

症例報告

ミトコンドリア病と鑑別を要する臨床表現型を呈し CYP27A1 遺伝子エクソン 1 に新規フレームシフト変異 (c. 43_44delGG) を認めた脳腱黄色腫症の 1 例

高下 純平¹⁾ 林 信太郎¹⁾ 山口 浩雄¹⁾
立石 貴久¹⁾ 村井 弘之¹⁾ 吉良 潤一^{1)*}

要旨：症例は 37 歳男性。23 歳よりけいれん発作を繰り返した。35 歳から難聴や歩行時のふらつきが出現し当科に入院した。近親婚の家族歴があった。低身長で、腱黄色腫はなかった。mini-mental state examination は 19 点、感音性難聴、断続性発話、嚥下障害、四肢の痙攣、小脳症状を認めた。血中と脳脊髄液中の乳酸とビルビン酸が増加していた。頭部 MRI で小脳半球、脳幹、内包に対称性の病変を認めた。ミトコンドリア病を疑ったが、筋生検とミトコンドリア DNA 遺伝子解析に異常なかった。血清コレステロール高値、CYP27A1 遺伝子の新規遺伝子変異 (c. 43_44delGG のホモ接合体) を認め、脳腱黄色腫症と診断した。

(臨床神経 2016;56:667-671)

Key words：脳腱黄色腫症、ミトコンドリア、コレステロール、CYP27A1、MERRF

はじめに

症 例

脳腱黄色腫症 (cerebrotendinous xanthomatosis; CTX) は、進行性の知能低下、錐体路症状、小脳症状、アキレス腱黄色腫、若年性白内障、難治性下痢などにより特徴づけられる常染色体劣性遺伝性疾患であり¹⁾、海外で約 300 例、本邦において 50 例ほど報告されている²⁾。1968 年、Menkes らにより神経組織にコレステロールとコレステノールが蓄積する脂質代謝異常症であることが明らかにされた³⁾。その後チトクロム P-450 蛋白 (cytochrome P-450) である 27-水酸化酵素 (27-hydroxylase; CYP27) の欠損が認められることが判明し⁴⁾、診断には血清コレステノール濃度測定が有用と近年報告されている⁵⁾。ケノデオキシコール酸が治療に用いられるが²⁾、非典型例もあるため確定診断までに時間を要した場合、重篤な神経障害を残す可能性が高い。今回我々は臨床表現型からミトコンドリア病が疑われたが筋病理や遺伝子検査の結果否定的であり、他疾患について検索したところ血清コレステノール濃度高値と CYP27A1 遺伝子の新規変異が判明し、CTX の診断に至った 1 例を経験した。本例の意義について、文献的な考察とともに報告する。

患者：37 歳、男性

主訴：歩行時のふらつき

既往歴：20 歳時 臍帯ヘルニア手術。

家族歴：2 世代前に従兄弟婚あり。同症なし。

現病歴：妊娠、分娩に異常なかった。幼稚園の頃に精神遅滞を指摘され、小・中学校時代の学業成績は不良で運動も苦手であった。高校卒業後に自動車運転免許証を取得し、フォークリフトを操縦する仕事に従事した。1998 年 (23 歳) よりけいれん発作を繰り返した。近医でてんかんが疑われフェニトインの内服が開始された。この際に高乳酸血症を指摘されたが、ビルビン酸脱水素酵素活性は正常であった。その後徐々に歩行困難、構音障害、嚥下障害、右聴力低下が出現した。2010 年 (35 歳) から歩行時のふらつきが出現し、頻回に転倒するようになった。このため 2012 年 1 月に近医の脳神経外科を受診した結果、頭部 MRI で小脳と脳幹に異常信号を指摘され同年 5 月に当科に入院となった。

入院時所見：身長 160.0 cm (30~39 歳男性の平均身長 171.5 cm⁶⁾)、体重 72.0 kg、血圧 120/82 mmHg、脈拍 84/分・整、体温 35.6°C、一般身体所見では胸部腹部、表在リンパ節に異常なく、白内障、難治性下痢、腱黄色腫は認めなかった。神経学的に意識障害はなく、mini-mental state examination (MMSE)

*Corresponding author: 九州大学大学院医学研究院神経内科学 [〒 812-8582 福岡県福岡市東区馬出 3-1-1]

