

## 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

日本人 Leigh 脳症 106 例の生化学診断・遺伝子診断のまとめをおこなった。新規病因遺伝子として、まずは ATAD3 遺伝子の欠失が、オーストラリア、フランス、オランダ、さらにはイギリスとの共同研究の中で明らかになった。C1QBP(p32)遺伝子変異については、イギリス、オーストリア、イタリア、さらにはアメリカとドイツなどとの国際連携により解析をおこなった。また、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を行った。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、先天性高乳酸血症（Congenital Lactic Acidosis: CLA）を来す症例の鑑別を行うこと。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、などを示した。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 の登録を進めている。

### 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、日本人 Leigh 脳症 106 例の生化学診断・遺伝子診断のまとめをおこなった。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。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こと。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）異常症等であること、などを示した。

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)の登録を進めている。

### B．研究方法

ATAD3 遺伝子の解析は、オーストラリア、フランス、オランダ、さらにはイギリスとの共同研究としておこなった。ADAT3 遺伝子のクラスター欠失と小脳障害との関連についても解析した。C1QBP(p32)遺伝子変異については、イギリス、オーストリア、イタリア、さらにはアメリカとドイツなどとの国際連携により解析をおこなった。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病変遺伝子 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てはヒトゲノム・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

ATAD3 遺伝子の欠失が、オーストラリア、フランス、オランダ、さらにはイギリスとの共同研究の中で明らかになった。ADAT3 遺伝子のクラスタ欠失は、mtDNA とコレステロール代謝を変化させ、小脳障害の原因となることを明らかにした。患者細胞にはコレステロールが蓄積しており、ニーマンピック C との関連が注目される。C1QBP (p32) 遺伝子変異については、イギリス、オーストリア、イタリア、さらにはアメリカとドイツなどとの国際連携により解析をおこなった。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。

## 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。

(倫理面への配慮)

患者の個人名、疾患名などは講演においても、ホームページ上においても明らかにしていない。フォーラムをインターネット配信したが、その画像などに患者が映らないように留意するなど、個人情報の管理に十分配慮した。

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

ADAT3 遺伝子のクラスター欠失は、mtDNA とコレステロール代謝を変化させ、小脳障害の原因となった。C1QBP(p32)遺伝子変異については、イギリス、オーストリア、イタリア、さらにはアメリカとドイツなどとの国際連携により解析をおこなった。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。

F. 研究発表

1. 論文発表

Ogawa E, Fushimi T, Ogawa-Tominaga M, Shimura M, Tajika M, Ichimoto K, Matsunaga A, Tsuruoka T, Ishige M, Fuchigami T, Yamazaki T, Kishita Y, Kohda M, Imai-Okazaki A, Okazaki Y, Morioka I, Ohtake A, Murayama K. Mortality of Japanese patients with Leigh syndrome: Effects of age at onset and genetic diagnosis. *J Inherit Metab Dis.* 2020 Jan 22. doi: 10.1002/jimd.12218. [Epub ahead of print]

Shimizu K, Oba D, Nambu R, Tanaka M, Oguma E, Murayama K, Ohtake A, Yoshiura KI, Ohashi H. Possible mitochondrial dysfunction in a patient with deafness, dystonia, and cerebral hypomyelination (DDCH) due to BCAP31 Mutation. *Mol Genet Genomic Med.* 2020 Mar;8(3):e1129. doi: 10.1002/mgg3.1129. Epub 2020 Jan 17.

Takada R, Tozawa T, Kondo H, Kizaki Z, Kishita Y, Okazaki Y, Murayama K, Ohtake A, Chiyonobu T. Early infantile-onset Leigh syndrome complicated with infantile spasms associated with the m.9185T>C variant in the MT-ATP6 gene: Expanding the clinical spectrum. *Brain Dev.* 2020 Jan;42(1):69-72. doi: 10.1016/j.braindev.2019.08.006. Epub 2019 Sep 26.

Kadoya T, Sakakibara A, Kitayama K, Yamada Y, Higuchi S, Kawakita R, Kawasaki Y, Fujino M, Murakami Y, Shimura M, Murayama K, Ohtake A, Okazaki Y, Koga Y, Yorifuji T. Successful treatment of infantile-onset ACAD9-related cardiomyopathy with a combination of sodium pyruvate, beta-blocker, and coenzyme Q10. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2019 Oct 25;32(10):1181-1185. doi: 10.1515/jpem-2019-0205.

Shimura M, Nozawa N, Ogawa-Tominaga M, Fushimi T, Tajika M, Ichimoto K, Matsunaga A, Tsuruoka T, Kishita Y, Ishii T, Takahashi K, Tanaka T, Nakajima M, Okazaki Y, Ohtake A, Murayama K. Effects of 5-aminolevulinic acid and sodium ferrous citrate on fibroblasts from individuals with mitochondrial diseases. *Sci Rep.* 2019 Jul 22;9(1):10549. doi: 10.1038/s41598-019-46772-x.

2. 学会発表

なし

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