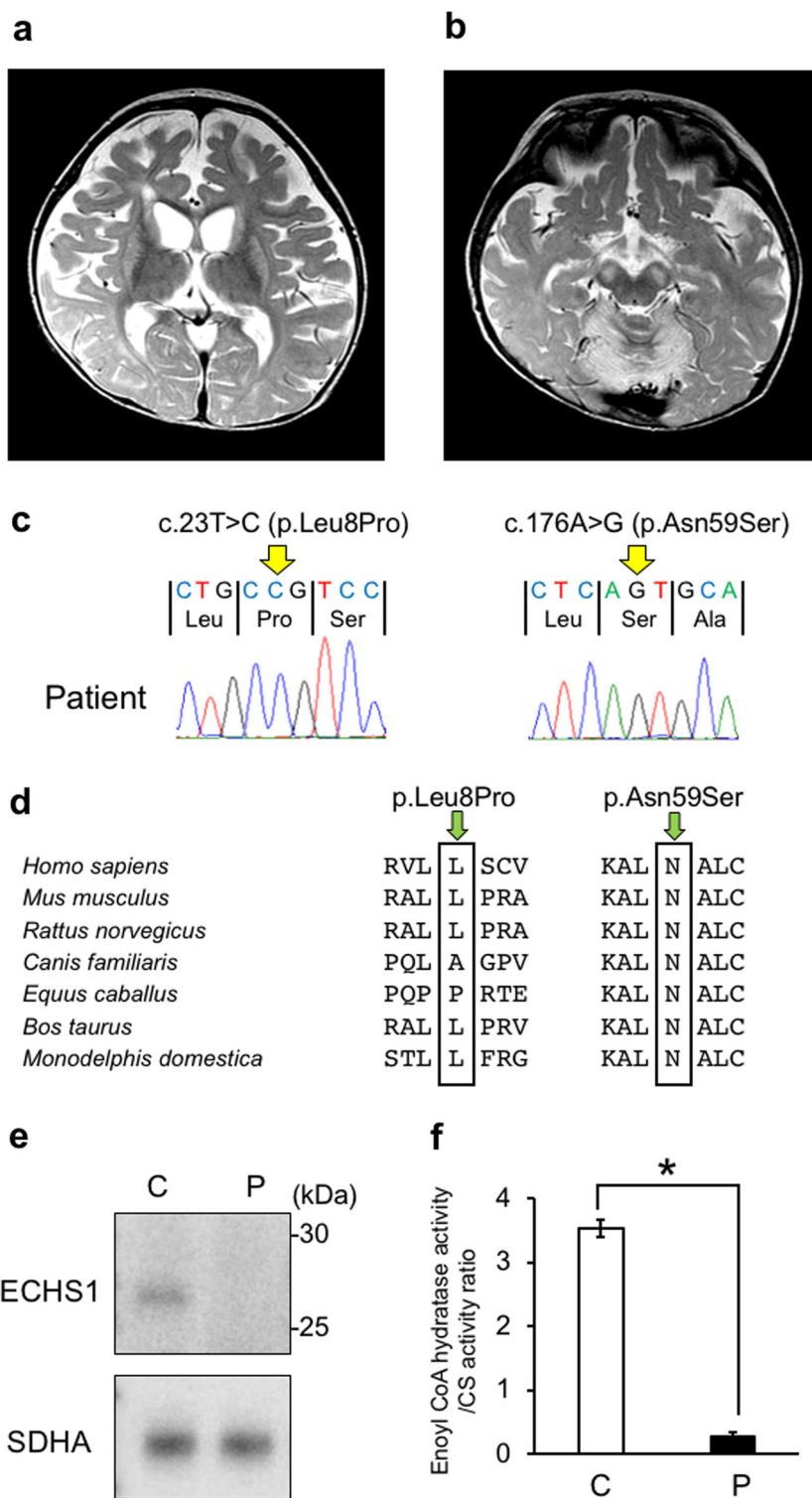


Fig. 1 MRI findings and genetic analysis. **a, b** T2-weighted brain magnetic resonance imaging at 1 year of age showing bilateral hyperintensity of the caudate nucleus, putamen, globus pallidus (**a**) and substantia nigra (**b**). **c** A compound heterozygous mutation in *ECHS1* in the patient. cDNA clones synthesized from the patient's mRNA were sequenced. **d** The amino acid sequences of *ECHS1* protein in various vertebrates. The leucine at position 8 and the asparagine at position 59 are highly conserved across species. **e** Immunoblotting analysis revealed that *ECHS1* protein is not detected in the mitochondrial fraction of the patient's myoblasts. **f** Enzyme activity of enoyl-CoA hydratase in the mitochondrial fraction of myoblasts is markedly decreased in the patient. Activity levels are expressed as ratios with respect to citrate synthase activity. Error bars indicate standard deviations. * $P < 0.01$, Student's *t*-test. C, control; P, patient

valine restriction, may decrease the production of toxic metabolites and mitigate disease⁵. For diseases that might be treatable, it is important to diagnose them as early as possible by genetic screening, including whole exome sequencing.