¹⁾ 九州大学大学院医学研究院神経内科学

(Received September 30, 2015; Accepted August 18, 2016; Published online in J-STAGE on September 28, 2016)

doi: 10.5692/clinicalneurology.000823

は 19 点だった。脳神経では滑動性眼球運動が衝動性であり、右感音性難聴、断続性発語、嚥下障害を認めた。眼振はなかった。運動系では右上肢の姿勢時振戦を除いてミオクロームスなど不随意運動はなく、四肢の筋緊張は痙縮であった。握力は右が 23 kg、左が 24 kg、四肢の徒手筋力テストは正常だった。反復拮抗運動は両側で拙劣、指鼻試験、踵膝試験、脛叩き試験、ロンベルグ試験に異常はなかったが、痙性歩行を認め継ぎ足歩行は不能であった。感覚系に異常なかった。下顎反射と四肢の腱反射は左右差なく著明に亢進しており、Babinski 反射、Chaddock 反射は両側で陽性であった。両側足関節に偽性間代を認めた。

検査所見：血算に異常なかった。生化学では ALP 367 U/l (基準値 115~359)、 γ -GTP 102 U/l (基準値 10~47)、中性脂肪 176 mg/dl (基準値 30~149) と軽度高値であった。CK、総コレステロール、HDL-C、LDL-C、セルロプラスミンは正常範囲であった。安静時の乳酸は 19.8 mg/dl (基準値 4.7~18.7)、ピルビン酸は 1.76 mg/ml (基準値 0.30~0.94) と高値であった

が、好気運動負荷試験では乳酸、ピルビン酸の増加は前値の 1.3 倍程度であった。動脈血ガス分析(室内気)では、pH 7.387、 PaO_2 81.9 mmHg、 PaCO_2 34.0 mmHg、 HCO_3^- 21.2 mmol/l であった。フェニトインの血中濃度は 4.46 $\mu\text{g/ml}$ (基準値 10~20) であった。抗甲状腺ペルオキシダーゼ抗体、抗核抗体、抗 SS-A 抗体、抗 SS-B 抗体、MPO-ANCA、PR3-ANCA は陰性であった。脳脊髄液検査で外観は無色透明、細胞数と糖は正常だったが、蛋白 50 mg/dl (基準値 10~40)、乳酸 20.8 mg/dl、ピルビン酸 0.98 mg/dl と増加を認めた。骨粗鬆症に関する精査は行わなかった。頭部単純 MRI では両側の小脳半球や内包後脚、中脳大脳脚や橋、延髄の錐体路に T_2 強調画像と FLAIR 画像で高信号病変を認めたが (Fig. 1A, B)、ガドリニウムによる異常造影効果はなかった。核磁気共鳴スペクトロスコピー (MRS) では、両側小脳半球で choline の増加、N-acetyl-aspartate (NAA) の低下、乳酸の軽度増加を認めた。脳血流シンチグラフィ ($^{99\text{m}}\text{Tc-ECD}$) では、両側の小脳と大脳皮質の血流がびまん性に低下しており、特に両側高位前頭葉で顕

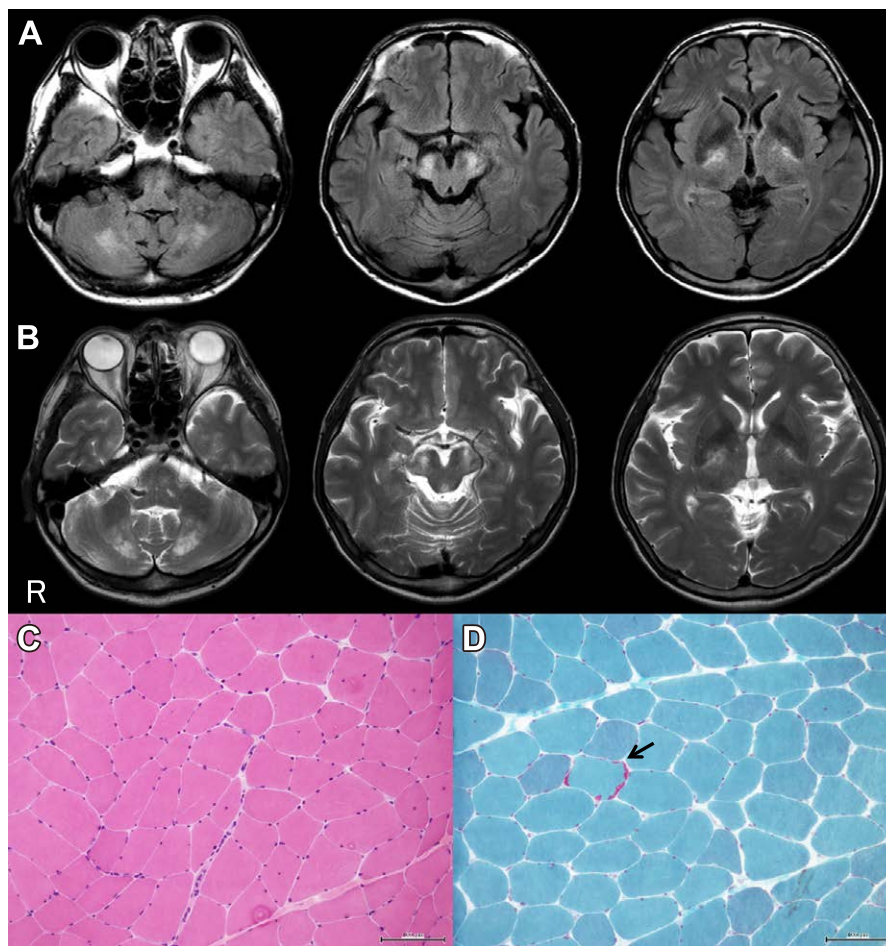


Fig. 1 Neuroimaging and pathological findings.

A, B: Axial views of the brain on fluid attenuated inversion recovery images (TR 10,000 ms, TE 120 ms) and T_2 weighted images (TR 3,000 ms, TE 80 ms) show hyperintense lesions in the cerebellum (left), and cerebral peduncles (middle) and internal capsules (right), bilaterally. C: Muscle specimens obtained from the left biceps brachii. Hematoxylin and eosin staining reveals mild variations in fiber size with occasional central nuclei. D: Modified Gomori trichrome staining shows very few ragged-red fibers (black arrow). Bar = 100 μm .

著であった。神経伝導検査で特記すべき異常はなかった。針筋電図検査では左側の三角筋と上腕二頭筋で弱収縮時の motor unit potential が低振幅であったものの安静時自発放電はなく、最大収縮時の干渉は正常だった。運動誘発電位検査では、短母指外転筋記録で両側の中樞伝導時間が右 11.20 ms、左 11.45 ms と延長しており（基準値 10.67 ms 以下）、短母趾外転筋記録では左側で中樞伝導時間が 22.40 ms と延長していた（基準値 21.04 ms 以下）。脳波検査では背景活動は 7 Hz 前後、中等度振幅の θ 波で、明らかな優位律動はなかった。両側前頭部優位に中等度振幅の律動性 θ 波が間欠性に出現し、左側頭部に限局的な律動性 δ 波が低頻度に出現していた。24 時間ホルター心電図検査で、Wenckebach II 型房室ブロックを認めたが、経胸壁心エコーで異常所見はなかった。

以上よりミトコンドリア病、特に myoclonic epilepsy with ragged-red fibers (MERRF) の可能性を考え左側上腕二頭筋より筋生検を施行した。ヘマトキシリン・エオジン染色 (Fig. 1C) では筋線維サイズの大小不同、modified Gomori trichrome 染色でごく少数の ragged-red fiber (RRF) を認めた (Fig. 1D)。末梢血を用いたミトコンドリア DNA 遺伝子解析で MERRF の原因とされる 8344A>G, 8356T>C, 8363G>A のヘテロプラスミー、その他疾患との関連が報告されている変異は認めなかった。ミトコンドリア呼吸鎖酵素 (cytochrome c oxidase, succinate-cytochrome c reductase, rotenone-sensitive NADH cytochrome c reductase, NADH dehydrogenase) 活性は正常であったが、reference enzyme として測定した citrate synthase 活性は 14.39 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ 組織（基準値 7.33~12.43）と高値を示した。以上からミトコンドリア病と確定診断できなかったため代謝性疾患を中心に他疾患について精査を行った。その

結果、血清コレステロールが 20.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と増加（健常人平均 2 ± 2 ）⁷⁾、血清コレステロール：コレステロール比も 1.22%（基準値 < 0.3）と高値⁸⁾であることが判明したため CTX を疑い、次世代シーケンサーを用いてヒト全ゲノムシーケンス解析を行った結果、*CYP27A1* 遺伝子において c.43_44delGG のホモ接合体であることが判明した。さらに患者本人および正常人のゲノム DNA を鋳型として、*CYP27A1* 遺伝子エクソン 1 の c.43_44delGG を含む領域を PCR 法で増幅し、ダイレクトシーケンシング法を用いてキャピラリーシーケンサー (ABI3130 ジェネティックアナライザー) により塩基配列を解析し確認した (Fig. 2)。ケノデオキシコール酸 (375 mg/日) を開始し退院となった。その後、施設入所のため 2013 年 12 月にて当科外来診療は終了としたが、この間に神経所見の改善はなかった。後日、本人が内服時に不機嫌となるため、親が服薬を中止していたことが判明した。

考 察

本例は繰り返す意識消失発作で発症し、低身長、難聴を認めた。下肢の痙縮のため小脳性運動失調症の評価は困難であったが、断続性発語や反復拮抗運動障害から小脳障害が示唆された。さらに血液、脳脊髄液中の乳酸とピルビン酸が高値であったことから、当初 MERRF を疑った。本例で認めたミトコンドリア呼吸鎖酵素活性が正常で citrate synthase 活性が増加していた結果はミトコンドリアの増生と潜在的機能障害を反映するとされ⁹⁾、同病を示す所見である。一方でミオクロノスを認めなかったこと、画像所見で頭部の病巣が左右対称性の分布を呈した点は MERRF として矛盾はしないも

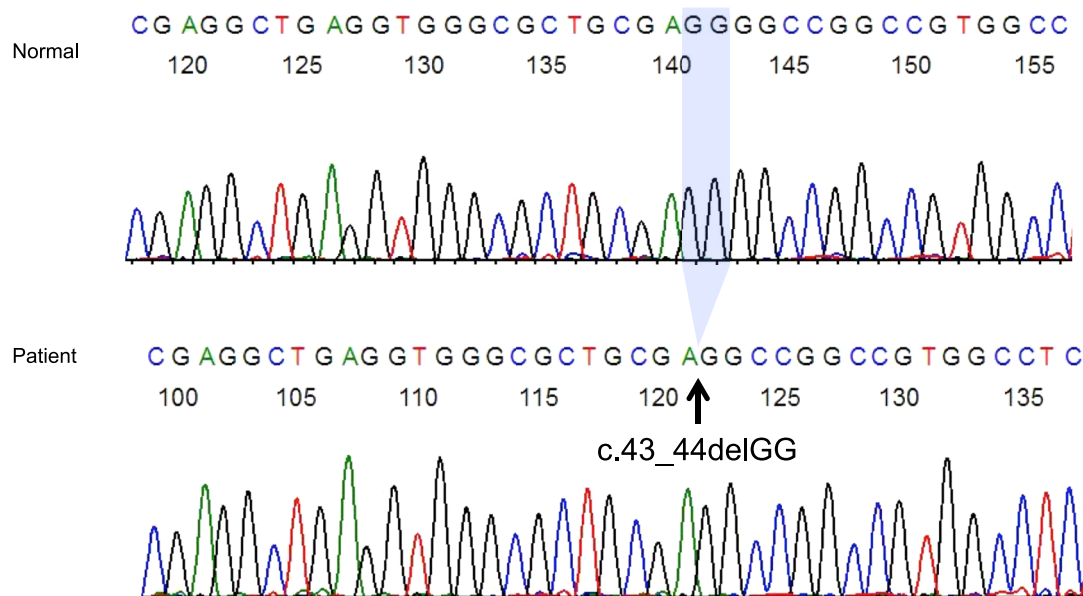


Fig. 2 Genetic analysis by direct sequencing of *CYP27A1* gene of the patient.

Integrative Genomics Viewer analysis (data not shown) indicated homozygous deletion mutation of GG at nucleotide position 43_44 in exon 1 of *CYP27A1* gene (c. 43_44delGG). Direct sequencing (data shown) confirms the deletion mutation.

の非典型的と考えられた。同病は臨床・画像所見ともに多彩な疾患であり、かつ特徴的な所見が一時期に揃うとは限らないことから¹⁰⁾、診断に苦慮した。さらに本例の小脳症状について、当科入院時のフェニトイン血中濃度は基準値以下だったものの、長期間服用していた同薬の影響を否定できなかった。最終的に血清コレステロール濃度高値と原因遺伝子異常を認め、CTXの診断に至った。しかし本例の身体所見について本邦の研究班の診断基準と照らし合わせると、アキレス腱黄色腫と若年性白内障を認めないので、possibleにも該当しない。この点について、本例では将来的にCTXに特徴的な身体所見が生じてくる可能性も否定できないが、今回検出された新規遺伝子変異を有するCTXの特徴であることも考えられ、今後の注意深い観察が必要である。

CTXはミトコンドリアに局在する27-hydroxylaseの活性低下により組織にコレステロールとコレステロールが沈着する常染色体劣性遺伝形式の脂質代謝異常症で、第2常染色体長腕(2q35)上にあるCYP27A1遺伝子変異が原因とされている¹⁾。腱黄色腫は有名だが出現頻度は報告によって40~90%程度と様々である¹¹⁾。頭部画像所見では大脳白質や小脳歯状核に左右対称性の病変、びまん性の大脳・小脳萎縮を認めることが特徴である²⁾。MRSではNAAの減少と乳酸の増加を示すが、前者は軸索障害、後者はびまん性の脳ミトコンドリア機能異常を反映し¹⁾、本例もこれに合致する所見が得られた。筋病理では筋線維サイズの大小不同を認め、電子顕微鏡所見でミトコンドリア形態異常が指摘されている¹²⁾。ミトコンドリア呼吸鎖酵素活性低下や高乳酸血症、高ビルベリン酸血症を認めたがミトコンドリアDNA遺伝子変異のないCTX例があり¹³⁾、病態として27-hydroxylase活性低下に続発したミトコンドリア機能異常が推察されている。以上の観察は、CTXではミトコンドリア病と共通した臨床表現型を呈し得る可能性を示唆するが、本例では検査値のみでなく身体的にもミトコンドリア病に共通する所見を呈した点で興味深い。特に本例で認めた難聴について、CTXでは著しく稀な所見である。Mondelliらは脳幹聴覚誘発電位による検討を行い、CTX症例の50%でI-III波とI-V波の潜時延長を認めたがIII-V波の潜時が正常であったことから、潜在的に末梢性の蝸牛神経障害を有する症例が存在することを報告した¹⁴⁾。ミトコンドリア病で高頻度に認める難聴の原因について、音の伝達のために必要なイオン勾配維持のため代謝が活発な部位である蝸牛の血管条は、ミトコンドリアに異常が生じると呼吸鎖の障害によりATP産生が低下し最終的に上皮細胞死に陥り易いことが推察されている¹⁵⁾。従って、ミトコンドリア障害の所見を有する本例においても同様の機序が存在し、無治療の期間が長期に亘ったことも重なり、臨床的に難聴を呈するに至った可能性を考えた。

CTXの診断に用いられる血清コレステロール濃度⁵⁾の平均値は、健常人では $2 \pm 2 \mu\text{g/ml}$ 、CTXでは $23 \pm 12 \mu\text{g/ml}$ である⁷⁾。またKasamaら⁸⁾は、CTXの生物学的診断マーカーとして血清コレステロール:コレステロール比(患者で0.3%以上)を提唱している。血清コレステロール高値を示す疾患は他に家

族性高コレステロール血症、シトステロール血症などがあるが¹⁶⁾、本例は検査所見から家族性高コレステロール血症は否定的で、シトステロール血症は一般的に神経症状を伴わないことから否定的と考えた。

CTXはケノデオキシコール酸投与にて神経症状の改善が得られる場合がある²⁾。このためミトコンドリア病の臨床的特徴を有する症例であっても、筋生検で所見に乏しく遺伝子解析で変異が検出されない場合にはCTXを鑑別する必要がある。その際に血清コレステロール測定と遺伝子解析が診断に寄与するものと考えられた。本例は特に、原因遺伝子の異常を認めても本邦の診断基準を満たさないCTX例が存在する事を示し、特徴的な身体所見に乏しい場合の鑑別に留意が必要である。

謝辞：遺伝子解析を行っていただいた、九州大学神経内科、飯沼今日子先生に深謝いたします。

※本論文に関連し、開示すべきCOI状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

文 献

- 1) Gallus GN, Dotti MT, Federico A, et al. Clinical and molecular diagnosis of cerebrotendinous xanthomatosis with a review of the mutation in the CYP27A1 gene. *Neurol Sci* 2006;27:143-149.
- 2) 野末 剛. 脳腱黄色腫症の遺伝子解析とケノデオキシコール酸による治療効果に関する研究. *金沢大十全医会誌* 2002; 111:20-34.
- 3) Menkes JH, Schimschock JR, Swanson PD. Cerebrotendinous xanthomatosis: the storage of cholestanol within the nervous system. *Arch Neurol* 1968;19:47-53.
- 4) Oftebro H, Björkhem I, Skrede S, et al. Cerebrotendinous xanthomatosis; a defect in mitochondrial 26-hydroxylation required for normal biosynthesis of cholic acid. *J Clin Invest* 1980;65:1418-1430.
- 5) de la Fuente BP, Sobrido MJ, Girós M, et al. Usefulness of cholestanol levels in the diagnosis and follow-up of patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *Neurologia* 2011;26:397-404.
- 6) 矢島鉄也. 厚生労働省平成23年国民健康・栄養調査報告. 2013. p. 108.
- 7) 奥田九一郎, 瀬戸口敏明. ある遺伝子疾患解明のパラダイム—脳腱黄色腫症の発見から病因の分子生物学的解明まで—. *蛋白質 核酸 酵素* 1994;39:2102-2112.
- 8) Kasama T, Byun DS, Seyama Y, et al. Quantitative analysis of sterol in serum by high-performance liquid chromatography. Application to the biochemical diagnosis of cerebrotendinous xanthomatosis. *J Chromatogr* 1987;400:241-246.
- 9) Pon LA, Schon EA. *MITOCHONDRIA* 2nd ed. California, London: Academic press; 2007. p. 114.
- 10) Mancuso M, Orsucci D, Angelini C, et al. Phenotypic heterogeneity of the 8344A>G mt DNA "MERRF" mutation. *Neurology* 2013; 80:2049-2054.
- 11) Verrips A, van Engelen BGM, Wevers RA, et al. Presence of diarrhea and absence of tendon xanthomas in patients with

- cerebrotendinous xanthomatosis. Arch Neurol 2000;57:520-524.
- 12) Chen SF, Tsai NW, Chang CC, et al. Neuromuscular abnormality and autonomic dysfunction in patients with cerebrotendinous xanthomatosis. BMC Neurology 2011;11:63.
 - 13) Dotti MT, Manneschi L, Federico A, et al. Mitochondrial enzyme deficiency in cerebrotendinous xanthomatosis. J Neurol Sci 1995;129:106-108.
 - 14) Mondelli M, Sicurelli F, Scarpini C, et al. Cerebrotendinous xanthomatosis: 11-year treatment with chenodeoxycholic acid in five patients. An electrophysiological study. J Neurol Sci 2001;190:29-33.
 - 15) Scarpelli M, Zappini F, Filosto M, et al. Mitochondrial sensorineural hearing loss: a retrospective study and a description of cochlear implantation in a MELAS patient. Gene Res Int [Internet]. 2012 [cited 2016 Jun 1]; Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/287432>.
 - 16) Nie S, Chen G, Cao X, et al. Cerebrotendinous xanthomatosis: a comprehensive review of pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and management. Orphanet J Rare Dis 2014;9:179.

Abstract

A case of cerebrotendinous xanthomatosis mimicking the clinical phenotype of mitochondrial disease with a novel frame-shift mutation (c. 43_44 delGG) in *CYP27A1* gene exon 1

Junpei Koge, M.D.¹⁾, Shintaro Hayashi, M.D., Ph.D.¹⁾, Hiroo Yamaguchi, M.D., Ph.D.¹⁾, Takahisa Tateishi, M.D., Ph.D.¹⁾, