

## 【鑑別診断】

### ●肝不全の診断基準

小児の急性肝不全の診断基準は、①8週間持続する肝酵素の異常な上昇 ②先行する肝疾患がないこと ③ i) 脳症状を伴う場合 INR $\geq$ 1.5 もしくは PT $\geq$ 15 秒 ii) 脳症状を伴わない場合 INR $\geq$ 2.0 もしくは PT $\geq$ 20 秒である。

この患児の場合、入院 3 日目に INR1.8、PT18.7 秒で、入院 4 日目には INR2 以上に上昇したため、肝不全の診断基準に合致する。なお、患児は入院初日にミダゾラムとモルヒネを処方され少なくとも 2 日間は昏迷状態にあったため、脳症状があったかどうかは定かではない。

この患児の場合、肝移植を受ける可能性を考慮された後、肝不全の原因が評価された。

### ●肝不全の原因

肝不全の鑑別診断は、アセトアミノフェンを含む薬物による肝障害(16%)、代謝疾患(10%)、ウイルス性疾患(6%)、虚血(4%)である。しかし小児の急性肝不全の 49%は原因が特定できない。

また原因は小児の年齢により異なり、この症例の患児の 9 か月という月齢では薬剤より代謝疾患が原因として多い(49%)。原因が特定できないものは 16%に留まり、これらの中には十分に評価されていぬ代謝疾患や自己免疫疾患が含まれる。

#### ① ウィルス感染症

ウィルス感染症は、単純ヘルペスウィルス、パルボウィルス、HHV-6、CMV、EBV、肝炎ウィルス(A, B, C)がある。

この症例の患児では、便・尿・血液培養についてこれらのウィルスは陰性であった。また、肝臓への初感染により多くの患者にみられる高ビリルビン血症や黄疸も見られなかったため、ウィルス感染症は原因として否定的である。

#### ② 自己免疫性肝炎

自己免疫性肝炎の場合、通常は慢性的な経過をたどる。1型自己免疫性肝炎では、抗核抗体、抗平滑筋抗体陽性、2型では抗肝臓-腎臓-マイクロゾール抗体で陽性にて、診断される。2型は若年児で見られるが、本症例の様な小児期は稀である。

#### ③ 薬物による肝障害

薬物による肝障害には、アセトアミノフェンの服用、Amanita phalloides (毒性マッシュルーム)、テトラクロロメタンなどの有機溶剤や農薬などがある。また、容量依存性や体質依存性が大きい。

症例の患児はこれらの薬物などに対するスクリーニングは陰性であった。アセトアミノフェンは正常量を投与されたとされているが、偶発的な overdose の可能性は常に考慮すべきである。

#### ④ 虚血性肝障害

肝静脈閉塞、Budd-Chiari症候群は鑑別に挙がる。劇的な高ビリルビン血症が見られるはずだが、本症例では CTにて静脈の閉塞は見られない。

その他、血球貪食-リンパ球組織球症が考えられる。本症例の患児ではフェリチン上昇やトリグリセリドの上昇、低フィブリノーゲン血症はあるものの、脾腫・汎血球減少がないため否定的である。