HGV database

The relevant data from this Data Report are hosted at the Human Genome Variation Database at <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.hgv.2558> and <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.hgv.2561>.

Acknowledgments

We are very grateful to the patient who participated in this study. This study was supported partly by the Intramural Research Grant for Neurological and Psychiatric Disorders of NCNP under Grant Numbers 30–9 (A.I.), 30–7 (Y.G.), and 29–4 (I.N.); by AMED under Grant Numbers JP17kk0205012h0002 (Y.G.), JP18kk0205012s0303 (Y.G.), JP18ek0109285h0002 (I.N., A.I., Y.G.), 18ek0109273 (M.M.), and JP18kk0205001s0203 (I.N.); and by KAKENHI Grant No. 16K09999 from the Japan Society for the Promotion of Science (M.M.).

Author details

¹Department of Mental Retardation and Birth Defect Research, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP), Tokyo, Japan. ²Department of Pediatrics, Teikyo University School of Medicine, Tokyo, Japan. ³Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan. ⁴Medical Genome Center, NCNP, Tokyo, Japan. ⁵Department of Neuromuscular Research, National Institute of Neuroscience, NCNP, Tokyo, Japan

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Publisher's note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Received: 21 January 2019 Revised: 12 March 2019 Accepted: 12 March 2019

Published online: 19 April 2019

References

1. Lake, N. J., Compton, A. G., Rahman, S. & Thorburn, D. R. Leigh syndrome: one disorder, more than 75 monogenic causes. *Ann. Neurol.* **79**, 190–203 (2016).
2. Peters, H. et al. ECHS1 mutations in Leigh disease: a new inborn error of metabolism affecting valine metabolism. *Brain* **137**, 2903–2908 (2014).
3. Sakai, C. et al. ECHS1 mutations cause combined respiratory chain deficiency resulting in Leigh syndrome. *Hum. Mutat.* **36**, 232–239 (2015).
4. Steinman, H. M. & Hill, R. L. Bovine liver crotonase (enoyl coenzyme A hydratase). *Methods Enzymol.* **35**, 136–151 (1975).
5. Haack, T. B. et al. Deficiency of ECHS1 causes mitochondrial encephalopathy with cardiac involvement. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* **2**, 492–509 (2015).
6. Yamada, K. et al. Clinical, biochemical and metabolic characterisation of a mild form of human short-chain enoyl-CoA hydratase deficiency: significance of increased N-acetyl-S-(2-carboxypropyl)cysteine excretion. *J. Med. Genet.* **52**, 691–698 (2015).
7. Ogawa, E. et al. Clinical validity of biochemical and molecular analysis in diagnosing Leigh syndrome: a study of 106 Japanese patients. *J. Inher. Metab. Dis.* **40**, 685–693 (2017).

「厚生 の 指標」 抜 刷

一般財団法人 厚生労働統計協会

DPCデータを用いたミトコンドリア病の記述的研究

イバキシ コウキ フジモト ケンジ マツダ シンヤ
 居林 興輝*1 藤本 賢治*3 松田 晋哉*4
 フシ ミ キヨヒデ ミマキ マサカズ ゴトウ エウイチ フジノ ヨシヒサ
 伏見 清秀*5 三牧 正和*6 後藤 雄一*7 藤野 善久*2

目的 従来、わが国のミトコンドリア病の疫学調査は、おもに病院アンケート調査によって行われ、全国規模の患者調査は実施困難であった。しかし、近年電子レセプトデータの利用環境が整備・拡充されつつあり、研究目的の利用も推進されている。本研究では、DPCデータを用いてミトコンドリア病の有病者数の推定を行った。また、今回利用したDPCデータの利用可能性および今後の課題について検討した。

方法 一般社団法人診断群分類研究支援機構の調査研究に協力している国内のDPC参加病院のデータを用いて、病名検索によりミトコンドリア病患者を抽出した。主要評価項目は、ミトコンドリア病の有病者数とした。また、副次評価項目として、ミトコンドリア病患者の各種集計（疾病グループ、性別、年齢、在院日数、ICD10分類、各種医療行為、入院患者の都道府県別分布、入院中の死亡）を行った。

