

## 総 説

## ミトコンドリア脳筋症の治療—1999年—

東京女子医科大学 医学部 小児科学 (主任:大澤真木子教授)

中野 和俊・王 崇玫・武藤 順子・田良島美佳子

臼井 紀久・中山 智博・佐々木香織・矢崎枝里子

坂本由美子・道津 裕季・斎藤加代子・大澤真木子

(受付 平成12年2月16日)

## ミトコンドリア脳筋症治療法の確立のために

1964年 Luftら<sup>1)</sup>がはじめてミトコンドリア筋症を報告して以来、ミトコンドリア脳筋症の診断は、分子生物学の進歩とともに非常なスピードで進歩してきた<sup>2)3)</sup>。特に遺伝子診断に関して、ミトコンドリアDNA異常の診断が可能となり、Leigh脳症の一部では核DNAの異常が明らかにされつつある<sup>4)</sup>。しかしその反面、治療に関しては未だ根治的治療は確立していない。

その理由のひとつには、ミトコンドリア脳筋症の病態解明、すなわち、ミトコンドリアDNA異常が症状発現を引き起こすメカニズムの解明が進んでいないことがあげられる。この解明を進めるためには、主に $\rho^0$ 細胞などによりミトコンドリア異常を持つ培養細胞系による分子生物学的方法を用いて、遺伝子異常がどのように蛋白合成と関わり、酵素の活性化などの蛋白機能の発現と関わるのか検討を進めてゆく必要がある<sup>5)</sup>。我々は今後この準備を進めていく予定である。

治療が進まない第二の理由には、症例数を集積して統計学的手法を用いることの限界である。ミトコンドリア脳筋症の中でも、MELAS(mitochondrial encephalopathy lactic acidosis and stroke like episodes), MERRF(myoclonus epilepsy with

ragged red fibers), KSS (Kearns-Sayre syndrome), Leigh症候群など病態の違う疾患が含まれており、恐らくは同一の疾患でも病期により治療の有効性が変化する可能性があり、ミトコンドリアの各疾患で統計学的手法をとるに十分な症例数が集めることが難しい。我々はこれまで約20例のミトコンドリア脳筋症の臨床経過を診てきているが、統計学的手法で明らかに有効であると証明するに至っていない。しかし、これまでの症例臨床経過を詳細検討すると有効と判断できる例がある。ミトコンドリア脳筋症に有効とされる薬は種々報告されているが、次項において、当科で治療有効例について、症例を呈示して、それぞれの作用機序、適応、有効性、副作用について考察したい。

さらに、治療が進まない第三の理由には、治療の効果を臨床的な評価以外にミトコンドリア機能を客観的に評価する手段がこれまで乏しかった点である。我々はこれまで血小板によるミトコンドリア電子伝達系酵素の測定法を開発し、これをMELAS患者の治療評価に用いた。この点について血小板ミトコンドリア酵素測定による臨床経過治療の評価の項で考察する。

Kazutoshi NAKANO, Cong Mei WANG, Ayako MUTO, Mikako TARASHIMA, Norihisa USUI, Tomohiro NAKAYAMA, Kaori SASAKI, Eriko YASAKI, Yumiko SAKAMOTO, Hiroki MICHIZU, Kayoko SAITO and Makiko OSAWA [Department of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University, School of Medicine]: Treatment for mitochondrial encephalomyopathy up to 1999

## ミトコンドリア脳筋症に対する薬物療法

我々の治療対象は MELAS 3 例, Leigh 症候群 9 例, MERRF 2 例, MELAS & MERRF overlap 症候群 1 例および atypical MELAS 1 例, 合計 16 例である. 有効例の判断基準は臨床症状の改善のあるものとした.

### 1. Vitamin B<sub>1</sub> (thiamine: B<sub>1</sub>) と Vitamine B<sub>2</sub> (riboflavin: B<sub>2</sub>) の併用

我々はこれまで 16 例に B<sub>1</sub> 5~10mg/kg/day, B<sub>2</sub> 3~5mg/kg/day の大量療法を行い, 2 例の有効を認めた.

症例 1: 11 歳女児 (ミトコンドリア DNA mtDNA np8344 変異の慢性膵炎を示した MERRF). 4 歳より易疲労感, 易感染性, 6 歳から慢性膵炎による急性増悪, myoclonus の不随意運動, 全身性強直発作, 8 歳から myoclonus の不随意運動, 振戦, 失立発作を呈していたが, coenzyme CoQ<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>; 商品名ノイキノン) に加えて fursultiamine (B<sub>1</sub>; 商品名アリナミン F) 1,000mg/day および酪酸リボフラビン (B<sub>2</sub>; 商品名ハイボン) 100mg/day を服用後, 慢性膵炎の急性増悪を呈さなくなった (体重 26kg). 投与後約 2 年の経過で膵酵素 amylase, lipase は低下した. また, 易疲労感が改善し体重が増加した. しかし, 不随意運動, 全身性強直発作は改善が認められず, 血中乳酸, ピルビン酸, ケトン体比の改善は認められなかった.

症例 2: 2 歳 10 カ月女児 (mtDNA np8344 変異の Leigh 症候群). 1 歳過ぎより失調性歩行を認め 1 歳 2 カ月頃から喘息様の呼吸障害が出現した. 2 歳 10 カ月入院時より硝酸チアミン 80mg/day およびハイボン 30mg/day (体重 14.6kg) 服用 3 週間を経過して, 失調性歩行や活動性の改善, 粗大, 微細運動の改善が認められた.

B<sub>1</sub> は pyruvate dehydrogenase,  $\alpha$ -ketoglutarate-dehydrogenase の補酵素であり, B<sub>1</sub> の投与はピルビン酸からアセチル CoA への変換を促進し, Krebs cycle を経て NADH が増加すると考えられている. しかし, 多くのミトコンドリア脳筋症においてはミトコンドリア障害部位は電子伝達系である. B<sub>1</sub> が電子伝達系に直接効果なくミトコン

ドリア機能の改善があるとすると, それは B<sub>1</sub> が正常ミトコンドリアの活性を高めて異常ミトコンドリア機能の代償をした可能性が考えられる. 症例 2 では失調, 活動性の改善にも関わらず, 血液中のケトン体比である B/A 比は上昇した. これは, B<sub>1</sub> が電子伝達系異常の改善には関与していない可能性を示すと思われる. Calvani ら<sup>6)</sup> は, ミトコンドリア病治療としての B<sub>1</sub> 投与量は 5~3,000mg/day としている.

B<sub>2</sub> は flavin mononucleotide (フラビンモノヌクレオチド: FMN), flavin-adenosine-nucleotide (フラビンアデノシンジヌクレオチド: FAD) の前駆物質であり, FMN, FAD はそれぞれ電子伝達系の複合体 I, 複合体 II の必須成分である. これらの点から B<sub>2</sub> はミトコンドリア電子伝達系機能を改善する可能性がある. B<sub>2</sub> の投与で電子伝達系酵素複合体 I 活性が改善したミトコンドリア筋症の報告がある<sup>7)</sup>. Calvani ら<sup>6)</sup> は, B<sub>2</sub> はミトコンドリア病治療としての B<sub>2</sub> 投与量は 90~300mg/day としている. B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> 併用療法による相乗効果については十分に検討されておらず今後の検討課題である.

### 2. Coenzyme Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>)

我々はこれまで 14 例に投与して 1 例に明らかな有効例を認めた.

症例 3: 6 歳女児 (Leigh 症候群: DNA 変異は同定できなかった). 生下時より正常に発達していたが 4 歳より失調, 痙性対麻痺が悪化し歩行不能となった. 当初, B<sub>1</sub> 400mg/day および B<sub>2</sub> 100mg/day (18kg) を大量投与したが, 失調が悪化したため B<sub>1</sub> を 300mg/day に減量し失調がやや改善した. その後に, CoQ<sub>10</sub> (商品名: ノイキノン) を 80 mg/day で投与した. CoQ<sub>10</sub> 投与後に失調は改善し独歩可能となった. しかし, 頭部 MRI では CoQ<sub>10</sub> 開始後も大脳基底核病変の改善は認められなかった.

CoQ<sub>10</sub> は内膜に存在し電子伝達系の複合体 I, II から電子を受け取り複合体 III に電子を受け渡す. また, ミトコンドリアに障害があると活性酸素が発生することが知られている. CoQ<sub>10</sub> の還元型であるユビキノールは活性酸素を除去する働き

がある<sup>8)</sup>。市販されているノイキノンには酸化型であるユビキノンであるが、ノイキノンが体内で還元型のユビキノールに変換されてミトコンドリア内に到達すれば活性酸素除去に働く可能性がある。動物においてノイキノンの投与はミトコンドリア内膜の電子伝達系酵素を活性化すると報告がある<sup>9)</sup>。Calvaniら<sup>6)</sup>によれば投与量は30~210mg/dayとしている。Kearns-Sayre 症候群、MELAS 例で有効な報告があり、lactate/pyruvate 比、CSF 蛋白、心電図の改善の報告もある<sup>10)</sup>。しかし、我々は CoQ<sub>10</sub> の無効例も多く経験しており、また、効果が不十分な報告<sup>11)</sup>も散見されるため、CoQ<sub>10</sub> の適応は今後の課題である。CoQ<sub>10</sub> が傷害されたミトコンドリアにどのように働くのが解明されるとその適応がよりの確になると思われる。

### 3. Cytochrome c

これまで9例に投与して3例に明らかな有効を認めた。Cytochrome c 投与方法は0.25~0.5mg/kg 単独または B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> 併用し連日7日間静注し(商品名:チトマック P またはカルジオクローム)、有効の場合は漸減し経口または経口と間欠静注併用に変更した(経口 cytochrome c の商品名はチトレスト、経口量は1~5mg/kg/day)。無効、増悪の場合は静注7日間で中止した。

症例4:16歳女児(mtDNA np9176 変異の Leigh 症候群)。8歳時、発熱を契機に意識障害、小脳脊髄障害が出現、後遺症を残して回復した。13歳時、再び発熱を契機として、意欲が低下し、脊髄小脳症状が増悪した。第二回目にはチトマック P を連日1週間静注してすみやかに症状が改善した。

症例5:9歳女児(np3243 変異の MELAS) (図)。症例は周産期、新生児、乳児期と発達は正常であったが、3歳頃より易疲労感が出現し、5歳1カ月より歩行困難が出現した。当科入院後、最初に B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> を投与したが症状は改善せず、チトマック P を静注投与したところ筋力低下は改善し歩行可能となった。しかしその後、頭痛、視覚異常が間欠的に出現し、6歳0カ月時に頑固な頭痛が出現したため連日静注に切り替えたが改善しないため中止した。

症例6:27歳男姓(非典型 MELAS: DNA 変異は同定できなかった)。3歳まで正常に発達したがその後次第に固縮、ジストニアが強くなった。21歳時はジストニアのため移動不可能となった。チトマック P を静注投与したところジストニアは改善し支え歩行可能となった。しかし、経口 cytochrome c を開始したところ複雑部分発作の頻度が増え、一時期 epilepsy partialis continua に進展した。

Cytochrome c は内膜に存在し電子伝達系の複合体 III から電子を受け取り複合体 IV に電子を受け渡す。Cytochrome c を投与することによりミトコンドリア内膜での電子の受け渡しを改善する可能性がある。これまで Kearns-Sayre 症候群、MERRF に対するカルジオクローム (cytochrome c, flavin mononucleotide, thiamine diphosphate の合剤) 投与による有効性が報告されている<sup>12)13)</sup>。Cytochrome c には酸化型と還元型があり、製剤によりこの比が異なる。酸化型は複合体 I、II から電子の受け皿となり、還元型は複合体 IV に電子を供給元となる。このため製剤により活性化する酵素部位が異なる可能性がある。

我々の投与例において大きな副作用は認められなかった。しかし、我々の症例6と cytochrome c の無効例において基礎疾患にてんかん発作を合併している例では、てんかん発作の増悪をみた。この点は cytochrome c を投与する場合注意を要する。また、最近、cytochrome c が apoptosis を誘導することが報告されておりこの点からも cytochrome c については注目が必要である<sup>14)</sup>。

### 4. ジクロロ酢酸ナトリウム (DCA)

これまで DCA を6例投与して1例に有効であった。DCA 投与方法は徳島大小児科方式に準じ<sup>15)</sup>、B<sub>1</sub> と共に DCA を 50mg/kg/回を12時間毎3回内服投与した後、半量に減じ血中濃度と乳酸値から維持量を決めた。

症例5:8歳女児(np3243 変異の MELAS) (図)。5歳11カ月時、頑固な頭痛に対して cytochrome c の点滴静注を行ったが改善せず、cytochrome c の投与は経口、静注ともに中止し DCA 療法を開始したところ、頑固な頭痛は消失した。

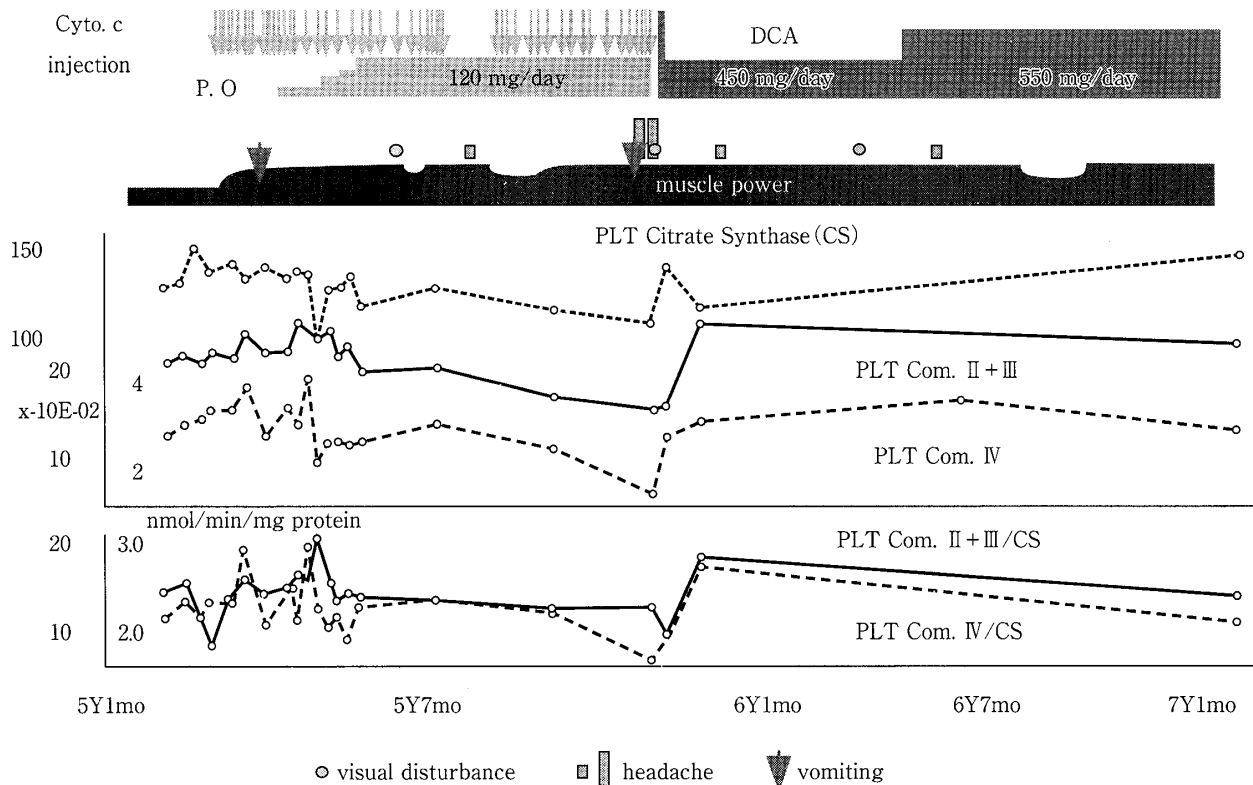


図 血小板ミトコンドリア酵素測定による臨床経過治療の評価

また、血小板のミトコンドリア電子伝達系酵素の改善も認められた。しかし、7歳6カ月頃から次第に意欲が低下し、ふらつき、色覚、視覚異常が出現した。7歳8カ月に入院し頭部MRIで多巣性梗塞が認められ、その後も頻回に頭痛嘔吐が続き、頭部MRI上の新しい梗塞部位が増え、経口摂取不可能となり寝たきり皮質盲の状態になった。

DCA療法は以前より高乳酸血症の治療として用いられていたが、黒田ら<sup>16)</sup>によりミトコンドリア脳筋症へのDCAとB<sub>1</sub>併用療法が提唱されている。DCAはピルビン酸脱水酵素複合体(PDHC)の活性化を抑制するPDHキナーゼ活性を抑制するため、PDHC活性を亢進させる。DCAがミトコンドリア脳筋症で有効であるのは、DCAがPDHC活性を亢進し、TCA cycleへのacetyl-CoAの供給を増加させ、TCA cycleから電子伝達系へのNADHを増やすことが考えられる。

我々の血小板ミトコンドリア酵素測定では、症例5のMELAS例において、DCA投与によりミトコンドリア酵素の活性化が認められ、特に複合体I+III、IVの活性化が認められた(図)。しかし、

本例は一時的にDCAが有効であったが、その後の経過でDCAが無効となった。このことは、DCAによるミトコンドリア酵素の活性化は障害を受けたミトコンドリアを治しているのではなく、正常ミトコンドリアを代償的に活性化させている可能性がある。副作用としては、動物実験での発癌性<sup>17)</sup>、B<sub>1</sub>欠乏による末梢神経障害、肝障害がある。また、DCA治療時に元疾患が増悪した報告がある<sup>18)</sup>。今後DCAのミトコンドリア病への作用機序に関して基礎的検討が必要である。

##### 5. クレアチン (Creatine monohydrate)

これまで7例に投与し3例に有効であった。クレアチン投与法はHagenfeldtら<sup>19)</sup>の方法を一部改変し、0.2g/kg/dayを分2で2週間経口投与し、その後0.08~0.12g/kg/day分2~3で経口投与した。

症例5: 8歳女児 (np3243変異のMELAS)(図)。DCA投与にも関わらず卒中様症状が続くため、8歳時にクレアチンをこれまでの治療に加えて投与開始した。クレアチン開始後、頭痛は軽減消失した。運動機能は座位可能まで回復した。

症例7: 10歳女児 (mtDNA np3243変異の

MELAS). 6歳頃からときどき頭痛があり, 9歳9カ月時, 頭痛, 嘔吐に続き発熱, 視力障害が出現し点滴で回復した. 9歳10カ月時, 頭痛, 嘔吐に続き意識障害, 発熱, 視力障害が出現し当科入院となった. 入院時高乳酸, 高ピルビン酸血症を認めた. 当初, B<sub>1</sub> 200mg/day, B<sub>2</sub> (商品名フラビタン) 80mg/day 大量療法を2カ月間行ったが頭痛は改善せず再び頭痛嘔吐が悪化し入院となった. 10歳0カ月時よりクレアチン療法を開始した. クレアチン開始後3カ月の間で頭痛のほぼ消失, 活動性の向上, 体重の増加が認められた.

症例2: 3歳1カ月女児 (mtDNA np8344 変異の Leigh 症候群). B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> にクレアチン 1.2g/day を加えて3カ月の間で, 失調歩行障害や活動性の改善, 微細運動の進歩がさらに認められた. また, lactate/pyruvate (L/P) 比, 3-hydroxybutyrate/acetate (B/A) 比はクレアチン開始後改善が認められた.

クレアチン補充療法はこれまで心不全, 腎障害, スポーツにおける筋力増強, guanidinoacetate methyltransferase 欠損症などに投与されてきている<sup>20)~22)</sup>. 細胞において, クレアチン/クレアチンリン酸の貯蔵はミトコンドリアおよび細胞のクレアチンキナーゼと ATP/ADP を介して ATP を細胞に供給をする. クレアチン補充はクレアチン/クレアチンリン酸の貯蔵を増加させ ATP の供給を高める可能性があると考えられる. ミトコンドリア脳筋症へのクレアチン療法はこれまで Hagenfeldt ら<sup>19)</sup>, Borchert ら<sup>23)</sup>, Tranopolsky ら<sup>24)</sup> の報告があるのみである.

我々のクレアチン補充が有効であった3例のうち MELAS の1例は, DCA が無効となったときに投与して臨床症状の著明な改善が得られた. また, NADH/NAD 比を示す lactate/pyruvate (L/P) 比, 3-hydroxybutyrate/acetate (B/A) 比は DCA その他の治療では改善しないが, クレアチン補充は改善傾向を示す例がある. これまで大きな副作用の報告はないが, 我々は投与初期に myoclonus が増悪した MERRF 例を経験した. この点については注意を要するが, クレアチン補充がミトコンドリア脳筋症の有力な治療法のひとつ

となる可能性がある.

#### 血小板ミトコンドリア酵素測定による臨床経過治療の評価 (図)

我々は比較的少量 (5~10ml) の末梢血から分離した血小板で, microplatereader で複合体 II+III, IV, citrate synthase (CS), 蛋白を測定するシステムを開発した. 複合体 II+III, citrate synthase (CS), 蛋白の測定法は Haas ら<sup>25)</sup> (1995) の方法に準じ, 複合体 IV は新たに microplate reader での測定法に改良した.

症例5の MELAS の患児に応用して経時的変化を検討し, 臨床症状, 治療と対応させたところ, 患児の卒中様症状出現時に複合体 IV 活性が低下し, DCA 投与により症状改善時に複合体 II+III, IV の活性化が認められた<sup>26)</sup>. これは血小板ミトコンドリア酵素測定 of 臨床応用への可能性を示唆するものであるが, 今後さらに症例を広げて検討してゆく必要がある.

ミトコンドリア脳筋症の患児を献身的に診療, 看護いただいた2号館3階, 4階の小児科病棟各医師, 看護婦に深謝します.

この研究論文の一部は, 文部省科学研究基盤研究 (C) 09670842, 森永奨学金に依った.

#### 文 献

- 1) Luft R, Ikkos D, Palmieri G et al: A case of severe hypermetabolism of nonthyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical, biochemical, and morphological study. *J Clin Invest* **41**: 1776-1804, 1962
- 2) 榎中幾哉: ミトコンドリア病の形態学. 「ミトコンドリア病」(榎中征哉, 後藤雄一編) pp3-26, 医学書院, 東京 (1997)
- 3) 後藤雄一: 総論—診断へのアプローチ. 「ミトコンドリア病」(榎中征哉, 後藤雄一編) pp77-83, 医学書院, 東京 (1997)
- 4) Tiranti V, Jaksch M, Zeviani M et al: Loss-of-function mutations of SURF-1 are specifically associated with Leigh syndrome with cytochrome c oxidase deficiency. *Ann Neurol* **46**: 161-166, 1999
- 5) Gu M, Cooper JM, Schapira AHV et al: Mitochondrial DNA transmission of the mitochondrial defect in Parkinson's disease. *Ann Neurol* **44**: 177-186, 1998

- 6) **Calvani M, Koverech A, Caruso G**: Treatment of mitochondrial diseases. *In* Mitochondrial DNA in Human Pathology (DiMauro S, Wallace DC eds) pp173-198, Raven Press, New York (1993)
- 7) **Scholte HR, Bush HF, Bakker HD et al**: Riboflavin-responsive complex I deficiency. *Biochim Biophys Acta* **1271**: 75-83, 1995
- 8) **太田成男**: ミトコンドリアの生化学. 「ミトコンドリア病」(埜中征哉, 後藤雄一編) pp27-51, 医学書院, 東京 (1997)
- 9) **Nakamura T, Sanma H, Imabayashi S et al**: Effect of exogenous ubiquinone-10 on endogenous ubiquinone-10 in canine plasma and on electron transport enzymes in leucocytes. *Chem Pharmaceut Bull* **27**(5): 1101-1105, 1979
- 10) **Morgan-Hughes JA, Hayes DJ, Clark JB et al**: Mitochondrial encephalomyopathies: biochemical studies in two cases revealing defects in respiratory chain. *Brain* **105**: 553-558, 1982
- 11) **沖 武人**: ミトコンドリア病に対する EO (CoQ 10) の臨床的有効性に関する検討—二重盲検交差比較試験. 厚生省ミトコンドリア治療薬の開発研究班 平成 5 年度報告書: 72-85, 1994
- 12) **Nakagawa E, Osari S-I, Yamanouchi H et al**: Long-term therapy with cytochrome c, flavin mononucleotide and thiamine diphosphate for a patient with Kearns-Sayre syndrome. *Brain Dev* **18**: 68-70, 1996
- 13) **Tanaka S, Osari S-I, Ozawa M et al**: Recurrent pain attacks in a 3-year-old patient with myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers (MERRF): single-photon emission computed tomographic (SPECT) and electrophysiological study. *Brain Dev* **19**: 205-208, 1997
- 14) **Cai J, Yang J, Jones DP**: Mitochondrial control of apoptosis: the role of cytochrome c. *Biochim Biophys Acta* **1366**: 139-149, 1998
- 15) **Kuroda Y, Ito M, Naito E et al**: Concomitant administration of sodium dichloroacetate and vitamin B1 for lactic acidemia in children with MELAS syndrome. *J Pediatr* **131**: 450-452, 1997
- 16) **黒田泰弘, 内藤悦雄, 伊藤道徳**: ビタミン B1 依存性高乳酸血症の治療. *日小児臨薬理会誌* **9**: 17-21, 1996
- 17) **DeAngelo AB, Daniel FB, Most BM et al**: The carcinogenicity of dichloroacetic acid in the male fischer. *Toxicology* **114**: 207-221, 1996
- 18) **斎藤茂子, 桃井真理子, 中村美樹ほか**: ミトコンドリア DNA 塩基番号 8993 の一塩基置換の相違により異なる臨床経過を呈したと考えられた Leigh 脳症の 2 例. *日小児会誌* **104**: 52-55, 2000
- 19) **Hagenfeldt L, von Dobeln U, Solders G et al**: Creatine treatment in MELAS. *Muscle Nerve* **17**: 1236-1237, 1994
- 20) **Faucaux M, Poortmans JR**: Effects of training and creatine supplement on muscle strength and body mass. *Eur J Appl Physiol* **80**: 165-168, 1999
- 21) **Andrews R, Greenhaff P, Curtis S et al**: The effect of dietary creatine supplementation on skeletal muscle metabolism in congestive heart failure. *Eur Heart J* **19**: 617-622, 1998
- 22) **Stocker S, Hanefeld F, Frahm J**: Creatine replacement therapy in guanidinoacetate methyltransferase deficiency, a novel inborn error of metabolism. *Lancet* **348**: 789-790, 1996
- 23) **Borchert A, Wilichowski E, Hanefeld F**: Supplementation with creatine monohydrate in children with mitochondrial encephalomyopathies. *Muscle Nerve* **22**: 1299-1300, 1999
- 24) **Tarnopolsky MA, Roy BD, McDonald JR**: A randomized, controlled trial of creatine monohydrate in patients with mitochondrial cytopathies. *Muscle Nerve* **20**: 1502-1509, 1997
- 25) **Haas RH, Nasirian F, Nakano K et al**: Low platelet mitochondrial complex I and complex II/III activities in early untreated Parkinson's disease. *Ann Neurol* **37**: 714-722, 1995
- 26) **中野和俊, 王 崇玖, 白岩由美ほか**: MELAS における卒中様症状と血小板電子伝達系酵素活性との関連の検討. *日先天代謝異常会誌* **14**: 242, 1998