#### ⑤ 代謝疾患

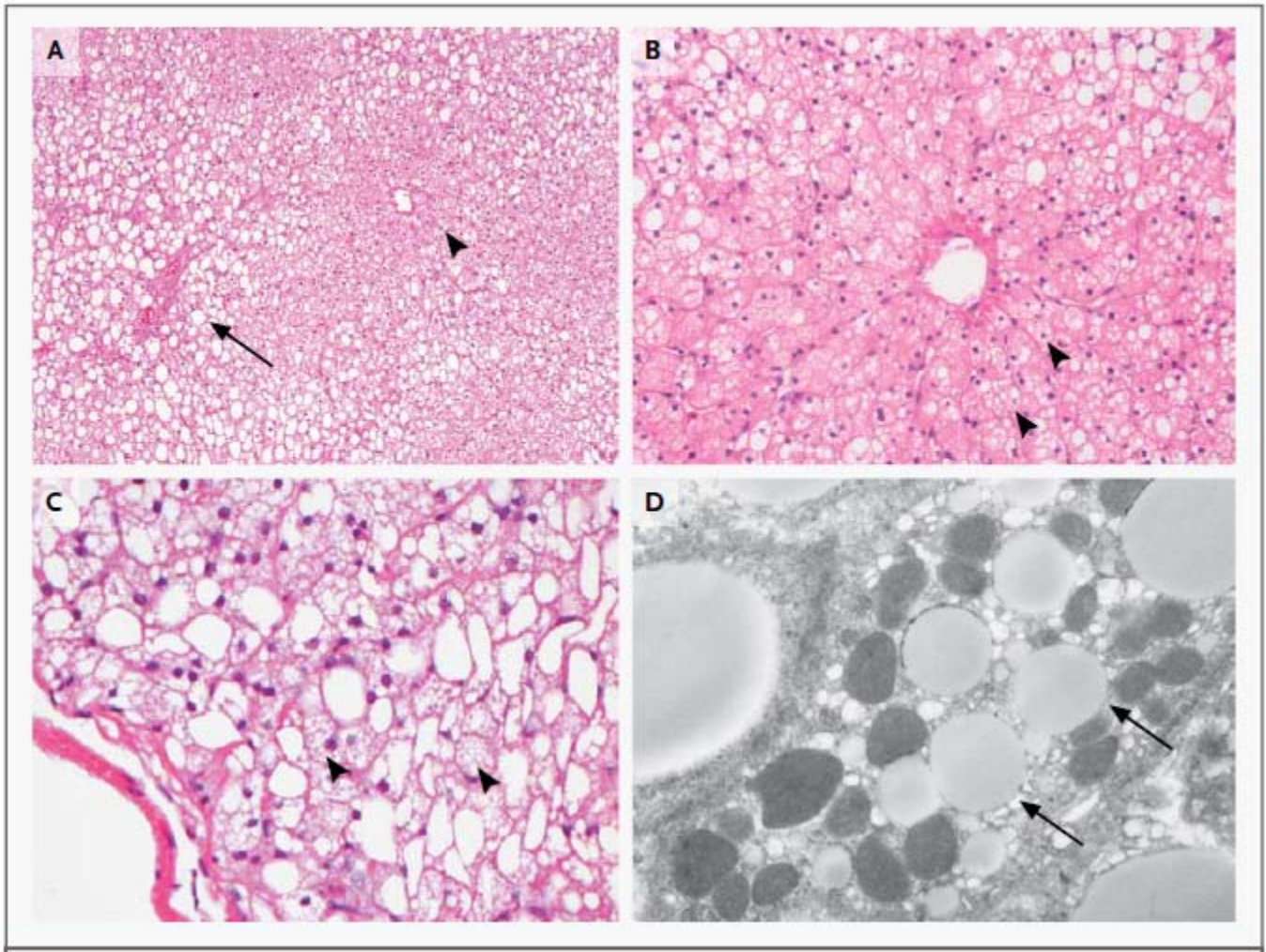
最終的には、代謝疾患が考えられた。早期小児期の多くの症例では胆汁鬱滞を伴う肝障害がみられるが、本症には胆汁鬱滞が無い。本症は成長した小児であり、脂肪酸酸化欠損症fatty acid-oxidation defects、コレステロールエステル蓄積疾患cholesteryl ester storage disease、グリコーゲン蓄積疾患、肺嚢胞線維症-肝関連疾患が鑑別に挙がる。Wilson病は小児肝不全で最も知られているが、3歳以下は報告が無い。

本症例では、①患児の月齢 ②CTにて肝臓に脂肪沈着が見られること ③急速な肝腫大 から、脂肪酸酸化欠損症、コレステロールエステル蓄積疾患が最も考えやすい。

【診断のため追加する検査・手技】

肝生検

⇒肝生検の結果、びまん性の **microvesicular** および **macrovesicular pattern** の脂肪沈着が認められた(Figure2)。



**Figure 2:** A) HE 染色低倍率像。肝中心静脈領域に優位に小型の小胞パターン **microvesicular pattern** の脂肪沈着を認める。傍門脈領域には大型の小胞パターン **macrovesicular pattern** の脂肪沈着をみる。 B) 小葉中心静脈周囲の高倍率。小型の小胞脂肪沈着。 C) 門脈被膜の周囲：小型の小胞脂肪沈着。 D)電子顕微鏡：肝細胞のミトコンドリアには著変なし。非膜結合性の脂質小胞をみる。