結果 ミトコンドリア病の有病者数は1,386人と推定された。

結論 DPCデータを利用することで、ミトコンドリア病の有病者数は推定可能であることが示唆された。しかし、より悉皆性の高い調査を行うためには、DPCに参加していない病院の入院患者、および外来患者のデータベースを加えて調査する必要がある。

キーワード ミトコンドリア病、指定難病、有病者数、DPC、記述疫学

I 緒言

ミトコンドリア病は、わが国の施策として、指定難病制度および小児慢性特定疾患治療研究事業を通じた医療費の助成が行われている希少疾患である。ミトコンドリアは細胞内小器官の一つであり、人体における主要な好氣的エネルギー産生の場である。しかし、先天的な核DNAまたはミトコンドリアDNAの変異・欠失などにより、ミトコンドリアの呼吸鎖酵素複合体（電子伝達系とATP合成酵素）の異常が存在すると、ミトコンドリア病を発症する。ミト

コンドリア病は、中枢神経系や筋骨格系・循環器系・消化器系等あらゆる臓器に症状を呈しうるが、その発症年齢や重症度および生命予後は患者によって様々である。ミトコンドリア病を発症した患者の治療として、ミトコンドリアの代謝経路に保護的と考えられる薬剤の補充療法や、栄養療法・生活指導が行われ、一定の成果を挙げているが、残念ながら現時点で根治的な治療法は存在しない¹⁾。

従来、わが国でのミトコンドリア病などの希少疾患の疫学調査は、おもに病院アンケート調査によって行われてきたが、全国の患者を対象

*1 産業医科大学産業生態科学研究環境疫学研究大学院博士後期課程 *2 同教授

*3 同大学医学部公衆衛生学教室助教 *4 同教授

*5 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科医歯学系専攻環境社会医歯学講座医療政策情報学教授

*6 帝京大学医学部小児科学講座主任教授 *7 国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第二部長

とした大規模な調査は実施困難であった²⁾。しかし、近年電子レセプトデータの利用環境が整備・拡充されつつあり、電子レセプトデータの疫学研究への利活用が積極的に検討されている³⁾⁻⁶⁾。そこで、本研究ではDPCデータに注目した。DPC(Diagnosis Procedure Combination)とは、診断名と医療行為の体系的な分類であり、わが国の急性期入院医療を対象とした包括支払い制度にも利用されている。DPC参加病院の病床数は、わが国の一般病床入院患者情報の約83%をカバーしている大規模なものである⁷⁾。

本研究では、このDPCデータを用いてミトコンドリア病の患者数、つまり有病者数を推定し、加えてDPCデータから入手できる医療情報の利活用の可能性および限界について検討した。

Ⅱ 方 法

(1) 調査対象と方法

本研究では、一般社団法人診断群分類研究支援機構が実施する調査研究に協力しているDPC参加病院のデータを用いた。このデータは、病床数ベースで全DPC参加病院のデータの約9割をカバーしていると推定される⁸⁾。

本研究では、2014年1月から2015年12月までの2年間のデータを調査対象とした。2014年度は1,189施設(788万件)、2015年度は1,262施設(802万件)であった。これらのデータを用いて、記録されている病名(入院契機病名、資源病名、主病名、併存症、合併症のいずれかで、かつ疑い病名も含む)からミトコンドリア病に関連する病名の検索・抽出作業を実施した(図1)。また、本研究では、検索病名をもとにミトコンドリア病患者を5つの疾病グループ(以下、疾病グループ①~⑤)に分類した(表1)。

(2) 統計手法

主要評価項目は、ミトコンドリア病の有病者数とした。この有病者数は、抽出したミトコンドリア病患者から重複する患者IDを同一患者とみなし、重複を除外したものを集計すること

図1 データ抽出の流れ

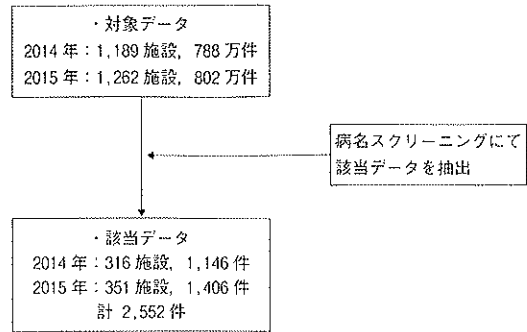


表1 各疾病グループの分類

| 疾病グループ | 病名 | 病名抽出キーワード |
|--------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| ① | MELAS ¹⁾ など ¹⁾ | MELAS, メラス, メラス症候群, ミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様症候群 |
| ② | Leigh脳症 | Leigh脳症, Leigh症候群, リー脳症, リー症候群, 亜急性壊死性脳症 |
| ③ | CPEO/KSS ²⁾ | CPEO, 慢性進行性外眼筋麻痺, 慢性進行性外眼筋麻痺症候群, KSS, カーンズ・セイヤ症候群, Kearns-Sayre症候群 |
| ④ | MERRF ³⁾ | MERRF, マーフ, 赤色ほろ線維・ミオクローヌスでんかん症候群 |
| ⑤ | Leber病 | Leber病, レーベル病, レーバー病, レーベル遺伝性視神経症 |

