

令和 4 年 6 月 19 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11638

研究課題名(和文) 小児の脂肪性肝炎発症におけるセルロプラスミン関連遺伝子の関与

研究課題名(英文) Analysis of ceruloplasmin-related genes in pediatric patients with nonalcoholic fatty liver diseases.

研究代表者

田川 学 (Tagawa, Manabu)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：50714606

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：【背景】小児においては遺伝性代謝性疾患が非アルコール性脂肪性肝疾患と類似した臨床像を呈することがあり、その鑑別が求められる。【目的】肥満症の小児における肝機能障害と、セルロプラスミン(CP)の合成・代謝に関与する遺伝子変異の関連を検討した。【方法】DNAを全血から抽出し、5つの遺伝子(PANK2、PLA2G6、CP、ATP7B、LIPA)を次世代シーケンサーシステムで解析した。【結果】解析対象は4名。いずれの症例においても、遺伝子変異を指摘できなかった。【結語】肥満症の小児にみられる肝機能障害は、CP代謝に関連する遺伝子変異とは関連ないと思われた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

成人において非アルコール性脂肪性肝疾患は生活習慣病の一つとして認識されているが、小児においては先天性の代謝性疾患が同様の臨床像を呈することがあるため、その鑑別が求められる。本研究では、肥満の小児における肝機能障害の成因のひとつとして、セルロプラスミン代謝に関連する遺伝子変異を解析した。結果として、症例数が多くないこともあり、対象4名に当該遺伝子異常を指摘できなかった。一般人口における代謝性疾患の発症頻度は高くないため、小児においても肥満と肝機能障害を認めた際には、まずは成人と同様に生活習慣の改善などを指導するのがよいと思われた。

研究成果の概要(英文)：Background: In adults, nonalcoholic fatty liver disease is recognized as a lifestyle-related disease, but in children, congenital metabolic diseases may present a similar clinical picture and must be differentiated. Methods: We examined for mutations in genes involved in ceruloplasmin synthesis and metabolism in children with obesity and liver dysfunction. Written informed consent for the study was taken from the patient and the parent. DNA was extracted from whole blood and five genes (PANK2, PLA2G6, CP, ATP7B, and LIPA) were analyzed using a next-generation sequencing system (Thermo Fisher Scientific). Results: Four patients were included in this study. No pathological mutations were detected in any of the patients. Conclusions: Liver dysfunction in obese children did not appear to be associated with mutations in genes related to ceruloplasmin metabolism.

研究分野：消化器病学

キーワード：小児 肥満 脂肪性肝炎 セルロプラスミン

1. 研究開始当初の背景

小児科においては、脂肪肝・脂肪性肝炎の成因のひとつとして先天性遺伝子性代謝性疾患が知られている。その中でも頻度の高い疾患として、シトリン欠損症や Wilson 病などの代謝異常症が挙げられるが、その他の多くの脂質異常症、蛋白質代謝異常症やミトコンドリア病でも臨床的に脂肪肝を呈する。これらの代謝異常症のなかには治療可能な疾患が含まれること、またその治療はそれぞれ異なることから、生活習慣に起因する脂肪性肝炎と誤診され、治療が遅れてはならない。

小児の肝臓病疾患の診療において、Wilson 病ではないが血清セルロプラスミン値が低い症例にしばしば遭遇する。セルロプラスミンは Wilson 病の診断に有用な手がかりを与えてくれる血清蛋白である。元来、セルロプラスミンの機能は銅代謝に関わるだけでなく、鉄代謝に関与する。まれな疾患として無セルロプラスミン血症が知られており、この疾患は成人期に貧血、糖尿病、神経症状を呈するが、病態は全身臓器への鉄沈着によると考えられている。本疾患では必ずしも肝機能障害を呈するわけではない。これらのことから、血清セルロプラスミンの低値が肝機能障害を呈するとは考えにくい。鉄沈着は肝機能障害を二次的に生じることが知られており(ヘモジデロシス)臨床的にもウイルス性肝炎などでは瀉血が治療として行われている。

また無セルロプラスミン血症と類似の臨床症状を呈する遺伝子異常も知られている。その責任遺伝子として PANK2、PLA2G6 が知られている。これらの遺伝子異常と肝機能障害との関連はあきらかではない。

これらの臨床的事実を背景として、小児における肝機能障害の原因のひとつとして、セルロプラスミン代謝および関連疾患の遺伝子異常が関与しているという仮説のもとで本研究を計画した。

2. 研究の目的

成人においては脂肪性肝炎の病態進展と遺伝子変異との関連が示されている(PNPLA3 など)が、必ずしも成因ではない。小児においては、このような検討はまだ十分になされておらず、遺伝子解析技術の進歩から、新たな関連遺伝子が見いだされる可能性もあると思われる。今回、実地臨床で特異な検査所見を呈する患者を対象として遺伝子解析を行うことで新たな知見が得られると考えた。そこで、本研究では、肥満症および肝機能障害を伴う小児において、セルロプラスミンの合成に関与する遺伝子の異常の有無を検討することとした。

3. 研究の方法

肥満および肝機能障害のために筑波大学附属病院小児科通院中で、血清セルロプラスミン値が低値である症例を対象とした。しかし当初想定していた患者はコロナウイルス感染拡大のため受診することができないまま転居された。そのため、想定していた患者以外でもセルロプラスミン低値である患者、さらには原因不明の肥満、肝機能障害症例を解析対象とした。対象患者およびその代諾者へ研究内容を説明し、書面にて研究同意を取得した。日常診療の血液検査で得られた全血検体および血清検体を実験日までマイナス 30 の冷凍庫にて保管した。

1. 遺伝子抽出および解析：全血は室温へ復帰させたのち、KIAGEN 社の QIAamp DNA Blood Mini Kit を用いて、取扱説明書通りに DNA を抽出した。得られた DNA 検体の精度は吸光度計にて良好である事を確認した。遺伝子は、当院に設置されている次世代シーケンサーシステムを用いて解析した(サーモフィッシャーサイエンティフィック社 Ion Chef System、Ion PGM System)。

2. 遺伝子ライブラリー作成：以下の遺伝子を含むライブラリーを作成し、解析をおこなった(PANK2、PLA2G6、CP、ATP7B、LIPA)。

4. 研究成果

解析対象は 4 名。内訳は、血清セルロプラスミン値が 22mg/dl と正常下限の男性患者 1 名、3 名は 30-40mg/dl と正常範囲の患者 3 名(男性 1 名、女性 2 名)。いずれの症例においても、PANK2、PLA2G6、CP、ATP7B、LIPA 遺伝子に病的変異を指摘できなかった。

今回の結果は、解析症例が少なかったことに起因すると考えられた。しかし、一般人口における代謝性疾患の発症頻度は高くないため、多数の症例を集積して解析しても同様の結果となることも想定される。肥満症および肝機能障害を伴う小児患者の实地臨床において、代謝性疾患として頻度の高い Wilson 病やシトリン欠損症などを除外したうえで、成人と同様に生活習慣の改善などを指導し、改善が見られない場合にまれな代謝性疾患などを検討するのがよいと思われた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 今川和生、森田篤志、田川学、須磨崎亮
2. 発表標題 Alagille症候群における肝外合併症の検討
3. 学会等名 日本肝臓学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田川 学, 森田 篤志, 今川 和生, 高田 英俊
2. 発表標題 肥満症に併発した重症急性膵炎の14歳女児
3. 学会等名 日本小児栄養消化器肝臓学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 田川学	4. 発行年 2021年
2. 出版社 診断と治療社	5. 総ページ数 4
3. 書名 小児科診療	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------