

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 26 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461552

研究課題名(和文)薬剤性カルニチン欠乏症の臨床像と病態に関する研究

研究課題名(英文)A study on clinical features and pathophysiology of drug-induced carnitine deficiency

研究代表者

小林 弘典 (Kobayashi, Hironori)

島根大学・医学部・助教

研究者番号：70397868

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：主にピボキシル基による薬剤性カルニチン欠乏症に注目した。これらはタンデムマスによるアシルカルニチン分析を用いると、遊離カルニチンの低下とC5アシルカルニチン(C5)の上昇が見られる。C5上昇を来す薬剤としてピボキシル基を含む抗菌薬とシベレスタットNaがある。ピボキシル基を含む抗菌薬によるカルニチン欠乏症は、25症例の症例を集積し、1歳台に低血糖を伴う脳症として発症する事が多く、2週間以内の内服でも発症する事を明らかにした。また、シベレスタットによるC5上昇例を2例報告した。  
in vitro probe assayによる培養皮膚線維芽細胞内外のアシルカルニチン濃度を測定する系を確立した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we mainly focused on secondary carnitine deficiency due to pivalate-conjugated drugs. We retrospectively investigated the age, clinical manifestations, PCA administration period, and background of 25 patients who showed a decrease in free carnitine (C0, nmol/mL) concomitant with an increase in pivaloyl carnitine (C5) on acylcarnitine analysis with tandem mass spectrometry. Carnitine deficiency resulting from PCA treatment was most frequently observed in 1-year-old infants. Most patients manifested acute encephalopathy and/or hypoglycemia. Some patients developed carnitine deficiency after PCA administration for <14 days. We reported two patients who showed increased value of C5 by sivelestat sodium.  
In the present study, we developed an in vitro probe assay for analyzing intra-and extra-cellular ACs.

研究分野：先天代謝異常症、小児内分泌学

キーワード：カルニチン欠乏症 タンデムマス ピボキシル基 シベレスタット 遊離カルニチン 全身性カルニチン欠乏症 急性脳症 低血糖

## 1. 研究開始当初の背景

カルニチンはこの長鎖脂肪酸をミトコンドリア内に取り込むための必須の輸送体である。ミトコンドリアに入った長鎖脂肪酸はそこで酸化を受け、エネルギー供給源となり、特にブドウ糖によるエネルギー供給が低下した場合に重要な役割を果たす。カルニチン欠乏症では、ミトコンドリアにおける酸化を行う事が出来ず、感染や長時間の飢餓を契機として、低血糖や肝機能障害、急性脳症、ライ様症候群などで急性発症する事が知られている。申請者は先天的にカルニチン欠乏症をきたす全身性カルニチン欠乏症 (OCTN2 異常症) を含む脂肪酸代謝異常症に関する研究の経験から、先天代謝異常症ではないが、二次性にカルニチン欠乏症をきたし、重篤な発症形態をとる症例が数多く存在することに気付いた。その原因には、ピボキシル基を含む抗菌薬の長期内服やバルプロ酸 (VPA) 内服に伴うもの、特殊治療ミルクや成分栄養剤によるもの、透析によるものなどがあつたが、それらの頻度は決して稀ではなかった。その中でも抗菌薬等は使用頻度の高い薬剤であり、これらの薬剤による二次性カルニチン欠乏症患者の臨床像や発症機序を明らかにする事は臨床的に重要である。ピボキシル基を含む抗菌薬は一般臨床においても使用頻度の高い薬剤である。ピボキシル基は吸収されると速やかにピバリン酸と抗菌成分に分かれ、ピバリン酸は血中のカルニチンと抱合しピバロイルカルニチンとなる。ピバロイルカルニチンの尿中排泄により体内のカルニチン消費がおこり、感染などを契機に急性脳症として発症する例が少数報告されているが、多数例の報告はない。また、臨床像やリスク因子なども明らかでなく、潜在的なリスクなども明らかでない部分が多かつた。

また、薬剤性カルニチン欠乏症を惹起する潜在的な遺伝的背景などについても不明な点が多く、治療による合併症予防などの観点からもこれらの病態を明らかにする事が望まれていた。

## 2. 研究の目的

本研究では、以下を目的として研究を行った。

- (1) ピボキシル基を含む抗菌薬などの薬剤による二次性カルニチン欠乏症を来した症例を集積し、それらの臨床的な特徴を明らかにする
- (2) 培養皮膚線維芽細胞を用い、遺伝学的背景の有無による薬剤性カルニチン欠乏症発症リスクの検討する

## 3. 研究の方法

- (1) 薬剤性カルニチン欠乏症患者の収集および詳細な情報収集

タンデムマスによるアシルカルニチン分析を用いて、臨床像からカルニチン欠乏症が疑われた症例のスクリーニングを行い、薬剤性

カルニチン欠乏症を来した症例の収集を行った。ピボキシル基を含む抗菌薬によるカルニチン欠乏症の場合は遊離カルニチン低値に加え、C5 アシルカルニチン (C5) の上昇がみられること、C5 上昇が見られる先天代謝異常症であるイソ吉草酸血症が臨床経過や尿中有機酸分析などで否定されたこと、を条件として症例の収集を行った。

また、研究者らがこれまでに行ったアシルカルニチン分析の結果から上記の基準によってピボキシル基を含む抗菌薬によるカルニチン欠乏症と診断された症例を後方視的に検討し、主治医にたいしてアンケート等を用い情報収集を行った。

- (1) 遺伝学的背景の有無による薬剤性カルニチン欠乏症発症リスクの検討

培養皮膚線維芽細胞を用いて、これまでに確立している *in vitro* probe assay を改良し、カルニチンサイクル異常症の診断を目指した実験系の確立を検討した。

発見されたカルニチン欠乏症患者において全身性カルニチン欠乏症の患者もしくは保因者の有無を検討するため、同疾患の責任遺伝子である *SLC22A5* の解析を同意が得られた症例について行った。

## 4. 研究成果

- (1) ピボキシル基を含む抗菌薬による二次性カルニチン欠乏症の臨床像に関する研究

過去の分析症例および本研究期間中に、ピボキシル基を含む抗菌薬による二次性カルニチン欠乏症と診断された 25 症例についてそれらの臨床像やリスク因子についての検討を行った。患者年齢は 2 ヶ月から 42 歳 (中央値 1 歳 11 ヶ月) であつた。10 症例が何らかの基礎疾患を有していた。17 症例が急性脳症として発症しており、そのうち 16 例は低血糖症を伴っていた。25 例中 4 例は急性脳症を伴わない低血糖症が発見の診断の契機になっていた。抗菌薬の内服期間と遊離カルニチン値との明らかな相関は見られなかつた。発症年齢については 1 歳台が 12 症例、2 歳台が 1 例、1 歳未満が 1 例、残りの 11 例が 3 歳以上での発症であつた。内服期間については 11 例が 15 日以上抗菌薬内服後に発症していたが、14 日以内の内服期間で発症した例も 8 例であつた。

本研究からはピボキシル基を含む抗菌薬による二次性カルニチン欠乏症は 1 歳児において最も多く発症する事が明らかになった。発症形態は重篤であり、低血糖を伴う急性脳症として発症する例が多かつた。また、3 歳以降に発症する場合は患者背景として何らかの基礎疾患を有する場合が多い事が明らかになった。1 歳台での発症が多い理由としてはこの時期は肝酵素の未熟性により体内におけるカルニチン生成量が少ないこと、上気道炎や胃腸炎といった急性感染症罹患の機

会が多く食事から摂取するカルニチン量も不安定になりやすいこと、抗菌薬の処方を受ける機会が相対的に増えること、などが考えられた。

抗菌薬の内服期間については 14 日以内の内服期間であってもカルニチン欠乏をともなあって発症する例がある事が明らかになったが、患者の遺伝学的な背景や栄養状態や体格などがカルニチン欠乏症のきたしやすさに関与している可能性が考えられた。

## (2) シベレスタットナトリウムによる二次性カルニチン欠乏症に関して

タンデムマスによるアシルカルニチン分析による代謝スクリーニングからシベレスタットナトリウムを使用した患者において C5 アシルカルニチンの上昇がみられた症例を発見した。発見された 2 例のうち 1 例は日齢 14 の超低出生体重児であり遊離カルニチンの低下も伴っていた。もう 1 例は 4 歳の化学療法中に急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) を来した症例で、C5 上昇はみとめたものの遊離カルニチン低下は認めなかった。2 症例はいずれもカルニチン欠乏症が原因と考えられる臨床所見は見られなかったが、これは輸液などにより脂肪酸代謝への負荷が軽減されていた事が理由と考えられた。一方、シベレスタットナトリウムによるカルニチン欠乏症の報告はこれまでに無く、今後の情報の蓄積が望まれる。

## (3) 遺伝学的背景の有無による薬剤性カルニチン欠乏症発症リスクの検討 培養皮膚線維芽細胞を用いた in vitro probe assay (IVP)

本研究では既報の IVP アッセイを改良し、培養皮膚線維芽細胞内外のアシルカルニチン濃度を測定するための実験系を確立した。確定診断されている脂肪酸代謝異常症 (全身性カルニチン欠乏症 4 名、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症 3 例) 健常コントロールを 4 例について、培養皮膚線維芽細胞内外のアシルカルニチン分析を行った。細胞内 C0/細胞外 C0 比を検討すると、CPT1 欠損症では細胞内カルニチン濃度の上昇を反映して高値となり、全身性カルニチン欠乏症症例では細胞内遊離カルニチン低値を反映しコントロールの 1/10 以下と著しく低値である事が確認できた。

研究期間に同定した、4 日間のピボキシル基を含む抗菌薬内服後に低血糖性脳症を発症した 1 歳男児例について、前述の IVP アッセイを行ったところ、細胞内 C0/細胞外 C0 比は健常コントロールよりは低いものの全身性カルニチン欠乏症例とは明確な区別が可能であった。本症例については全身性カルニチン欠乏症の責任遺伝子である *SLC22A5* の変異は同定されておらず、何らかの細胞内カル

ニチン濃度を低下させる機序の存在が示唆された。

## *SLC22A5* 遺伝子の解析

ピボキシル基を含む抗菌薬による二次性カルニチン欠乏症をきたした症例のうち、14 日以内の内服で発症したなかから同意が得られた 4 例について *SLC22A5* の解析を行った。いずれの症例についても同遺伝子の変異は同定されなかった。

## 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 7 件)

Kobayashi H, Fukuda S, Yamada K, Hasegawa Y, Takahashi T, Purevsuren J, Yamaguchi S. Clinical Features of Carnitine Deficiency Secondary to Pivalate-Conjugated Antibiotic Therapy. *J Pediatr* 査読あり 2016 Jun;173:183-7

中澤 枝里子, 菊池 信行, 小林 弘典, 長谷川 有紀, 窪田 満, 山口 清次. 新生児マススクリーニングを契機に診断された母の全身性カルニチン欠乏症、日本マススクリーニング学会雑誌、査読有り、2016 (掲載決定)

Yamada K, Kobayashi H, Bo R, Takahashi T, Purevsuren J, Hasegawa Y, Taketani T, Fukuda S, Ohkubo T, Yokota T, Watanabe M, Tsunemi T, Mizusawa H, Takuma H, Shioya A, Ishii A, Tamaoka A, Shigematsu Y, Sugie H, Yamaguchi S. Clinical, biochemical and molecular investigation of adult-onset glutaric acidemia type II: Characteristics in comparison with pediatric cases. *Brain Dev.* 査読有り 2016 Mar;38(3):293-301

Takahashi T, Yamada K, Kobayashi H, Hasegawa Y, Taketani T, Fukuda S, Yamaguchi S. Metabolic disease in 10 patients with sudden unexpected death in infancy or acute life-threatening events. *Pediatr Int.* 査読有り 2015 Jun;57(3):348-53

桑原優, 岡本典子, 城賀本敏宏, 元木 崇裕, 中野威史, 林正俊, 山田健治, 小林弘典, 山口清次: スクリーニング後に発症したカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ二欠損症. *日本小児科学会雑誌*、査読有り 119(6): 1024-1028, 2015

原口康平, 里龍晴, 伊達木澄人, 時沢 亜佐子, 白川利彦, 中富明子, 長谷川 有紀, 山田健治, 小林弘典, 山口清次, 森内浩幸: 急性期にアシルカルニチン

分析で異常を示さなかったグルタル酸血症1型の1例. 日本小児科学会雑誌、査読有り 119(3): 595-599, 2015  
Yamada K, Kobayashi H, Bo R, Takahashi T, Hasegawa Y, Nakamura M, Ishige N, Yamaguchi S. Elevation of pivaloylcarnitine by sivelestat sodium in two children. Mol Genet Metab. 査読有り 2014 Nov;116(3):192-4

〔学会発表〕(計 4 件)

中澤枝里子, 山口清次, 小林弘典, 長谷川有紀, 窪田満, 菊池信行: 新生児マススクリーニングを契機に診断された母の全身性カルニチン欠乏症. 第57回日本先天代謝異常学会総会. 大阪国際会議場(大阪), 2015年11月12-14

李知子, 鶴田悟, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次, 飯島一誠, 竹島泰弘: 黄疸を契機に診断に至った全身性カルニチン欠乏症の一例. 第56回日本先天代謝異常学会. 江陽グランドホテル(仙台), 2014年11月13-15日

山田健治, 高橋知男, 小林弘典, 坊亮輔, 長谷川有紀, 山口清次: L-カルニチン内服によるアシルカルニチンプロファイルの変化. 第41回日本マス・スクリーニング学会. 広島大学(広島), 2014年8月22-23日

小林弘典, 山田健治, 高橋知男, 長谷川有紀, 山口清次: ピボキシル基を含む抗菌薬内服後の二次性カルニチン欠乏症22例の検討. 第117回日本小児科学会. 名古屋国際会議場(名古屋), 2014年4月11-13日

〔図書〕(計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 弘典 (KOBAYASHI, Hironori)

島根大学・医学部・助教

研究者番号: 70397868

(2) 研究分担者

なし( )

研究者番号:

(3) 連携研究者

なし( )

研究者番号: