

## 概要

千葉県こども病院遺伝診療センター・代謝科の志村優医員、村山圭部長、国立成育医療研究センター臓器移植センター 笠原群生センター長、順天堂大学・難病の診断と治療研究センターの岡崎康司教授(センター長)、埼玉医科大学小児科/ゲノム医療科の大竹明教授、津山中央病院小児科 梶俊策主任部長、済生会横浜市東部病院小児肝臓消化器科 乾あやの部長らの研究グループが、本邦における重症型のミトコンドリア肝症\*1 である脳肝型ミトコンドリア DNA 枯渴症候群(MTDPS)\*2 と診断された 23 症例を対象に、その臨床的特徴、分子学的特性、長期経過、肝移植予後の検証を行い、その結果を論文報告しました。

本報告は、我が国だけでなくアジアにおいて初めて取りまとめられたミトコンドリア肝症の予後に関する大規模な報告であり、今後の創薬開発研究や、国内外の臨床試験に必要なエビデンスを提供するものと期待されます。

本研究成果は、希少難病を専門に扱う欧州の科学雑誌『Orphanet Journal of Rare Diseases』に報告しました。

## 研究成果のポイント

- ・ミトコンドリア肝症はミトコンドリア病\*3 全体の約 1 割を占めており、そのうち 23 例が重症型のミトコンドリア肝症だった。
- ・初発症状は約半数の症例が乳児期早期から成長障害を呈しており、乳児期の黄疸・胆汁うっ滞を 21 例(91%)で認めた。
- ・原因遺伝子は 18 例(78%)で同定され、*MPV17* が 13 例、*DGUOK3* 例、*POLG1* 例、*MICOS13* が 1 例だった。
- ・肝移植は 12 例に対して行われ、5 例が生存していた。
- ・*MPV17* 異常症において、肝移植前に重篤な神経症状を示さず、c.149G>A または c.293C>T を有する症例は比較的生命予後が良いことが明らかになった。

## 研究の背景

千葉県こども病院遺伝診療センター・代謝科/千葉県がんセンター研究所の研究グループ(代表村山圭)は、2007 年から埼玉医科大学小児科(大竹明教授)、順天堂大学難病の診断と治療研究センター(岡崎康司教授・センター長)と共同で、ミトコンドリア病の診療基盤構築(診断システムの確立、診断基準や診療マニュアルの策定、レジストリ構築)を行ってきました。その中で、津山中央病院の梶俊策部長とも連携し、ミトコンドリア肝症の分子遺伝学的診断やレジストリ構築を進めてきました。

肝障害を主症状とするミトコンドリア病(ミトコンドリア肝症)はこれまでほとんど知られていませんでした。ミトコンドリア肝症は、ミトコンドリア病と生化学診断された小児の 10~20%程度を占めます。なかでも重症型の脳肝型ミトコンドリア DNA 枯渴症候群はミトコンドリア DNA\*4 の維持や複製

に関わる蛋白の欠損により発症し、乳児期早期に肝不全を発症しうる、最重症の病型であることが知られています。

ミトコンドリア肝症に対する治療は、他のミトコンドリア病と同様に十分なエビデンスをもつ治療法が存在しないため、対症療法が中心となっています。しかしながら、本症では内科的治療でコントロールできない肝不全に対し、肝移植術が考慮されます。本邦での小児の肝移植後の5年生存率は85%以上ですが、海外の報告におけるミトコンドリア肝症に対する肝移植後生存率は、術後の肝外症状の悪化等により30%にとどまることが知られており、欧米のガイドラインでは肝移植の適応は、術前に肝外症状が存在しない症例にのみ考慮されています。しかしながら、ミトコンドリア病に対する肝移植治療の報告数は限られ、さらに症例毎に予後が大きく異なることが問題となっていました。

最近のマウスにおける研究により、MTDPSの原因遺伝子の一つであるMPV17はDNAやRNA等の核酸の複製に必要なデオキシヌクレオチド3リン酸(dNTP)の供給に参与していることが明らかになりました。MPV17異常症においてはミトコンドリア内のdNTPが不足することでmtDNAが枯渇することが知られており、海外においては核酸補充療法(dNTP補充療法)がMPV17異常症の新規治療候補として注目を集めています。