●**Microvesicular pattern**の脂肪沈着：ミトコンドリアの機能障害を示唆。

脂肪酸のβ酸化の減少によりトリアシルグリセロールや遊離脂肪酸の蓄積が起こる。この症例の患児の月齢のミトコンドリアの機能障害では

- ① 先天代謝異常：酸化的リン酸化・脂肪酸の酸化・尿素生成の異常など
- ② 薬剤/毒物による障害

が原因となる。

- ・**尿素生成の異常**：傍門脈領域にグリコーゲンが蓄積した核や門脈域の線維化がないこと、またグリコーゲンが蓄積した肝細胞が存在するため、否定的。
- ・ミトコンドリアの**酸化的リン酸化異常**：胆道系の炎症や線維化がないため否定的。
- ・**ウォルマン病 Wolman's disease**：泡沫化マクロファージと Kupffer 細胞が存在しないため否定的。

●**Macrovesicular pattern**の脂肪沈着：薬物・毒素による障害を示唆。

Reye 症候群(アスピリンによる)、バルプロ酸、核酸アナログ(ディダノシン DDI、ジドブシン AZT など)、

アンフェタミン、テトラサイクリン、Bacillus cereus 腸管毒素、急性鉄過剰投与によって生じる。

- ・ **Reye 症候群**：年長児(4~15 歳)での汎小葉性 microvesicular pattern が見られないため否定的。
- ・ **Bacillus cereus 腸管毒素**：肝細胞壊死が見られないため否定された。
- ・ **急性鉄過剰投与**：鉄染色により否定された。
- ・ **その他の薬物投与**：臨床的な背景から否定された。

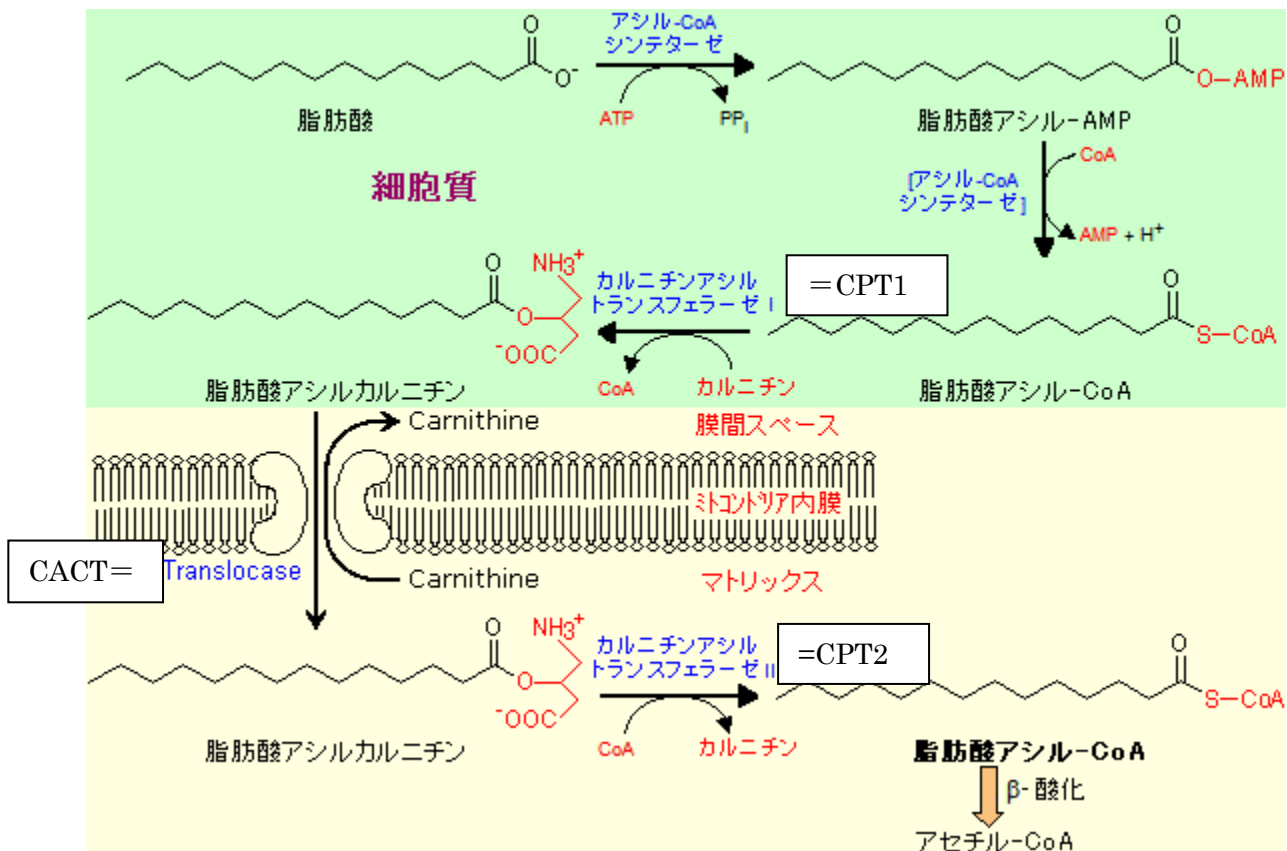
なお、肝炎・肝細胞壊死・肝線維症・胆道系炎症・巨大ミトコンドリア(→アルコール性肝障害/栄養異常)・polarizable material を示唆する所見は認められなかった。また、アミラーゼ消化に伴う過ヨウ素酸シッフ反応 periodic acid Schiff reaction(=PAS 反応)にて肝細胞内の細胞質内小滴やグリコーゲン蓄積を認めず、銅染色(→ウィルソン病)・鉄染色・ムコポリサッカロイドの鉄コロイド染色の結果は陰性であった。電子顕微鏡にて非膜結合性の脂質小胞が見られ、肝細胞のミトコンドリアには異常なく、グリコーゲンの蓄積もなく、その他の蓄積疾患も否定された。

以上より、ミトコンドリア脂肪酸酸化異常症が否定されず、一番疑わしいとされた。

★ミトコンドリア脂肪酸酸化異常症とは？

低ケトン血性低血糖症のある患者や急性脂肪肝のある小児の例では、脂肪酸酸化異常とカルニチン転移の異常が最も疑わしい。無治療の脂肪酸酸化異常を有する小児では脂肪肝が生じやすい。

ミトコンドリアのβ酸化は脂肪からのエネルギー産生に重要である。カルニチンにより、長鎖脂肪酸はミトコンドリアの細胞質内に運搬される。ミトコンドリアの細胞質外を通った輸送は CPT1(carnitine palmitoyltransferase 1)、外から内へは CACT(carnitine acylcarnitine translocase カルニチン・アシルカルニチントラスロカーゼ)、内での輸送は CPT2(carnitine palmitoyltransferase 2 カルニチンパルミトイル CoA 転移酵素 2) を介して行われる。ミトコンドリア内のサイクルで、長鎖脂肪酸からアセチル CoA が生成され、これがクエン酸回路にてエネルギー産生に用いられるため重要である。よってこれらのどの酵素の異常によっても、酸化されていない脂肪酸が蓄積し、細胞内にたまった脂肪がいろいろな臓器の機能異常を引き起こす。