注) 1) *mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes
 2) *一部に新生児/乳児ミトコンドリア病も含まれる。
 3) † chronic progressive external ophthalmoplegia./Kearns-Sayre syndrome
 4) § myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers

によって求めた。

また、副次評価項目としてミトコンドリア病患者の各種集計を行った。患者全体または疾病グループ別の患者数、性別、年齢階級、年齢(中央値)、在院日数(中央値)、ICD10分類別の入院契機病名、各変数(医療行為等)の集計を行った。また、DPCに収録されている患者所在地の郵便番号を用いて、都道府県別の入院患者数を集計した。また、入院中に死亡した患者数を、DPCにおける退院時転帰から求めた。さらに、これらの入院中に死亡した患者の性別、年齢階級、年齢(中央値)、在院日数(中央値)、ICD10分類別の入院契機病名の集計を行った。

統計ソフトは、Stata/IC 15.0 for Windows (StataCorp LLC)を使用した。

(3) 倫理的配慮

本研究は、産業医科大学倫理委員会にて承認を得て実施した(2018年10月10日、第H30-124号)。

また、本文中の度数表記は、レセプト情報取り扱いにおける最小単位集計の申し合わせに基づいて、患者数10人未満の度数については“<10”の表記とした⁹⁾(ただし、患者数が0人の項目については、“0”と表記した)。さらに、10人以上であっても、その度数を表記することで合計値から10人未満の項目が推測可能である場合は、次に小さな度数を“<20”などの表記とした。

Ⅲ 結 果

病名の検索・抽出作業の結果、2014年は316施設から1,146件、2015年は351施設から1,406件の計2,552件が該当した。この該当した2,552件から同一患者の複数入院を統合すると、有病者数は1,386人であった。

表2では、ミトコンドリア病患者の93%を疾病グループ①(MELASなど)が占め、6%の②(Leigh脳症)と3%の③(CPEO)がそれに続いた。性別は、疾病グループ②は女性が多く(男性35人、女性50人)、性差が認められたが、他の疾病グループはほぼ均等に分布していた。年齢階級は、疾病グループ①は幅広い階級に分布していたが、②は比較的若年の階級(1歳から19歳まで)に分布する傾向が認められた。全患者の年齢は、中央値が35歳であった。また、疾病グループ②の年齢中央値は8歳であり、他の疾病グループと比較して若年であった。全患者の在院日数は、中央値が12日であった。また、疾病グループ②の在院日数の中央値は6日であり、ほかの疾病グループと比較して短い傾向があった。

表2 疾病グループごとの各種集計 (n=1,386)

(単位 人、()内%)

| | 患者全体 | 疾病グループ | | | | |
|-------------------|---------|--------------|--------------|---------------|------------|--------------|
| | | ① MELASなど | ② Leigh脳症 | ③ CPEO/KSS | ④ MERRF | ⑤ Leber病 |
| 患者数 | 1,386 | 1,282(93) | 85(6) | 42(3) | <10 | <30 |
| 男性 | 664(48) | 614(48) | 35(41) | 20(48) | <10 | <20 |
| 女性 | 722(52) | 668(52) | 50(59) | 22(52) | <10 | <10 |
| 0歳 | 64(5) | 62(5) | <10 | 0 | 0 | 0 |
| 1-5 | 162(12) | 141(11) | 30(35) | 0 | 0 | <10 |
| 6-9 | 78(6) | 67(5) | 15(18) | 0 | 0 | 0 |
| 10-14 | 94(7) | 81(6) | 15(18) | 0 | 0 | <10 |
| 15-19 | 94(7) | 86(7) | 13(15) | <10 | 0 | <10 |
| 20-29 | 139(10) | 133(10) | <10 | <10 | 0 | <10 |
| 30-39 | 151(11) | 142(11) | <10 | <10 | <10 | <10 |
| 40-49 | 176(13) | 169(13) | <10 | <10 | 0 | <10 |
| 50-59 | 151(11) | 142(11) | 0 | <10 | <10 | <10 |
| 60-69 | 166(12) | 158(12) | 0 | <10 | <10 | <10 |
| 70-79 | 89(6) | 82(6) | 0 | <10 | 0 | <10 |
| 80- | 22(2) | 19(1) | <10 | <10 | 0 | 0 |
| 年齢、歳：中央値(四分位範囲) | | 35(12-55) | 8(4-15) | 54.5(41-72) | 57(56-59) | 35(13-55) |
| 在院日数、日：中央値(四分位範囲) | | 12(6-29) | 6(4-14) | 20(5-41) | 10(8-29) | 19.5(5.5-35) |

表3 ICD10分類における入院契機病名別の患者数集計 (n=1,386)

(単位 人、()内%)

| 章 | 分類ID | 分類表記 | 患者数 |
|----|---------|---------------------------------|---------|
| 1 | A00-B99 | 感染症及び寄生虫症 | 35(3) |
| 2 | C00-D48 | 新生物<腫瘍> | 14(1) |
| 3 | D50-D89 | 血液及び造血器の疾患並びに免疫機構の障害 | <10 |
| 4 | E00-E90 | 内分泌、栄養及び代謝疾患 | 300(22) |
| 5 | F00-F99 | 精神及び行動の障害 | <10 |
| 6 | G00-G99 | 神経系の疾患 | 439(32) |
| 7 | H00-H59 | 眼及び付属器の疾患 | 55(4) |
| 8 | H60-H95 | 耳及び乳突突起の疾患 | 13(1) |
| 9 | I00-I99 | 循環器系の疾患 | 134(10) |
| 10 | J00-J99 | 呼吸器系の疾患 | 164(12) |
| 11 | K00-K93 | 消化器系の疾患 | 52(4) |
| 12 | L00-L99 | 皮膚及び皮下組織の疾患 | <10 |
| 13 | M00-M99 | 筋骨格系及び結合組織の疾患 | 26(2) |
| 14 | N00-N99 | 泌尿路生殖器系の疾患 | 31(2) |
| 15 | O00-O99 | 妊娠、分娩及び産後<母> | <10 |
| 16 | P00-P96 | 周産期に発生した病態 | <10 |
| 17 | Q00-Q99 | 先天奇形、変形及び染色体異常 | <10 |
| 18 | R00-R99 | 症状、徴候及び異常臨床所見、異常検査所見で他に分類されないもの | 49(4) |
| 19 | S00-T98 | 損傷、中毒及びその他の外因の影響 | 32(2) |
| 20 | V01-Y98 | 傷病及び死亡の外因 | <10 |
| 21 | Z00-Z99 | 健康状態に影響を及ぼす要因及び保健サービスの利用 | <10 |
| 22 | U00-U99 | 特殊目的用コード | <10 |

全患者のうち、ICD10の分類G(神経系の疾患)が32%、分類E(内分泌、栄養及び代謝疾患)が22%と大きな割合を占めた(表3)。また、分類J(呼吸器系の疾患)が12%、分類I(循環器系の疾患)が10%であり、それらに続いた。

表4 各変数における患者数集計 (n=1,386)

(単位 人、() 内%)

| 変数名 | 患者数 |
|---------------------------|-----------|
| 生検 (皮膚・筋) | 95(7) |
| 標本作成 | 157(11) |
| 染色 | 26(2) |
| 頭部MRI | 0 |
| MRTすべて | 657(47) |
| ビルビン酸 | 561(40) |
| 乳酸 | 678(49) |
| 難病外来指導管理料 | 0 |
| 人工呼吸器導入時相談支援加算(難病外来指導管理料) | 0 |
| 食事 (指定難病) | 0 |
| 在宅酸素 | 21(2) |
| 在宅経管栄養 | 48(3) |
| 経管栄養・薬剤投与用カテーテル交換法 | 27(2) |
| 間歇的経管栄養法加算 | 0 |
| 鼻腔栄養 | 260(19) |
| 在宅中心静脈栄養法指導管理料 | <10 |
| 中心静脈設置 | 127(9) |
| 在宅人工呼吸指導管理料 | 55(4) |
| 重症児 | 22(2) |
| 重症児 | 23(2) |
| 超重症児 | 45(3) |
| 胃瘻造設術 | 25(2) |
| 胃瘻より流動食点滴注入 | 67(5) |
| 抗てんかん薬 | 436(31) |
| 精神神経薬 | 332(24) |
| 強心剤 | 524(38) |
| 利尿剤 | 225(16) |
| 血圧降下剤 | 245(18) |
| 血管収縮剤 | 49(4) |
| 重曹 | 86(6) |
| ウラリット | 32(2) |
| アルギニン | 76(5) |
| カルニチン | 186(13) |
| タウリン | 33(2) |
| ビタミン内服薬, 日 | |
| 内服なし | 729(53) |
| 1-4日 | 259(19) |
| 5-9日 | 147(11) |
| 10日以上 | 251(18) |
| ビタミン注射薬, 日 | |
| 注射なし | 1 032(74) |
| 1-4日 | 133(10) |
| 5-9日 | 97(7) |
| 10日以上 | 124(9) |
| 輸血, 日 | |
| 輸血なし | 1 320(95) |
| 1-4日 | 57(4) |
| 5日以上 | <10 |
| 酸素吸入, 日 | |
| 吸入なし | 1 066(77) |
| 1-6日 | 215(16) |
| 7-13日 | 54(4) |
| 14日以上 | 51(4) |
| 人工呼吸器, 日 | |
| 装着なし | 1 166(84) |
| 1-6日 | 89(6) |
| 7-13日 | 44(3) |
| 14日以上 | 87(6) |
| ICU入室, 日 | |
| 入室なし | 1 332(96) |
| 1-2日 | 23(2) |
| 3-6日 | 12(1) |
| 7日以上 | 19(1) |

表5 患者の都道府県別分布 (n=1,386)

(単位 人、() 内%)

| | | 難病 ¹⁾ | 患者数 |
|---|---|------------------|---------|
| 合 | 計 | 1 481 | 1 386 |
| 北 | 道 | | |
| 青 | 森 | 46 | 63(5) |
| 岩 | 手 | 18 | 11(1) |
| 宮 | 城 | 19 | 24(2) |
| 秋 | 田 | 22 | 23(2) |
| | | 6 | <10 |
| 山 | 形 | 11 | 10(1) |
| 福 | 島 | 17 | 13(1) |
| 茨 | 城 | 35 | 36(3) |
| 栃 | 木 | 16 | 14(1) |
| 群 | 馬 | 22 | 19(1) |
| 埼 | 玉 | 72 | 51(4) |
| 千 | 葉 | 64 | 67(5) |
| 東 | 京 | 166 | 120(9) |
| 神 | 川 | 97 | 68(5) |
| 新 | 潟 | 30 | 17(1) |
| 富 | 山 | 18 | <10 |
| 石 | 川 | 14 | 14(1) |
| 福 | 井 | 16 | 10(1) |
| 山 | 梨 | 3 | <10 |
| 長 | 野 | 24 | 20(1) |
| 岐 | 阜 | 16 | 15(1) |
| 静 | 岡 | 30 | 29(2) |
| 愛 | 知 | 66 | 68(5) |
| 三 | 重 | 14 | 15(1) |
| 滋 | 賀 | 25 | 18(1) |
| 京 | 都 | 36 | 34(2) |
| 大 | 阪 | 108 | 141(10) |
| 兵 | 庫 | 62 | 52(4) |
| 奈 | 良 | 20 | 23(2) |
| 和 | 山 | 16 | <10 |
| 鳥 | 取 | 5 | 12(1) |
| 岡 | 根 | 11 | 11(1) |
| 岡 | 山 | 15 | 26(2) |
| 広 | 島 | 36 | 43(3) |
| 山 | 口 | 14 | 10(1) |
| 徳 | 島 | 10 | <10 |
| 香 | 川 | 9 | <10 |
| 愛 | 媛 | 19 | 18(1) |
| 高 | 知 | 4 | 12(1) |
| 福 | 岡 | 61 | 60(4) |
| 佐 | 賀 | 8 | 18(1) |
| 長 | 崎 | 22 | 16(1) |
| 熊 | 本 | 19 | 31(2) |
| 大 | 分 | 24 | 21(2) |
| 宮 | 崎 | 27 | 16(1) |
| 鹿 | 児 | 60 | 57(4) |
| 沖 | 縄 | 28 | 32(2) |

注 1) 特定疾患(難病)医療受給者証所持者数(2015年度末、文献10より)。参考のため記載。

続いて、表4では高頻度に認められたものとして、MRI検査すべて(47%)、ビルビン酸の

測定(40%)、乳酸の測定(49%)があった。また、相対度数が10%を超えたものとして、標

本作成 (11%), 鼻腔栄養 (19%), 抗てんかん薬 (31%), 精神神経薬 (24%), 強心剤 (38%), 利尿剤 (16%), 血圧降下剤 (18%), カルニチン (13%), ビタミン内服薬の1-4日内服 (19%) および5-9日内服 (11%) および10日以上内服 (18%), 酸素吸入の1-6日吸入 (16%) があった。

都道府県別の入院患者数は (表5), 頻度が高い順から大阪府 (141人), 東京都 (120人), 愛知県 (68人), 神奈川県 (68人), 千葉県 (67人) などであり, 大都市圏を中心に患者数が多い傾向が認められた¹⁰⁾。

入院中に死亡した患者数は83人であった (表6)。2014年の死亡患者数は43人であり, 2015年の死亡患者数は40人であった。死亡患者の性別は, やや女性が多く (男性36人, 女性47人), 性差が認められた。死亡患者の年齢階級は, 60-69歳が最も頻度が高く (24%), 50-59歳 (13%) と70-79歳 (13%) がそれに続いた。死亡患者の年齢中央値は, 52歳であった。死亡患者の在院日数中央値は, 28日であった。死亡患者のうち, ICD10分類G (神経系の疾患) が25%と最も大きな割合を占めていた。また, 分類I (循環器系の疾患) の22%と分類J (呼吸器系の疾患) の22%がそれに続いた。

Ⅳ 考 察

本研究では, ミトコンドリア病の有病者数は1,386人と推定された。参考として, 2014年末の特定疾患 (難病) 受給者証所持者数は1,439人¹¹⁾, 小児慢性特定疾病登録者数は251人 (ミトコンドリアDNA変異による糖尿病 (3人), ミトコンドリア病 (37人), ミトコンドリア脳筋症 (211人) の合計)¹²⁾であり, 両者の合計である1,690人が, 難病等における申請書類集計によって推定される有病者数である。本研究の推定値の方が小さい (1,386 vs. 1,690) 原因の1つとして考えられるのは, 本研究に利用したデータのカバー率である (実質的には全病床数の約7割)。もう1つの原因は, 比較的重症度が軽度または病状が安定しているなどで, 外来

表6 死亡患者に関する各種集計 (n=83)

| | | (単位: 人, () 内%) | |
|----------------------------|---------|-----------------|--------|
| 患者数: 2014年 | | 43(52) | |
| 2015 | | 40(48) | |
| 男性 | | 36(43) | |
| 女性 | | 47(57) | |
| 0歳 | | <10 | |
| 1-5 | | <10 | |
| 6-9 | | <10 | |
| 10-14 | | <10 | |
| 15-19 | | <10 | |
| 20-29 | | <10 | |
| 30-39 | | <10 | |
| 40-49 | | <10 | |
| 50-59 | | 11(13) | |
| 60-69 | | 20(24) | |
| 70-79 | | 11(13) | |
| 80- | | <10 | |
| 年齢, 歳: 中央値 (四分位範囲) | | 52(21-67) | |
| 在院日数, 日: 中央値 (四分位範囲) | | 28(11-67) | |
| ICD分類別入院契機病名 ¹⁾ | | | |
| 章 | 分類ID | 分類表記 | |
| 4 | E00-E90 | 内分泌, 栄養及び代謝疾患 | 11(13) |
| 6 | G00-G99 | 神経系の疾患 | 21(25) |
| 9 | I00-I99 | 循環器系の疾患 | 18(22) |
| 10 | J00-J99 | 呼吸器系の疾患 | 18(22) |

注) 1) 患者数10人以上の項目のみを記載した。

受診のみでの加療を受けている患者を, 本研究のデータでは把握ができないためと考えられる。この2点において, 本研究の手法ではミトコンドリア病の有病者数が過小評価され得るという限界が示唆される。これらの問題への解決策として, NDB (National Database) を用いることが考えられる。NDBには外来患者の情報も記録されており, より悉皆性の高いミトコンドリア病の調査が可能であると考えられる。

また, 本研究では, 副次評価項目としてミトコンドリア病の入院患者の背景を探索した。DPCデータを用いれば, 疾病グループをはじめとした様々なカテゴリーを設定することで, 比較的容易に患者背景を分析することが可能であることが示唆された。これは, 臓器横断的な症状を呈し, 疾患特異的な検査所見や治療法が存在しないミトコンドリア病に関わらず, 他の多臓器症状を示す希少疾患の調査にも応用可能であると考えられる¹³⁾。

しかし, DPCデータに記録されている患者ID (正しくはデータ識別番号と呼ばれる) は, 医療機関の変更や転職・退職等における保険者の変更によって変化するため, 患者IDを厳密

な意味での同一個人識別に用いることは現時点では不可能であり、研究利用において大きな制約となっている。例えば、新生児／乳児ミトコンドリア病は、発症時期によって定義されるミトコンドリア病の分類である¹⁴⁾が、DPCの横断的なデータ特性では正確な有病者数の推定が困難である。今後の課題として、個人情報に十分配慮した上で、同一患者を長期間追跡することのできる不変の患者IDを割り付けるなどの対策が、研究への利活用の上で重要であると考えられる。

また、2015年1月における「難病の患者に対する医療等に関する法律（難病法）」の施行に伴い、指定難病の対象疾患数は、施行前は56疾患であったものが、2017年度末では330疾患にも増加している¹⁵⁾。緒言でも述べたが、全国規模の病院アンケート調査を疾患ごとに一から行うのは、人的・時間的・費用的に今後いっそう負担の大きいものとなっていくと予想される。DPCデータ等のビッグデータの利用体制の構築が推進されれば、これらを代替研究として用いるだけでなく、事前研究に用いてより正確な研究コストを予測し、高いコストが要求される介入研究などの実施可能性を検討することも可能になると考えられる。

V 結 語

DPCデータを用いて、ミトコンドリア病の有病者数は推定可能であることが示唆された。また、DPCデータに記録されている患者の属性および各種医療行為を分析することで、一部ではあるがミトコンドリア病における医療の現状把握が可能であることが示唆された。

最後に、現状においてDPCデータをはじめとした電子レセプトデータの研究利用は、アクセスの容易さやデータの適切な運用において様々な制約や課題があるものの、今後も積極的に利活用を行うことは、患者・医療者双方に資するものであると考えられる。

謝辞

本研究は、厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）「ミトコンドリア病の調査研究（H29-難治等（難）一般-035）」（研究代表者：後藤雄一）の助成によって行われた。

文 献

- 1) 村山圭, 小坂仁, 米田誠, 他. ミトコンドリア病診療マニュアル2017. 一般社団法人日本ミトコンドリア学会編. 東京: 診断と治療社, 2016: 2-27.
- 2) 後藤雄一. 8. ミトコンドリア病. *Equilibrium Research* 2016; 75(1): 1-6.
- 3) 藤森研司. レセプトデータベース (NDB) の現状とその活用に対する課題. *医療と社会* 2016; 26(1): 15-24.
- 4) 松田晋哉. 基礎から読み解くDPC実践的に活用するために (第3版). 東京: 医学書院, 2011: 46-69.
- 5) 松田晋哉. 医療ビッグデータの医療政策への活用. *医療と社会* 2016; 26(1): 25-35.
- 6) 康永秀生. DPCデータによる臨床疫学研究の成果と今後の課題. *医療と社会* 2016; 26(1): 7-14.
- 7) 厚生労働省ホームページ. 平成30年度診療報酬改定説明の概要 (DPC/PDPS). (<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000196352.html>) 2019. 2. 27.
- 8) 一般社団法人 診断群分類研究支援機構ホームページ. (<http://dpcr.or.jp/>) 2019. 2. 28.
- 9) 厚生労働省ホームページ. 第26回レセプト情報等の提供に関する有識者会議 資料. 資料1 成果物の公表基準に関する検討. (<https://www.mhlw.go.jp/stf/shingi2/0000108564.html>) 2019. 3. 7.
- 10) 難病情報センターホームページ. 平成27年度末現在 特定医療費 (指定難病) 受給者証所持者数. 対象疾患・都道府県別. (<http://www.nanbyou.or.jp/entry/5354>) 2019. 5. 28.
- 11) e-Stat (政府統計の総合窓口) ホームページ. 平成26年度衛生行政報告例. 特定疾患 (難病) 医療受給者証所持者数. 性・年齢階級・対象疾患別. (<https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&toukei=00450027&tstat=000001031469>) 2019. 3. 12.
- 12) 小児慢性特定疾病情報センターホームページ. 小児慢性特定疾病対策研究事業における登録データの精度向上に関する研究 - 平成26年度の小児慢性特定疾病対策研究事業の疾病登録状況 (中間報告) -. (https://www.shouman.jp/research/report/29_report) 2019. 3. 12.
- 13) 康永秀生, 堀口裕正. DPCデータベースを用いた臨床疫学研究. *医療と社会* 2010; 20(1): 87-96.
- 14) 村山圭, 小坂仁, 米田誠, 他. ミトコンドリア病診療マニュアル2017. 一般社団法人日本ミトコンドリア学会編. 東京: 診断と治療社, 2016: 81-93.
- 15) e-Stat (政府統計の総合窓口) ホームページ. 平成29年度衛生行政報告例. 特定疾患 (難病) 療受給者証所持者数. 性・年齢階級・対象疾患別. (<https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&toukei=00450027&tstat=000001031469>) 2019. 3. 13.