今回、本邦で初めてとなるミトコンドリア肝症の大規模な後方視的検討を行い、その研究結果を多施設共同論文として発表するに至りました。

## 研究の内容

### 対象・方法

2020年6月現在1140例のミトコンドリア病を診断し、約1割にあたる107例がミトコンドリア肝症です(図1)。そのなかで、重症型ミトコンドリア肝症である脳肝型ミトコンドリアDNA枯渇症候群と診断された23例の臨床的特徴、遺伝学的特性、肝移植の実施状況、長期予後を調査しました。

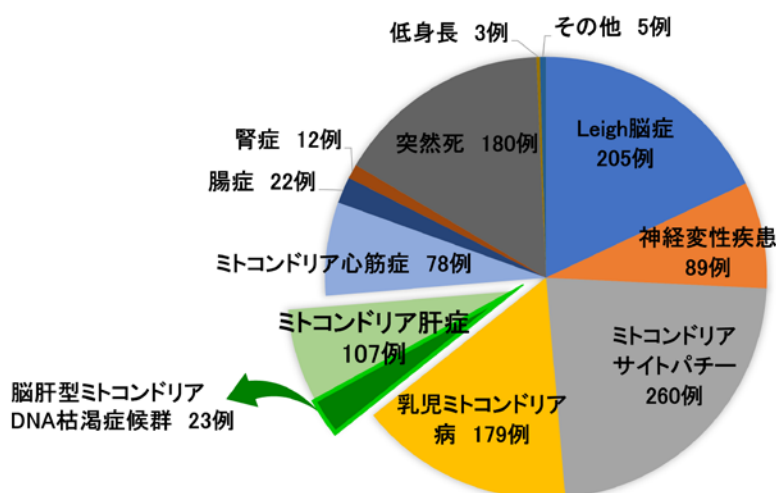


図1 ミトコンドリア病の臨床診断の内訳(2020年6月現在 累計1140例)

## 結果

重症型ミトコンドリア肝症 23 例の患者プロフィールを表 1 に示します。性別は男児 11 例、女児 12 例でした。初発症状として成長障害を 13 例、嘔吐 8 例、黄疸を 4 例で認めました。これらの初発症状は 20 例(87%)で乳児期早期から出現していました。ミトコンドリア呼吸鎖酵素活性は 22 例で解析し、複数の呼吸鎖酵素活性の低下が 19 症例において認められました。mtDNA 定量検査では、mtDNA コピー数の低下は 0.5~31.7%でした。遺伝子検査の結果、23 症例中 18 例で病因となる遺伝子変異が同定されました。MPV17 遺伝子が 13 例、DGUOK 遺伝子が 3 例、POLG 遺伝子 1 例、MICOS13 遺伝子が 1 例で同定されました(図 2)。

表 1 ミトコンドリア肝症の患者プロフィール (23 例)

No.	原因遺伝子	発症年齢	初発症状	障害酵素	%mtDNA in liver
1	MPV17	3ヶ月	成長障害, 筋緊張低下, 黄疸	CI+III+IV	7.8
2	MPV17	8ヶ月	成長障害, 黄疸	CI+III+IV	6.6
3	MPV17	1ヶ月	成長障害, 嘔吐	CI+III	9.8
4	MPV17	8ヶ月	成長障害	CI+III	20.5
5	MPV17	1ヶ月	成長障害	CI+III+IV	8.0
6	MPV17	1ヶ月	成長障害	CI+III+IV	1.2
7	MPV17	1ヶ月	成長障害, 嘔吐	CI+III+IV	3.4
8	MPV17	0ヶ月	成長障害, 嘔吐	NA	NA
9	MPV17	0ヶ月	多呼吸, 黄疸	CI+II	0.5
10	MPV17	7ヶ月	肝不全	CI+III	0.7
11	MPV17	1歳	嘔吐, 活気不良	CI+IV	7.1
12	MPV17	4歳	嘔吐, 活気不良	CI+III+IV	0.6
13	MPV17	7ヶ月	成長障害, 胆汁うっ滞	CI+III+IV	15.3
14	DGUOK	0ヶ月	多呼吸, 低体温, 低血糖	CI+III+IV	6.0
15	DGUOK	3ヶ月	成長障害, 頸定不良	CI+III+IV	3.0
16	DGUOK	0ヶ月	哺乳障害	CI+III+IV	2.3
17	POLG	4ヶ月	成長障害, 活気不良, 筋緊張低下, 嘔吐	CI+III+IV	3.3
18	MICOS13	3ヶ月	息こらえ	CI	11.5
19	ND	2ヶ月	成長障害, 嘔吐	CI	23.7
20	ND	1ヶ月	成長障害, 黄疸	CI+III	18.4
21	ND	0ヶ月	嘔吐	CI	31.7
22	ND	0ヶ月	低血糖, 乳酸アシドーシス	CI+IV	6.3
23	ND	4歳	肝逸脱酵素上昇	CI+III+IV	10.6

## 図 2 MTDPS 原因遺伝子

*MPV17*: mitochondrial inner membrane protein MPV17, *DGUOK*: deoxyguanosine kinase, *POLG*: DNA polymerase subunit gamma-1, *MICOS13*: mitochondrial contact site and cristae organizing system subunit 13

経過中に認められた肝症状を図 3 に示します。最も頻度の高い症状は胆汁うっ滞で 21 例で認め、肝腫大、脂肪肝、肝線維化はそれぞれ 15, 16, 17 例で認めました。また、経過中に肝不全を 20 例で認め、MPV17 異常症の 2 症例が肝細胞癌を発症しました。

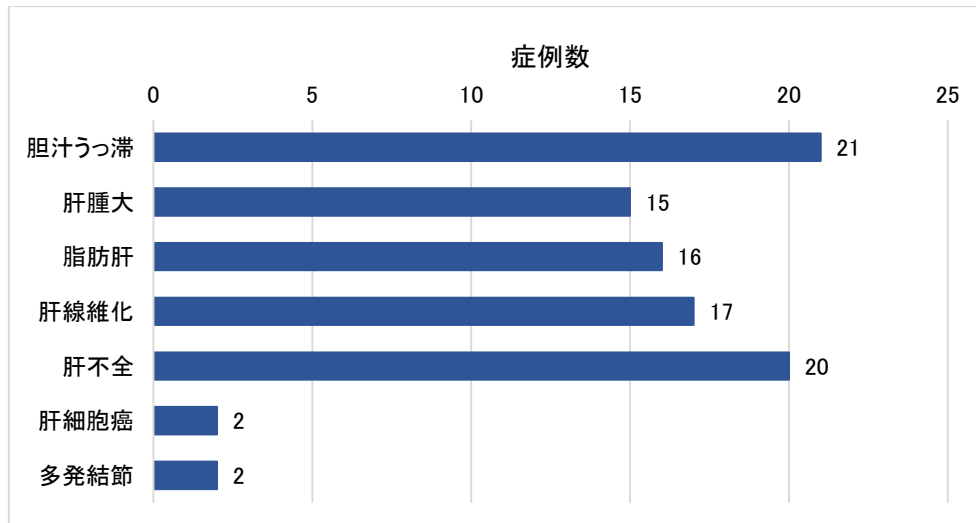


図 3 肝症状

ミトコンドリア病は ATP をミトコンドリアに依存する諸臓器を障害するため、ミトコンドリア肝症においても肝症状だけでなく、神経筋症状や心臓合併症など、様々な肝外症状を示します。最も頻度の高い肝外症状として成長障害を 18 例で認め、続いて高乳酸血症を 16 例、低血糖を 15 例で認めました(図 4)。神経筋症状で高頻度にみられたものは発達遅滞 13 例、筋緊張低下 8 例、けいれんを 4 例で認めました。また頭部 MRI 検査で大脳白質病変を 5 例に認めました。神経筋症状を

認めない症例は 5 例存在しました。消化器症状として経口摂取不良を 11 例、嘔吐 10 例、下痢を 5 例に認めました。また、肺高血圧症を 5 例に認めました(MPV17: 4 例, DGUOK: 1 例)。

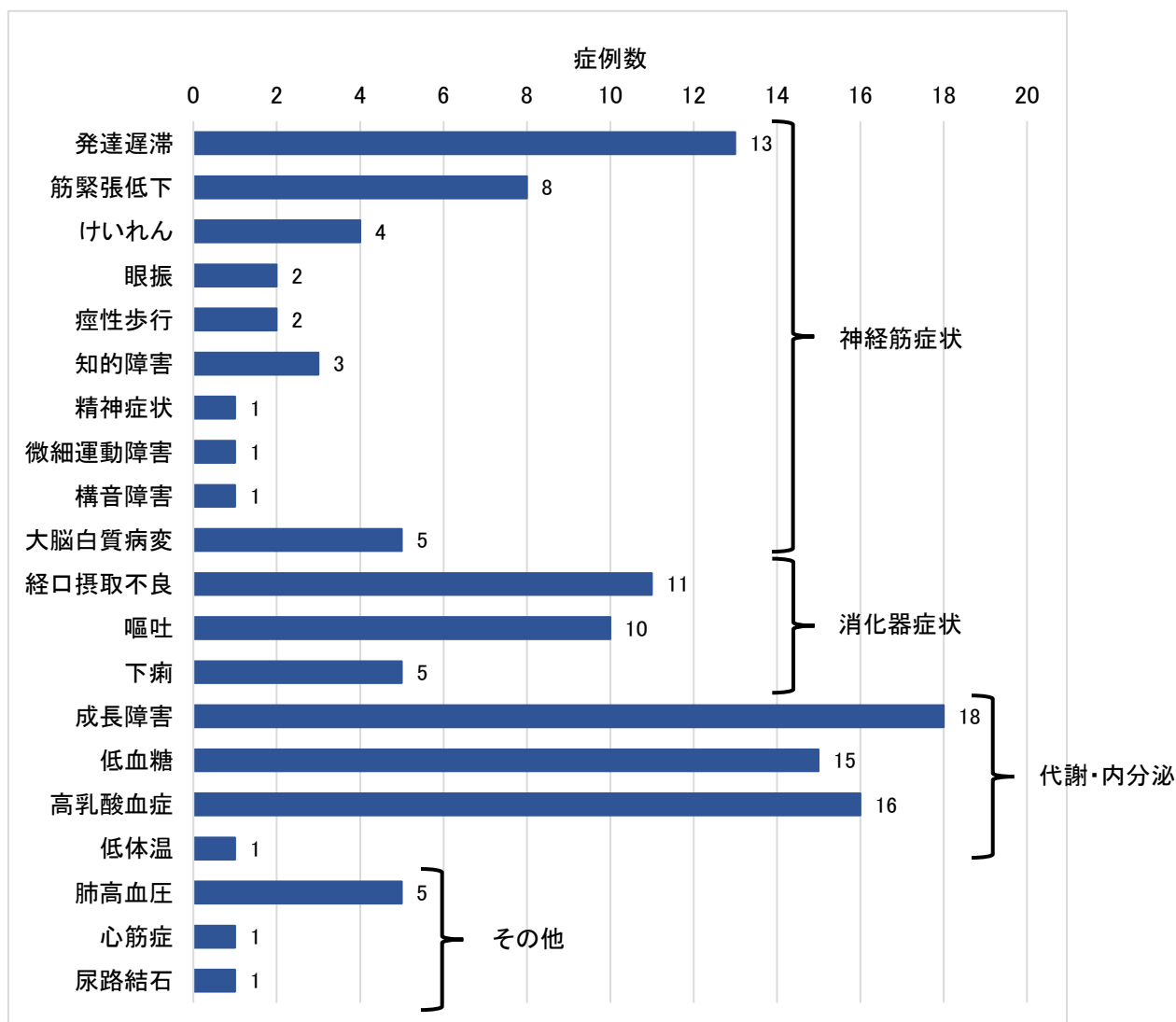


図 4 ミトコンドリア肝症の肝外症状

原因遺伝子変異の詳細、肝移植の実施状況、予後を表 2 に示します。MPV17 遺伝子に変異をもつ 13 例中 8 例において、c.451dupC が同定されました。c.451dupC をもつ MPV17 異常症は 2016 年に韓国からも報告がありますが、それ以外の国からの報告はないため、日本を含む東アジアの高頻度変異の可能性が考えられます。c.143-307\_170del335 は DGUOK 異常症の 3 症例において同定されました。MICOS13 異常症では、これまで報告のなかった新規変異 c.13\_29del が同定されました。

肝移植術は、MPV17 異常症 9 例、DGUOK 異常症 2 例を含む 12 症例において実施されました。肝移植の原因は、8 例は肝不全、2 例は肝細胞癌、2 例は多発結節でした。肝移植後、MPV17 異

常症 4 症例を含む 5 症例 (41.7%) が生存していました。また、肝移植を必要とせず生存している症例は MPV17 異常症の 1 例を含む 2 例が生存していました。移植前に神経症状を合併していた 9 例中 2 例が術後生存していた一方で、移植前に神経症状を認めなかった 3 症例は全例が生存しており、術前に神経症状を伴わない症例では、移植予後が良いことが明らかとなりました。しかしながら、術前に神経症状を認めなかった 1 症例においては、移植後 5 年経過してからてんかんや精神症状等の神経症状が出現していました。発症年齢別に移植予後を検討してみると、生後 6 カ月未満で発症した 8 症例のうち 2 症例が生存 (25%)、一方生後 6 か月以降に発症した 4 症例中 3 症例が生存しており (75%)、発症年齢が遅い方が予後が良いことが分かりました。

表 2 ミトコンドリア肝症の原因遺伝子変異、肝移植、予後

No.	原因遺伝子	アレル 1	アレル 2	神経学的異常		肝移植 (年齢)	予後
				移植前	移植後		
1	MPV17	c.451dupC : p.L151Pfs*39	c.509C>T : p.S170F	筋緊張低下	+	+(1才5ヶ月)	死亡 (1才10ヶ月)
2	MPV17	c.451dupC : p.L151Pfs*39	c.509C>T : p.S170F	筋緊張低下	+	+(6才)	死亡 (6才)
3	MPV17	c.451dupC : p.L151Pfs*39	c.148C>T : p.R50W			-	死亡 (1才2カ月)
4	MPV17	c.293C>T : p.P98L	c.376-1G>A			-	生存 (12才)
5	MPV17	c.451dupC : p.L151Pfs*39	c.451dupC : p.L151Pfs*39	発達遅滞、筋緊張低下	+	+(4ヶ月)	死亡 (1才9ヶ月)
6	MPV17	c.451dupC : p.L151Pfs*39	c.451dupC : p.L151Pfs*39	発達遅滞	+	+(11ヶ月)	死亡 (2才9ヶ月)
7	MPV17	c.451dupC : p.L151Pfs*39	c.71-2_79del11ins4	発達遅滞	+	+(1才)	死亡 (3才)
8	MPV17	c.451dupC : p.L151Pfs*39	c.293C>T : p.P98L	-	てんかん、精神症状	+(8ヶ月)	生存 (23才)
9	MPV17	c.451dupC : p.L151Pfs*39	c.308_310del : p.C103del			-	死亡 (10ヶ月)
10	MPV17	c.148C>T : p.R50W	c.149G>A : p.R50Q	軽度知的障害	頭痛	+(7才)	生存 (8才)
11	MPV17	c.148C>T : p.R50W	c.149G>A : p.R50Q	-	-	+(5才)	生存 (5才)
12	MPV17	c.148C>T : p.R50W	c.149G>A : p.R50Q	-	-	+(7才)	生存 (8才)
13	MPV17	c.148C>T : p.R50W	c.271_273del : p.L91del			-	死亡 (1才11ヶ月)
14	DGUOK	c.143-307_170del335	c.143-307_170del335			-	死亡 (9ヶ月)
15	DGUOK	c.143-307_170del335	c.143-307_170del335	発達遅滞、眼振	+	+(1才6ヶ月)	死亡 (1才7ヶ月)
16	DGUOK	c.143-307_170del335	c.743T>C : p.L248P	発達遅滞、眼振	+	+(8ヶ月)	死亡 (1才6ヶ月)
17	POLG	c.3554T>C : p.I1185T	c.2870C>T : p.A957V			-	死亡 (8ヶ月)
18	MICOS13	c.13_29del : p.W6Pfs*71	c.13_29del : p.W6Pfs*71			-	死亡 (8ヶ月)
19	ND	-	-	発達遅滞	+	+(9ヶ月)	生存 (16才)
20	ND	-	-			-	死亡 (7ヶ月)
21	ND	-	-			-	死亡 (1ヶ月)
22	ND	-	-			-	死亡 (7ヶ月)
23	ND	-	-			-	生存 (6才)

### 肝移植実施症例

最も頻度の多かった MPV17 異常症の遺伝子変異毎の予後を検討すると、c.451dupC を少なくとも 1 本のアレルにもつ 8 症例においては、1 例のみが生存していました。特に c.451dupC を 2 本もつ 2 症例は 1 歳未満で肝不全を発症し、肝移植を受けましたが、術後 2 年以内に死亡していました。同じ変異をもつ韓国の兄弟例も生後 6 か月で肝不全により死亡しており、c.451dupC を 2 本もつ症例は予後不良であることが示唆されました。一方で、c.149G>A または c.293C>T を少なくとも 1 本のアレルにもつ 5 症例 (1 症例は肝移植なし) は全例が生存しており、これらの変異をもつ症例は比較的軽症な表現型を示すことが分かりました。

MPV17 異常症に対する肝移植術は過去に論文報告された症例を検討すると、本邦の 9 症例を含めて計 20 症例に対して実施されていました。そのうち生存しているのは 9 症例(45%)であり、うち 8 症例が c.149G>A または c.293C>T を少なくとも 1 つ持っていました。また、肝移植後死亡した 11 症例中 8 例は移植前に神経症状を発症していた一方で、肝移植後生存している 9 症例中 1 例のみ移植前に神経症状を示していました。しかしながら、生存している 9 例中 7 例が肝移植後に何らかの神経症状を発症していました。以上より、MPV17 異常症においては、術前に重篤な神経症状を示さず、c.149G>A または c.293C>T 変異をもつ症例では、比較的生命予後が良好であることが明らかになりました。

### まとめ

これまでの報告通り、重症型のミトコンドリア肝症に対する肝移植の成績は他の疾患と比較し不良であり、特に術前に神経症状を有している症例では生命予後が不良でした。発症年齢が 6 か月以降の症例では、それ以前に発症する症例と比較し予後が良いことがわかりました。また MPV17 異常症においては肝移植前に重篤な神経症状を示さず、c.149G>A または c.293C>T を有する症例は比較的予後が良いことが明らかになりました。

本研究成果は、重症型のミトコンドリア肝症の臨床像、分子遺伝学的特徴、また肝移植術の長期予後を明らかにしたことで、本症の早期診断、治療法の選択やその適応の検討に役立つだけでなく、治療薬の開発や国内外の臨床試験に必要な基礎的・臨床的エビデンスを提供するものとなります。

掲載論文

Clinical and molecular basis of hepatocerebral mitochondrial DNA depletion syndrome in Japan: evaluation of outcomes after liver transplantation

日本における脳肝型ミトコンドリア DNA 枯渇症候群の臨床像と分子学的基礎、及び肝移植後の評価

著者名

Masaru Shimura, Naomi Kuranobu, Minako Ogawa-Tominaga, Yohei Sugiyama, Tomohiro Ebihara, Takuya Fushimi, Keiko Ichimoto, Ayako Matsunaga, Tomoko Tsuruoka, Yoshihito Kishita, Shuichiro Umetsu, Ayano Inui, Tomoo Fujisawa, Ken Tanikawa, Reiko Ito, Akinari Fukuda, Jun Murakami, Shunsaku Kaji, Mureo Kasahara, Kazuo Shiraki, Akira Ohtake, Yasushi Okazaki, Kei Murayama

雑誌名

*Orphanet Journal of Rare Diseases* <<https://ojrd.biomedcentral.com/>>

《本研究に係わる学会発表》

・志村優, 乾あやの, 谷川健, 白木和夫, 梶俊策, 笠原群生, 村山圭, 他. 日本人におけるミトコンドリア肝症の臨床像・遺伝学的特徴の解明. 第 47 回日本小児栄養消化器肝臓学会, 2020 年 10 月 23-25 日, 東京..



## 《用語解説》

### \*1 ミトコンドリア肝症

肝障害・肝不全を主症状とする酸化的リン酸化(OXPHOS)の障害であり、小児期発症のミトコンドリア病の10-20%を占めます。およそ40%は新生児期に発症し、急性または慢性的な肝不全を呈します。症状が肝臓のみにとどまる場合もありますが、多くは経過中にけいれん、脳症、退行などの神経筋症状が出現します。特殊なミトコンドリア肝症として、肝不全状態を持ちこたえると、自然に肝障害が改善するTRMU異常症(可逆性ミトコンドリア肝症)が知られています。

### \*2 ミトコンドリア DNA 枯渇症候群

ミトコンドリア DNA(mtDNA)の複製や核酸供給機構の異常などの原因で、mtDNAの量が過度に減少(枯渇)し、ミトコンドリアのエネルギー代謝が阻害され機能障害の起こる疾患を総称して、ミトコンドリア DNA 枯渇症候群と呼びます。症状から筋型、脳筋型、脳肝型に分類され、脳肝型の原因遺伝子として、DGUOK、MPV17、POLG、SUCLG1、TWNKが知られています。

### \*3 ミトコンドリア病

ミトコンドリア病とは、ミトコンドリアの働きが低下することが原因で起こる病気の総称。エネルギー代謝系の先天代謝異常症です。出生5,000人に1人の割合で発症し、いかなる症状、いかなる臓器・組織、何歳でも、いかなる遺伝形式でも発病します。特に幼少時期発症例は症状が多彩で重篤致死の症例が多いです。根治的治療法がなく、対症療法にとどまります。

### \*4 ミトコンドリア DNA (mtDNA)

ミトコンドリア DNAは16569塩基対を有し、13個の呼吸鎖のサブユニットを含む37個の遺伝子をコードします。各ミトコンドリアには2~10コピーのミトコンドリア DNAがあります。