## 【鑑別診断】

脂肪肝を有する9か月の乳児の先天性代謝異常の鑑別は **Table2** のようである。

**Table2.** 脂肪肝を有する乳児の先天性代謝異常の鑑別

| 疾患   | カテゴリー           | 遺伝子   | 酵素欠損  | 肝所見  | その他の所見  |
|--|-----------------|---|---|--|---|
| CPT2 deficiency (CPT2 欠損症)   | カルニチン転移と脂肪酸化の異常 | <i>CPT2</i> (1p32)  | CPT2(carnitine palmitoyltransferase 2、カルニチンパルミトイル CoA 転移酵素 2)   | 小型の脂肪沈着<br>microvesicular steatosis、<br>肝腫大  | 進行性拡張型心筋症、<br>低ケトン性低血糖  |
| trifunctional protein deficiency   | 脂肪酸化異常          | <i>HADHA</i> (2p23)   | trifunctional protein<br>長鎖脱水酵素                                 | 小型の脂肪沈着<br>microvesicular steatosis、<br>肝腫大  | 低ケトン性低血糖  |
| CACT deficiency (CACT 欠損症)   | カルニチン転移と脂肪酸化の異常 | <i>SLC25A20</i> (3p21.3)  | CACT(carnitine acylcarnitine translocase、カルニチン・アシルカルニチントラスロカーゼ) | 肝不全、<br>小型の脂肪沈着<br>microvesicular steatosis  | 低ケトン性低血糖、<br>新生児致死型/<br>重症乳児肝心筋型/筋型                               |
| Congenital disorder of glycosylation type I b                                    | 炭水化物欠損性糖タンパク症候群 | <i>MPI</i> (15q22-qter)   | マンノース6リン酸イソメラーゼ   | 線維化・脂肪沈着   | 低インシュリン性低血糖   |
| Mitochondrial DNA depletion syndrome (ミトコンドリア DNA 枯渇症)                           | ミトコンドリア異常       | mitochondrial deoxyguanosine kinase 遺伝子 (2p13)<br><br>Secondary association<br><i>C10orf2</i> (10q24) | ミトコンドリア デヒドロチミジン キナーゼ (TK2)                                     | 肝腫大、<br>異常肝機能テストにてミトコンドリア DNA の欠損 (80~99%)、<br>micronodular な肝硬変、<br>胆汁うっ滞、<br>脂肪変性、<br>黄疸、<br>肝細胞壊死、<br>偽腺房形成 | 筋緊張低下、<br>乳酸アシドーシス、<br>多系統病、<br>肝脳型/ミオパチー型/良性後発ミオパチー型もしくは心筋ミオパチー型 |
| Wolman's disease (ウォルマン病) and cholesteryl ester storage disease (コレステロールエステル蓄積病) | 脂肪蓄積異常          | <i>LIPA</i> (10q24-q25)   | リソソーム酸性リパーゼ   | 肝腫大・脾腫大、<br>肝線維化(泡沫マクロファージ・Kupffer 細胞)   | ウォルマン病は小児期に発症、<br>コレステロールエステル蓄積病は成人発症                             |

この症例の患児は9か月までは異常はなかったが、消化管の風邪をひいて突然急性肝不全を起こした。長鎖脂肪酸の蓄積による脂肪酸酸化異常は、重篤な臨床症状(低ケトン血性低血糖症・肝障害・心筋症の有無に関わらないミオパチー・突然死・妊娠時の異常など)を起こす。中/短鎖脂肪酸の蓄積の場合、症状はこれよりも軽微であるにも関わらず、小児の間に致死的になりやすい。超長鎖脂肪酸の蓄積を起こす障害(CACTやCPT2の障害)では代謝機能が障害されるまで無症候性のこともあり、今回はそのケースであったと思われる。

以上より、CACT 欠損症または CPT2 欠損症を原因とするミトコンドリア脂肪酸酸化異常症が疑われた。

## 【Pathological Discussion】

### ●新生児スクリーニング検査

新生児スクリーニング検査の結果、総カルニチン値↓(18 $\mu$ mol/l、正常値:38<<68)、遊離カルニチン値は2 $\mu$ mol/l(27<<49)であり、CACT欠損症またはCPT2欠損症の可能性が強く示唆された。

### ●ミトコンドリア枯渇試験

ミトコンドリア枯渇試験の結果、ミトコンドリアDNAの含有量は41%で正常値であり、ミトコンドリアDNAの異常が原因である可能性は低いことがわかった。

### ●三次元MRI

入院5日目、患児に精神的動揺が見られたため三次元MRIが施行され、T2強調画像にて大脳半球の白質において年齢不相応の髄鞘形成亢進が見られた(Figure3.-A,B)。

### ●MRS

MRS(Single voxel proton MR spectroscopy)では、異常な脂質のピークが1.4ppmと0.9ppmに見られた(Figure3.-C,D)。これらの所見はシェーグレン・ラルソン Sjögren-Larsson 症候群(=脂肪アルデヒド脱水素酵素の欠乏による脂肪アルコールの酸化障害)、ツェルウェガー Zellweger 症候群(=PEX 遺伝子の変異)、CPT1欠損症を含む脂質の代謝異常を示唆する。

患児は、Sjögren-Larsson 症候群の症状(魚鱗癬・精神機能障害・痙縮)がなく、MRIにて脳室周囲の白質の異常や髄鞘形成の遅れはなかった。MRI所見はZellweger 症候群にも矛盾している(Zellweger 症候群では一般に、髄鞘形成の遅れや異常な脳溝が見られる)。

臨床症状を有しかつ画像が今回の症例の患児に似たCPT1欠損症の症例が報告されている文献がある。

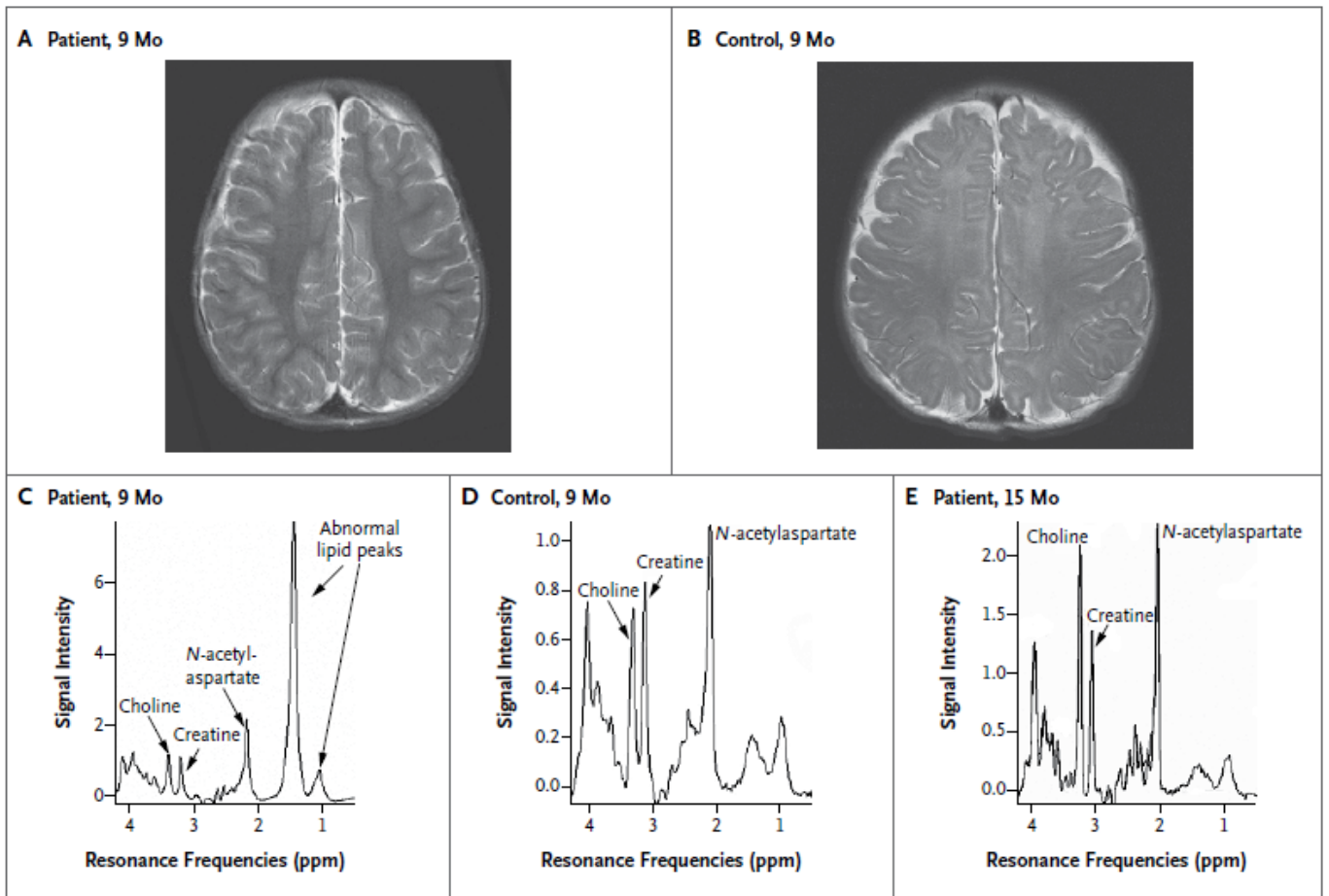


Figure3. : A)三次元 MRI T2 強調画像。大脳半球白質に年齢不相応な髄鞘形成の亢進が見られる。(B は control) C) Single voxel proton MR spectroscopy(9 か月時)。異常な脂質の peak が 1.4ppm,0.9ppm にある。(D は control) E) 治療開始後の Single voxel proton MR spectroscopy(15 か月時)。異常な脂質の peak は消失した。

## ●遺伝子検索

CACT欠損症とCPT2欠損症に鑑別が絞られたところで遺伝子検索を行い、CPT2 遺伝子に変異はなかったが CACT遺伝子にいくつか変異が見つかり、CACT欠損症と確定診断がなされた。

CACT欠損症ではSLC25A20の変異の常染色体劣性遺伝によりCACTが不足し、ミトコンドリア内膜を通ったカルニチンとアシルカルニチンの交換が障害される。今回の症例のような月齢での発症ではriskが高く、新生児痙攣・不整脈・無呼吸などが見られる。世界中で30例ほどしか見つかっていない。

## 【臨床診断】カルニチン・アシルカルニチントラスロカーゼ(CACT)欠損症

### (CACT欠損による Microvesicular なミトコンドリア脂肪酸酸化異常)

#### 【治療経過】

カルニチンの約75%が食事(肉・乳製品・大豆)から摂取され、残りの25%が体内で合成されている。ゆえに一般に、この疾患の患者には食事から長鎖脂肪酸を除去して代わりに経口カルニチンを加えて治療をする。脂肪の吸収を抑制するため、消化器科からはウルソデオキシコール酸が処方される。

すなわち、全身治療・酵素欠損を考慮した食事療法・生化学遺伝学の俯瞰など、多角的なチーム医療が必要である。中でも食事療法が最重要であろう。

患児は現在3歳で、脂肪酸10%に抑えた食事を摂り、カルニチンとウルソデオキシコール酸を補充し、元気に成長している。現在、身長・体重ともに50パーセントイル、頭囲は35パーセントイルである。

なお、この症例に特徴的なMRIでの髄鞘形成の亢進については明らかではないが、脂肪代謝異常により深部および皮質下の白質の両側の髄鞘化が亢進している可能性があるが、まだデータが少ない。なお片側の髄鞘化は、Sturge-Weber スタージ・ウェーバー症候群、微小脳機能障害 MCD や乳幼児突然死症候群で見られる。

#### 【考察】

##### ●新生児スクリーニング検査の受診による代謝疾患の検索の重要性

今回の症例の患児は、通常の新生児マススクリーニング検査は受けていたが、9か月で代謝疾患が見つかった。CACT欠損症やCPT2欠損症を含む脂肪酸酸化異常症では、特に症状のない新生児で特異的なアシルカルニチン↑が起きるため、新生児スクリーニング検査で発見することが可能である。米国の多くの州(マサチューセッツ州を含む)では、マススクリーニング以外の新生児スクリーニング検査は任意で受診することが可能である。

この症例では、母親がマススクリーニング以外の新生児スクリーニング検査の受診を選択しなかったようであり、その他のスクリーニングにより診断可能な代謝疾患の検索の重要性を強調している。

#### 【感想など】

今回の症例は、(個人的には)普段は頭の片隅に追いやられがちな先天代謝疾患の症状を印象に残す意味も込めて、取り上げさせていただきました。実は小児科の系統講義(先天代謝異常症)でもさらっと教わった疾患です。

注目すべき点は、マススクリーニング対象の6疾患以外にも新生児期のスクリーニング検査が有効な疾患があるということだと思います。具体的には、ネオグラムキットといって新生児の血中アミノ酸・遊離カルニチン・アシルカルニチンなどを測定する質量分析計(mass spectrometry)を用い、タンデム質量分析計(MS/MS)またはタンデムマス法とも呼ばれています。

なお日本では、2004年から試験研究が開始され、2010年は全出生数107万人中23万人がこの検査を受け、9000人に1人に何らかの疾患が発見されたそうです(脂肪酸代謝異常症については32万人に1人)。「タンデムマス・スクリーニング普及協会」がこの検査を推進していますが、2010年現在、検査を全県下で実施しているのは8県、一部の病院で受診可能なのは15県に限られています。