

## 様式 C-19

# 科学研究費補助金研究成果報告書

平成 22 年 4 月 19 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006 ～ 2009

課題番号：18591155

研究課題名 (和文) Leigh 脳症をきたす新たなミトコンドリア機能異常症の解明と  
その治療法の確立

研究課題名 (英文) Diagnosis and treatment in the new mitochondrial dysfunction  
causing to Leigh syndrome

研究代表者

内藤 悦雄 (NAITO ETSUO)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・非常勤講師

研究者番号：30227706

研究成果の概要 (和文)：Leigh 脳症は乳幼児期に発症し、特異な画像所見、高乳酸血症、精神運動発達遅延などの中枢神経症状を伴うミトコンドリア機能異常症である。本研究では日本人 Leigh 脳症 74 例中半数の 37 例の病因を明らかにした。この内訳は PDHC 異常症 5 例、複合体 I 欠損症 4 例、複合体 IV 欠損症 4 例、ミトコンドリア DNA 異常症 24 例であった。上記のミトコンドリア機能正常でピルビン酸脱炭酸能が著明に低下していた新たな機能障害に基づく Leigh 脳症患児も見出した。

研究成果の概要 (英文)：Leigh syndrome is a neurodegenerative disease caused by defects in mitochondrial energy generation with onset typically in infancy. We investigated defects of pyruvate metabolism in 74 Japanese patients with Leigh syndrome. Defects identified in 37 patients (50%), i.e., PDHC deficiency in 5, NADH-cytochrome c reductase (complex I) deficiency in 4, cytochrome c oxidase (COX) deficiency in 4, and a point mutation of mitochondrial DNA in 24. One patient had the new mitochondrial dysfunction with decreased pyruvate decarboxylation rate.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,200,000	0	1,200,000
2007 年度	700,000	210,000	910,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
2009 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
総計	3,300,000	630,000	3,930,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：脳・神経、Leigh 脳症、高乳酸血症、高ピルビン酸血症、ミトコンドリア機能、ミトコンドリア DNA 異常症、ジクロロ酢酸ナトリウム、ビタミン B1、

### 1. 研究開始当初の背景

(1) ミトコンドリア機能異常症は細胞が生きるために必要なエネルギーを産生するミトコンドリアの機能障害により生ずる疾患群である。本疾患では種々の臨床症状を呈するが、特にエネルギー供給を常に必要とする中枢神経系や筋肉において症状が出現しやすい。ミトコンドリア機能異常症の中には進行性の神経症状を主症状とする Leigh 脳症がある。この Leigh 脳症は乳幼児期に発症し、中枢神経系の特異的な画像所見および高乳酸血症・高ピルビン酸血症を呈し、精神運動発達遅延、痙攣などの中枢神経症状を伴う小児難病である。この Leigh 脳症は種々の病因に基因している。これまでにはピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDHC) の異常や電子伝達系酵素異常やミトコンドリア DNA 異常などが報告されている。

(2) Leigh 脳症の一部の病因は明らかにされてきたが、まだ治療法は確立されていない。

### 2. 研究の目的

(1) 日本人の Leigh 脳症患者における病因を明らかにし、Leigh 脳症をきたす新たなミトコンドリア機能異常症の解明を行う。

(2) Leigh 脳症の種々の治療法を検討し、これらより治療法を確立する。

### 3. 研究の方法

(1) これまでに全国の医療施設から約 1000 例の高乳酸血症患者の診断を依頼されており、これらの中の Leigh 脳症患者 74 例からのリンパ球を株化した培養リンパ球や皮膚から得られた培養皮膚線維芽細胞を用いて、種々の酵素活性測定による酵素診断、DNA 検索による遺伝子診断を行った。

(2) 病因診断を依頼された Leigh 脳症患者において試みられた治療法について検討した。

### 4. 研究成果

(1) 本研究で行った日本人 Leigh 脳症 74 例 (男 43 例、女 31 例) の病因解明では半数の 37 例 (男 25 例、女 12 例) において病因を明らかにすることができ、残り半数の 37 例 (男 18 例、女 19 例) は病因不明であった (表 1)。この内訳は PDHC 異常症 5 例、複合体 I 欠損症 4 例、複合体 IV 欠損症 4 例、ミトコンドリア DNA 異常症 24 例 (A3243G 変異は 1 例、A8344G 変異は 1 例、T8993C 変異は 3 例、T8993G 変異は 17 例、G13513A 変異は 2 例) であり、日本人の半数の Leigh 脳症患者では病因が明らかにできた。Leigh 脳症の 65% がミトコンドリア DNA 異常症であり、その中では T8993G 変異が最も多かった。

表 1

	合計	男	女
Leigh 脳症 (診断依頼数)	74 例	43 例	31 例
Leigh 脳症 (診断不明数)	37 例	18 例	19 例
Leigh 脳症 (診断確定数)	37 例	25 例	12 例
PDHC 異常症	5 例	5 例	0 例
複合体 I 欠損症	4 例	3 例	1 例
複合体 IV 欠損症	4 例	3 例	1 例
ミトコンドリア DNA 異常症	24 例		
A3243G 変異	1 例	1 例	0 例
A8344G 変異	1 例	0 例	1 例
T8993C 変異	3 例	2 例	1 例
T8993G 変異	17 例	10 例	7 例
G13513A 変異	2 例	1 例	1 例

(2)PDHC異常症5例は全例男児であり、これらのE1 $\alpha$ サブユニット遺伝子変異はC101F変異が1例、S152P変異が1例、L216F変異が1例、R263G変異が2例であり、全例においてビタミンB1大量療法が有効であった。

(3)複合体IV欠損症は3例が男児であり、1例が女児であった。これらのSURF-1遺伝子解析ではエクソン5の2塩基欠失のホモ変異が2例でみられ、1例はエクソン7のナンセンス変異とエクソン8の8個のアミノ酸欠失の変異のコンパウンドヘテロであった。(4)Leigh脳症の乳児例における検討ではPDHC活性は正常であったが、PDHC活性に非常に関連があるピルビン酸脱炭酸能がPDHC欠損症患者とほぼ同レベルに低下していた(表2)。このようにPDHC活性は正常でありながら、ピルビン酸代謝障害を呈する新たなミトコンドリア機能異常に起因するLeigh脳症患者を見出した。

表2

	ピルビン酸脱炭酸能 <sup>1)</sup>	PDHC活性 <sup>2)</sup>
Leigh脳症乳児例	30.7	4.24
PDHC欠損症患者	33.5	1.41
正常対照	118.2	4.01

1) nmol/hr/mg protein

2) nmol/min/mg protein

(5)現時点では、Leigh脳症に対する根本治療法は未だ確立されていないが、一部有効な治療がみられたのはジクロロ酢酸ナトリウムが12例で、ビタミンB1が6例で、ACTHが4例において有効であった。これらの治療法を組み合わせることも必要である。

## 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) Masafumi Morimoto, Akira Nishimura, Etsuo Naito, Tohrun Sugimoto, Treatment for Leigh syndrome by monitoring dichloroacetate concentration, *Pediatrics International*, 査読有、Vol 51、pp293-312, 2009年
- (2) 内藤悦雄、高乳酸ピルビン酸血症、小児内科、査読無、41、369-375, 2009年
- (3) Hiromichi Ito, Kenji Mori, Masafumi Harada, Masako Minato, Etsuo Naito, Mayumi Takeuchi, Yasuhiro Kuroda, Shoji Kagami, Serial brain imaging analysis of stroke-like episodes in MELAS, 査読有、Vol 30, 483-488, 2008年
- (4) Go Tajima, Nobuo Sakura, Kenichiro Shirao, Satoshi Okada, Miyuki Tsumura, Yutaka Nishimura, Hiroaki Ono, Yuki Hasegawa, Ikue Hata, Etsuo Naito, Seiji Yamaguchi, Yosuke Shigematsu, Nasao Kobayashi, Development of a new enzymatic diagnosis method for very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency by detecting 2-hexadecenoyl-CoA production and its application in tandem mass spectrometry-based selective screening and newborn screening in Japan, *Pediatric Research*, 査読有、Vol 64.No6, pp667-672, 2008年
- (5) Hiromichi Ito, Kenji Mori, Miho Sakata, Etsuo Naito, Masafumi Harada, Masako Minato, Hiroko Kodama, Yan-Hong Gu, Yasuhiro Kuroda, Shoji Kagami, Pathophysiology of the transient temporal lobe lesion in a patient with Menkes disease, 査読有、Vol 30, 483-488, 2008年
- (6) 内藤悦雄、タンデム質量計による新生児マス・スクリーニングが早期発見・治療に有用であったグルタル酸血症I型女児例、*特殊ミルク情報*, 査読無 44, 9-12, 2008年
- (7) 内藤悦雄、ミトコンドリア異常症、*小児内科増刊号*、査読無、39, 529-532, 2007年
- (8) 内藤悦雄、代謝性アシドーシスの治療、*小児科診療*、査読無、69, 1684-1689, 2006年
- (9) 内藤悦雄、ブドウ糖負荷試験、*小児内科*、査読無、38, 1475-1477, 2006年

[学会発表] (計 13 件)

- (1) 内藤悦雄、大山江里子、小谷裕美子、香美祥二、重松陽介；徳島県におけるタンデムマスによる新生児マススクリーニングの10年間の経過。第133回日本小児科学会徳島地方会。2009年12月6日、徳島
- (2) Etsuo Naito, T. Hashimoto, Y. Kotani, S. Kagami: Defects of pyruvate metabolism in cultured lymphoblastoid cells from 70 Japanese patients with Leigh syndrome. 59<sup>th</sup> American Society of Human Genetics. 2009年10月23日、Honolulu, Hawaii.
- (3) 内藤悦雄、西村美緒、島川清司、橋本俊顕、小谷裕美子、香美祥二：日本人105例のピルビン酸脱水素酵素複合体異常症の酵素診断遺伝子診断とその臨床像。日本小児神経学会総会。2009年5月29日、米子
- (4) 内藤悦雄、小谷裕美子、香美祥二、重松陽介：最近4年間で遺伝子診断した先天代謝異常症30例の臨床像。第131回日本小児科学会徳島地方会。2008年12月7日、徳島
- (5) 内藤悦雄、西村美緒、島川清司、小谷裕美子、香美祥二：培養細胞のピルビン酸脱水素酵素複合体活性が正常でE1 $\alpha$ サブユニット遺伝子変異を有していた15女児例の臨床像。日本小児神経学会総会。2008年5月29日、東京
- (6) 内藤悦雄、奥村恵子、小谷裕美子、品原久美、香美祥二：死亡6年後に確定診断ができたピルビン酸脱水素酵素欠損症の1男児例。第131回日本小児科学会徳島地方会。2007年12月9日、徳島
- (7) Etsuo Naito, T. Hashimoto, Y. Kotani, S. Kagami: Mutation analysis of the pyruvate dehydrogenase E1 alpha gene in 70 Japanese patients with a pyruvate dehydrogenase complex deficiency. 57<sup>th</sup> American Society of Human Genetics. 2007年10月25日、San Diego CA.
- (8) 内藤悦雄、西村美緒、島川清司：ジクロロ酢酸ナトリウム療法を13年間続けたG291R変異を有したピルビン酸脱水素酵素欠損症の1女児例。日本小児神経学会総会。2007年7月6日、大阪
- (9) Etsuo Naito, T. Hashimoto, Y. Kotani, S. Kagami: Defects of pyruvate metabolism in cultured lymphoblastoid cells from 64 Japanese patients with Leigh syndrome. 9<sup>th</sup> Asian Oceanian Congress of Child Neurology. 2007年1月26日 Cebu City, Philippines.
- (10) 内藤悦雄、西村美緒、島川清司、中川竜二：ジクロロ酢酸ナトリウム療法を14年間継続し得たピルビン酸脱水素酵素欠損

症の1女児例。第129回日本小児科学会徳島地方会。2007年6月9日、徳島

- (11) 内藤悦雄、小谷裕美子、品原久美、香美祥二：チロシン血症 III 型と思われる1女児例。第127回日本小児科学会徳島地方会。2006年12月6日、徳島
- (12) Etsuo Naito, T. Hashimoto, Y. Kotani, S. Kagami: Biochemical and molecular analysis of 14 patients with thiamin-responsive pyruvate dehydrogenase deficiency. 56<sup>th</sup> American Society of Human Genetics. 2006年10月10日、New Orleans, LA
- (13) 内藤悦雄、小谷裕美子、品原久美、香美祥二、重松陽介、但馬剛：タンデムマス質量分析計による新生児マススクリーニングで発見されたメチルマロン酸血症の1女児例。第126回日本小児科学会徳島地方会。2006年6月17日、徳島

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

内藤 悦雄 (NAITO ETSUO)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・非常勤講師

研究者番号：30227706