

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 5 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22791008

研究課題名（和文） 胆汁酸代謝異常症の遺伝子診断と内科的治療法の確立～肝移植回避を目指して～

研究課題名（英文） Establishment of genetic diagnosis and medical treatment in patients with inborn errors of bile acid metabolism: Aiming to prevent liver transplantation

研究代表者

水落 建輝（MIZUOCHI TATSUKI）

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：20368921

## 研究成果の概要（和文）：

先天性胆汁酸代謝異常症（IEBAM）は、乳児期に胆汁うっ滞をきたし、無治療であれば肝硬変へ移行し死亡する予後不良な遺伝性疾患である。しかし、そのほとんどが早期診断すれば治療可能な疾患であるため、早期診断と治療が重要である。我々は、ガスクロマトグラフィー質量分析法による尿中胆汁酸分析とダイレクトシーケンス法による遺伝子解析を用いて IEBAM の診断を行っている。今回の研究期間において、我々が診断・治療に関与した IEBAM は 6 例であった。全症例に関して、臨床経過、肝機能の推移、定期的な胆汁酸分析を行っている。全例が生存中で良好な経過であり、早期診断と治療の有効性が示されている。IEBAM は早期診断し、経口ケノデオキシコール酸療法を開始すればそのほとんどが内科的治療可能な疾患である。非常に稀な疾患であり、確定診断には血清や尿中の胆汁酸分析と遺伝子解析といった特殊な検査が必要なため、本疾患を小児科医に知ってもらう必要がある。特徴的な所見としては、乳児期に胆汁うっ滞を認めるにもかかわらず、血清  $\gamma$ -GTP 及び総胆汁酸値が正常な点である。以上のことを、小児科及び小児肝臓病関連の学会や研究会で発表し、本疾患の理解の普及に努めた。また、本研究により診断がついた IEBAM 症例の論文を日本語及び英語にて報告し、病態・予後・治療法の解明を行った。現在、ここ数年間の研究成果をまとめた論文を作成中である。

## 研究成果の概要（英文）：

Inborn errors of bile acid metabolism (IEBAM) have symptoms of cholestasis in children and the prognosis is poor due to cirrhosis unless diagnosis is made and treatment is initiated at an early stage of cholestasis. It is important to diagnose and treat patients with IEBAM at an early stage of cholestasis because we can treat them with medical therapy if early. We diagnose patients with IEBAM by bile acid analysis using Gas Chromatography - Mass Spectrometry and genetic analysis using direct sequence. We diagnosed and have been treating 6 patients with IEBAM during this study period. We have been studying clinical course, liver function test, and bile acid analysis in all of them. Our study demonstrates that the early diagnosis and treatment in patients with IEBAS are useful because all of them have had good clinical course. We can treat the patients with IEBAS with oral chenodeoxycholic acid if we diagnose them at an early stage. It is necessary that pediatrician know IEBAM because IEBAM are very rare disease and the diagnosis need special examinations such as bile acid analysis and genetic analysis. Distinctive findings of IEBAM are normal serum concentration of  $\gamma$ -GTP and total bile acid; however children present with cholestasis. We presented this study at the meeting and congress associated with pediatric liver disease. Moreover, we reported this study as the articles in Japanese and English, and investigated the pathophysiology and treatment of IEBAM. Currently, we are writing a paper summarizing the study of IEBAM over the past few years.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：小児科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：遺伝学、酵素、内科、移植・再生医療

1. 研究開始当初の背景

コレステロールから胆汁酸への変換はコレステロール異化の主要な経路であり、コレステロールホメオスタシス調節の中心的役割を担っている。肝臓での胆汁酸合成は 10 以上の酵素反応、2つの経路(classic pathway と alternative pathway) から構成されている。現在知られている代表的な胆汁酸代謝異常症は、 $3\beta$ -hydroxy- $\Delta$  5-C27-steroid dehydrogenase/isomerase 欠損症・ $3\text{-oxo-}\Delta$  5-steroid  $5\beta$ -reductase 欠損症・oxysterol  $7\alpha$ -hydroxylase 欠損症・cerebrotendinous xanthomatosis (CTX)・cholesterol  $7\alpha$ -hydroxylase 欠損症である。いずれも胆汁酸合成過程における酵素に先天的な(遺伝性の)異常があることが原因である。近年分子生物学的手法により遺伝子異常も報告されつつある。異常胆汁酸の存在は胆汁うっ滞性の肝硬変を引き起こし、肝不全により不幸な転帰をとる。したがって肝移植の必要性とタイミングを判断することが重要となる。しかし、一部の胆汁酸代謝異常症では、一次胆汁酸療法により肝移植せずとも内科的治療のみで良好な経過を得ているものもあり、早期診断と早期治療が予後を大きく左右するといえる。

2. 研究の目的

胆汁酸は肝細胞内でコレステロールから合成される最終代謝産物である。この胆汁酸合成過程で働くべき酵素が障害されると胆汁酸代謝異常症となる。無治療であれば肝不全となり早期に死亡するが、一次胆汁酸療法や肝移植により治療可能な疾患である。近年分子生物学的診断技術の進歩により既存の胆汁酸代謝異常症の遺伝子診断が可能となった。また、さらに新たな胆汁酸代謝異常症が発見されている。本研究は、未だ解明されていない胆汁酸代謝異常症の病態・病因を

分子生物学・生化学および肝病理検査を用いて明らかにすると共に、早期診断し、一次胆汁酸療法(ケノデオキシコール酸内服)を早期から導入することなどにより、肝移植回避につながる治療法の確立を目的とする。

3. 研究の方法

対象：新生児肝炎もしくは胆道閉鎖症類似疾患で診断がつかない症例のうち閉塞性黄疸があるにもかかわらず、血清 $\gamma$ -GTPおよび総胆汁酸値が正常もしくは低値の症例。自院だけでなく、小児胆汁酸研究会・小児肝臓病研究会・小児栄養消化器肝臓学会を通じて全国的な症例把握につとめ、協力を依頼する。

(主治医またはそれに準ずる医師により十分な説明を行いその情報の取り扱いには細心の注意を払う。)

胆汁酸分析：尿中胆汁酸分析をガスクロマトグラフィー質量分析法を用いて行い、異常胆汁酸の検出を行う。

病理組織：肝生検にて組織病理学的特徴を検討する。

遺伝子解析：患者およびその血縁者の血液あるいは肝臓より Genomic DNA 抽出。疑われる胆汁酸代謝異常症の責任遺伝子に対し coding region を中心に、PCR、ダイレクトシーケンシング法を用いて解析する。

4. 研究成果

今回の研究期間において、我々が診断・治療に関与した胆汁酸代謝異常症は6例であった。その内訳は、 $3\beta$ -hydroxy- $\Delta$  5-C27-steroid dehydrogenase/isomerase 欠損症が2例、 $3\text{-oxo-}\Delta$  5-steroid  $5\beta$ -reductase 欠損症が3例、oxysterol  $7\alpha$ -hydroxylase 欠損症が1例であった。全症例に関して、臨床経過、肝機能の推移、定期的な胆汁酸分析を行っている。 $3\beta$ -hydroxy- $\Delta$  5-C27-steroid dehydrogenase/isomerase 欠

損症と 3-oxo- $\Delta^5$ -steroid 5 $\beta$ -reductase 欠損症の計 4 例でケノデオキシコール酸での早期治療に成功した。oxysterol 7 $\alpha$ -hydroxylase 欠損症 1 例で世界初の肝移植成功を経験した。全例が現在も生存中で良好な経過であり、早期診断と治療の有効性が示されている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

1. Seki Y, Mizuochi T, Kimura A, Takahashi T, Ohtake A, Hayashi S, Morimura T, Ohno Y, Hoshina T, Ihara K, Takei H, Nittono H, Kurosawa T, Homma K, Hasegawa T, Matsuishi T. Two neonatal cholestasis patients with mutations in the SRD5B1 (AKR1D1) gene: diagnosis and bile acid profiles during chenodeoxycholic acid treatment. *J Inher Metab Dis*. 2013 May;36(3):565-73. 査読有 doi: 10.1007/s10545-012-9526-6.
2. Nagasaka H, Okano Y, Kimura A, Mizuochi T, Sanayama Y, Takatani T, Nakagawa S, Hasegawa E, Hirano K, Mochizuki H, Ohura T, Ishige-Wada M, Usui H, Yorifuji T, Tsukahara H, Hirayama S, Ohtake A, Yamato S, Miida T. Oxysterol changes along with cholesterol and vitamin D changes in adult phenylketonuric patients diagnosed by newborn mass-screening. *Clin Chim Acta*. 2013 Feb 1;416:54-9. 査読有 doi: 10.1016/j.cca.2012.10.011.
3. Muto A, Takei H, Unno A, Murai T, Kurosawa T, Ogawa S, Iida T, Ikegawa S, Mori J, Ohtake A, Hoshina T, Mizuochi T, Kimura A, Hofmann AF, Hagey LR, Nittono H. Detection of  $\Delta^4$ -3-oxo-steroid 5 $\beta$ -reductase deficiency by LC-ESI-MS/MS measurement of urinary bile acids. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2012 Jul 1;900:24-31. 査読有 doi: 10.1016/j.jchromb.2012.05.023.
4. Kimura A, Nittono H, Mizuochi T, Ueki I, Kurosawa T, Muto A, Takei H. Neonatal cholestasis with increased 3 $\beta$ -monohydroxy- $\Delta^5$  bile acids in serum and urine: not necessarily primary oxysterol 7 $\alpha$  hydroxylase deficiency. *Clin Chim Acta*. 2012 Oct 9;413(19-20):1700-4. 査読有 doi: 10.1016/j.cca.2012.05.016.

5. Mizuochi T, Kimura A, Tanaka A, Muto A, Nittono H, Seki Y, Takahashi T, Kurosawa T, Kage M, Takikawa H, Matsuishi T. Characterization of urinary bile acids in a pediatric BRIC-1 patient: effect of rifampicin treatment. *Clin Chim Acta*. 2012 Aug 16;413(15-16):1301-4. 査読有 doi: 10.1016/j.cca.2012.04.011.
6. Mizuochi T, Kimura A, Suzuki M, Ueki I, Takei H, Nittono H, Kakiuchi T, Shigeta T, Sakamoto S, Fukuda A, Nakazawa A, Shimizu T, Kurosawa T, Kasahara M. Successful heterozygous living donor liver transplantation for an oxysterol 7 $\alpha$ -hydroxylase deficiency in a Japanese patient. *Liver Transpl*. 2011 Sep;17(9):1059-65. 査読有 doi: 10.1002/lt.22331.
7. Mizuochi T, Kimura A, Ueki I, Takahashi T, Hashimoto T, Takao A, Seki Y, Takei H, Nittono H, Kurosawa T, Matsuishi T. Molecular genetic and bile acid profiles in two Japanese patients with 3 $\beta$ -hydroxy- $\Delta^5$ -C27-steroid dehydrogenase/isomerase deficiency. *Pediatr Res*. 2010 Sep;68(3):258-63. 査読有 doi: 10.1203/00006450-201011001-00505.
8. 水落建輝, 木村昭彦: 先天性胆汁酸代謝異常. *小児内科* 2011;43:1042-1045. 査読有
9. 水落建輝, 木村昭彦: 胆汁酸代謝異常症 - 診断へのアプローチと 1 次胆汁酸療法 -. *小児科臨床* 2010; 63: 2081-2087. 査読有

[学会発表] (計 6 件)

1. Tatsuki Mizuochi. Molecular genetics in Asian patients with inborn errors of bile acid synthesis. The 4th World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Oral Presentation. 2012.11.14-18 (Taipei, Taiwan)
2. 水落建輝. 3 $\beta$ -HSD 欠損症の邦人 2 例に対する分子遺伝学的解析と胆汁酸プロフィール. 第 39 回日本小児栄養消化器肝臓学会・第 29 回日本小児肝臓研究会 2012.7.13-15 (大阪)
3. 水落建輝. 胆汁酸代謝異常症. 第 115 回日本小児科学会学術集会分野別シンポジウム「代謝性肝疾患の最前線」.

2012.4.20-22 (福岡)

4. 水落建輝. 胆汁酸代謝異常症. 第 53 回日本先天代謝異常学会. 2011.11.24-26 (千葉)
5. 水落建輝. Oxysterol 7 $\alpha$  欠損症に対する遺伝子解析と生体肝移植－世界初の肝移植救命例の報告－. 第 114 回日本小児科学会学術集会. 2011.8.12-14 (東京)
6. 水落建輝. 新生児肝炎の鑑別疾患としての胆汁酸代謝異常症－本邦における診断法の確立－. 第 113 回日本小児科学会学術集会. 2010.4.23-25 (岩手)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水落 建輝 ( MIZUOCHI TATSUKI )

久留米大学・医学部・助教

研究者番号 : 20368921