

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：14401
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2018～2023
課題番号：18K07820
研究課題名(和文)先天性GPI欠損症に対する活性化葉酸療法の確立

研究課題名(英文)Folic acid for Inherited GPI deficiency

研究代表者

富永 康仁 (TOMINAGA, Koji)

大阪大学・大学院連合小児発達学研究所・招へい教員

研究者番号：20599245

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：新規2症例(PIGO)に対し活性化葉酸の投与を行った。プロトコールに則り、開始前の血液検査、髄液検査(5-methyltetrahydrofolate:5-MTHF)、脳波検査(背景脳波やてんかん性異常突発波の評価)を経て開始し予定投与期間を終了した。その治療効果を臨床症状(てんかん発作、発達)の評価や血液検査(高ALP血症の改善、副作用)、髄液検査(5-MTHFの改善)、頭部MRI(大脳基底核の高信号、小脳萎縮の変化)、脳波検査など評価した。1例では発作頻度の有意な減少と脳波所見の改善を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

先天性GPI欠損症は希少疾患であり現在も有効な治療法が確立されていない。本疾患では葉酸受容体(FOLR1)の機能は正常であるが、脈絡叢表面のGPIアンカー型蛋白質の機能低下により髄液内の葉酸が欠乏していると推定でき実際に5-MTHFの低値を認める症例がある。その病態より活性化葉酸を投与することで本疾患の中樞神経症状(てんかん、知的障害)を緩和する可能性のある活性化葉酸の有効性を検討することは、患者本人やその家族の希望となる。

研究成果の概要(英文)：Folic acid was administered to two new cases (PIGO). In accordance with the protocol, the treatment began after pre-start blood tests, cerebrospinal fluid tests (5-methyltetrahydrofolate(5-MTHF) level), and electroencephalogram tests (evaluation of background activity and abnormal epileptic discharges), and the scheduled administration period was completed. The therapeutic effects are evaluated by clinical symptoms (epileptic seizures, and motor/mental development), blood tests (improvement of hyperalpermia, another side effects), cerebrospinal fluid tests (improvement of low 5-MTHF level), Brain MRI (hyperintensity of basal ganglia, cerebellar atrophy) and electroencephalography were evaluated. One patient showed a significant decrease in seizure frequency and improvement in epileptic discharges of electroencephalogram.

研究分野：小児神経学

キーワード：先天性GPI欠損症 活性化葉酸 てんかん 知的障害 高ALP血症

1. 研究開始当初の背景

先天性 GPI(glycosylphosphatidylinositol)欠損症は、村上(連携研究者)らにより 2006 年に世界で初めて報告された GPI アンカーの異常による疾患である(Almeida AM, Murakami Y, Nat Med, 2006)。GPI アンカーは、PI(phosphatidylinositol)にグルコサミン、マンノース、エタノールアミンリン酸が結合した糖脂質で、哺乳類では 150 種類以上の蛋白質が GPI アンカーを介して細胞膜表面に結合している(=GPI アンカー型蛋白質:

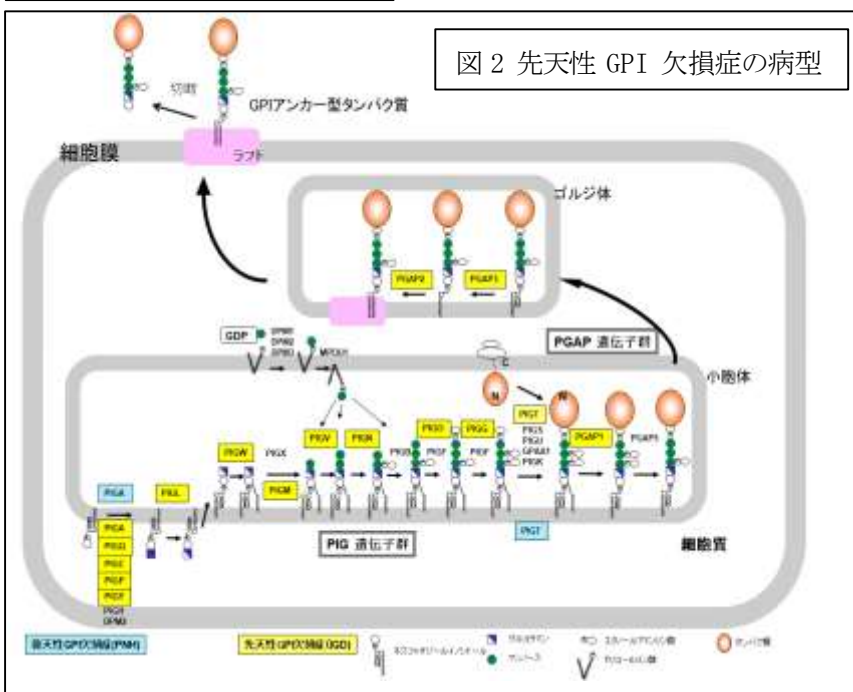
図1 細胞表面の GPI アンカー型蛋白質の基本構造



て細胞膜表面に結合している(=GPI アンカー型蛋白質: 図1)。GPI アンカーは、蛋白質の小胞体からの輸送に重要な役割を果たしており(Fujita M, Cell, 2009)、GPI が欠損すると GPI アンカー型蛋白質が細胞表面上に発現できず、完全欠損であれば胎生致死となる。そのため先天性 GPI 欠損症はいずれも部分欠損である。現在まで 27 個の遺伝子が GPI アンカーの生合成や修飾に必要であることが分かっている。これらの遺伝子変異により現在まで PIGQ, PIGA, PIGY, PIGC, PIGP, PIGL, PIGW, PIGM, PIGV, PIGN, PIGO, PIGG, PIGT, PGAP1, PGAP2, PGAP3 の 16 病型の先天性 GPI 欠損症が発見されている(図2)。

そのため、部分欠損の程度や異常遺伝子のステップにより多

図2 先天性 GPI 欠損症の病型

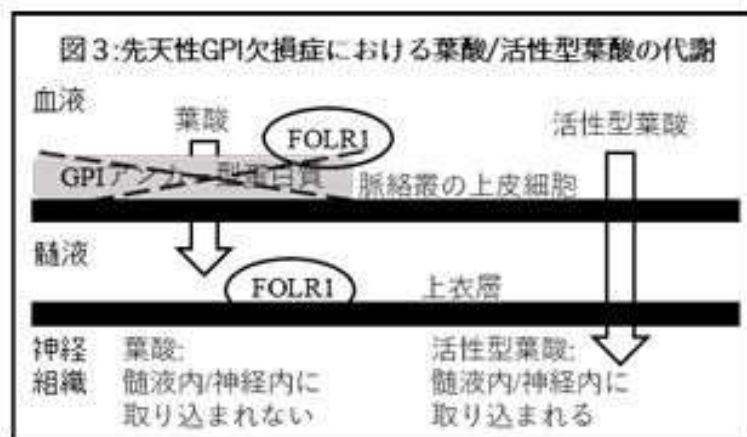


様な症状(知的障害と運動発達遅滞、難治性のてんかんを主症状とし時に高アルカリフォスファターゼ(ALP)血症を伴う。その他、特異的顔貌、手指末節骨/爪の低形成・難聴・腎尿路奇形・鎖肛・ヒルシュスプルング病など多臓器奇形を呈する。最初の村上らの報告以降、国内外で症例報告が相次いでおり、

研究協力者の谷河も 2014 年に PIGN 異常の 2 症例、2016 年に PIGO 異常の 5 症例を報告している(第 56 回/第 58 回日本小児神経学会, 2014 年/2016 年)。また本疾患は平成 26-27 年度の厚生省難治性疾患政策研究事業ならびに平成 26-28 年度の厚生労働科学研究費委託業務(AMED)難治性疾患実用化研究事業にも選定されている。主症状が遅滞、てんかんといった非特異的症状であるため、実際には更に多くの症例が存在するものと考えられている。診断は上記症状や高 ALP 血症より疑い、顆粒球のフローサイトメトリー (FACS 解析) にて殆どの症例で診断が可能である。病型診断には次世代シーケンサーを用いた GPI 遺伝子のターゲットシーケンスによる。治療は現時点で確立されたものはない。主症状であるてんかんは複数の抗てんかん薬でも難治に

経過することが多いが、PIGV, PIGO 異常による本疾患で難治に経過していたてんかんが、リン酸化されていないビタミン B6 のピリドキシンで消失したとの報告がある (Stockler S, Mol Genet Metab, 2011 と Kuki I, Neurology, 2013)。これらを踏まえ我々はピリドキシン療法の臨床研究を開始した。実施症例は 9 例 (PIGO 異常 2 例, PIGL 異常 2 例, 病型不明 5 例) で、一部の症例では発作頻度の軽減・成長発達の促進など一定の効果を得たが、無効であった症例もあった。他にも PIGA 異常による先天性 GPI 欠損症 5 例の検討ではピリドキシンは無効であった (Kato M, Neurology, 2014) との報告もある。したがって先天性 GPI 欠損症では、必ずしもピリドキシンが有効とは限らないことが明らかとなった。そのため更なる治療法の開発が急務である。

本疾患の病態を考えると、ある種の GPI アンカー型蛋白質の発現低下により、その GPI アンカー型蛋白質が本来介在することにより伝達されていた物質の欠乏症が発症しうる。一方でその欠乏した伝達物質を、その GPI アンカー型蛋白質を介さない経路で補充できれば治療法となりうる。そこで我々は、これまでの症例を詳細に検討し、活性型葉酸がその候補となりうることを見出した。その根拠として中枢性葉酸欠乏症 (CFD: Cerebral folate deficiency) の存在がある。葉酸は髄液に移行して神経細胞に取り込まれ、DNA やアミノ酸の合成・代謝に関わっている。CFD はその髄液内の葉酸が欠乏する疾患で、原因は中枢にのみ発現する葉酸受容体遺伝子である FOLR1 (folate receptor 1) の異常である。FOLR1 は葉酸を血中から脳内に移行させる働きを持つ。FOLR1 異常により葉酸の血中から髄液への移行が十分にできず、血中葉酸値は正常であるが髄液中の活性型の葉酸である 5-methyltetrahydrofolate (5-MTHF) が低値となり発症する。CFD の症状は、乳幼児期より発症する難治性のでんかん、知的障害に加えて頭部 MRI では髄鞘化遅延と進行性の小脳萎縮を伴う。これらは先天性 GPI 欠損症の患者にも共通する症状である。そして何よりも、FOLR1 は脈絡叢表面にある GPI アンカー型蛋白質を介して機能している (Grapp M, Nat Commun, 2013) (図 3)。



そこで本疾患の 4 例 (PIG01 例/PIG2 例/PIGL1 例) について髄液中の 5-MTHF を測定したところ、1 例で異常低値を示し、残る 3 例でも正常下限に近い値であった。CFD の治療法は活性型葉酸 (商品名:ロイコボリン) の大量投与であり、先天性 GPI 欠損症に対しても活性型葉酸が新規の治療法として可能性があると考えた。

2. 研究の目的

これまで有効な治療法のない先天性 GPI 欠損症に対し、活性型葉酸による治療法を確立する。本治療は、これまで世界に報告がなく最初の試みである。

3. 研究の方法

てんかんと知的障害に対する治療効果を中心に検討する。その中で活性型葉酸の最適投与量や、

どの病型に対してより有効であるか明らかにし治療法を確立する。

(1) 治療を行う患者の選定

従来から当院で診断・加療されている患者に加え新規患者の同定を行う。本疾患は連携研究者の村上により、2014年に疾患HPが公開されている(日本語/英語)。HP上で疾患の説明や疑い患者の診断確定の検査受付、患者のデータベース登録なども行われており国内外で広く患者を集めることが可能である。

(2) 患者に対し投与前評価を実施した上で、プロトコルに従い活性型葉酸を投与し副作用などのモニターと有効性の評価を行う。

①投与前評価

自覚症状、他覚所見として、問診(痙攣発作の頻度など)、視診、聴診、触診、打診、神経学的診察、身長、体重、BMI、現病歴、既往歴、家族歴、アレルギーの有無(薬物、食物等)、発達検査(遠城寺式乳幼児分析的発達検査法、DENVER II 発達判定法、WISC-IVより選択)を行う。理学的検査として、血圧、脈拍、体温を測定する。生理学的検査として、心電図、脳波、末梢神経伝導速度、聴性脳幹反応、視覚誘発電位、短潜時体性感覚誘発電位を行う。臨床検査として一般血液(RBC, Hb, Ht, WBC, Plt)、血液生化学(総ビリルビン, AST, ALT, γ -GTP, ALP, CK, コリンエステラーゼ, 尿酸, BUN, Cr, TP, Alb, T-cho1, TG, Na, K, Cl, 血糖, アミノ酸分析), 尿検査(蛋白, 糖, 潜血, ウロビリノーゲン, ケトン体, 尿中有機酸分析), 髄液(細胞数, 蛋白, 糖, NSE, アミノ酸分析, 5-MTHF)を測定する。画像検査として頭部MRIを施行する。

②治療とその評価

投与前評価の後に、活性型葉酸を 1 mg/kg/日分 3 より開始する。1-2 週間後に血液・尿検査を実施し副作用の出現を評価する。また投与後 1 か月程度で同様の副作用の評価及び髄液中 5-MTHF の計測を行い投与量の適正化を図る。髄液中の 5-MTHF の濃度上昇を十分に認めない場合、2-5mg/kg/日へ増量する。増量した場合は、増量後 1 か月に髄液中の 5-MTHF 濃度を確認する。十分な上昇を認めれば以降は同量で維持投与とし、投与開始後 3 か月と 6 か月で治療効果、副作用出現の有無を確認する。また投与開始から 1 年後にあらためて全体の評価を行う。

時期	事前検査	投与開始後				
		1-2 週間	1か月	3 か月	6 か月	1 年
患者背景	○					
自覚症状・他覚症状	○	○	○	○	○	○
発達検査	○				○	○
心電図	○	○				○
神経生理学的検査	○		○		○	○
血液検査	○				○	○
血液検査(副作用確認)		○	○	○		
尿検査	○	○			○	○
髄液検査	○		○			○
画像検査	○				○	○

4. 研究成果

新規2症例(PIGO)に対し活性化葉酸の投与を行った。プロトコールに則り、開始前の血液検査、髄液検査(5-methyltetrahydrofolate:5-MTHF)、脳波検査(背景脳波やてんかん性異常突発波の評価)を経て開始し予定投与期間を終了した。その治療効果を臨床症状(てんかん発作、発達)の評価や血液検査(高ALP血症の改善、副作用)、髄液検査(5-MTHFの改善)、頭部MRI(大脳基底核の高信号、小脳萎縮の変化)、脳波検査など評価した。1例では発作頻度の有意な減少と脳波所見の改善を認めた。血液検査上での副作用は認めなかった。発達については研究期間内では有意な改善を認めなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tanigawa J, Nabatame S, Tominaga K, Nishimura Y, Maegaki Y, Kinoshita T, Murakami Y, Ozono K	4. 巻 43
2. 論文標題 High-dose pyridoxine treatment for inherited glycosylphosphatidylinositol deficiency	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain & Development	6. 最初と最後の頁 680 - 687
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.braindev.2021.02.007. Epub 2021 Apr 3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 谷河 純平, 青天目 信, 富永 康仁, 西村 洋子, 前垣 義弘, 木下 タロウ, 村上 良子, 大園 恵一
2. 発表標題 先天性glycosylphosphatidylinositol (GPI)欠損症に対するピリドキシン大量療法
3. 学会等名 日本小児神経学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 青天目信
2. 発表標題 先天性GPI欠損症
3. 学会等名 日本てんかん学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

先天性GPI欠損症 (IGD)
igd.biken.osaka-u.ac.jp/
先天性GPI欠損症
http://igd.biken.osaka-u.ac.jp/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	青天目 信 (NABATAME Shin) (30570072)	大阪大学・大学院医学系研究科・講師 (14401)	
研究分担者	岩谷 祥子 (IWATANI Yoshiko) (60724903)	大阪大学・大学院連合小児発達学研究所・助教 (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------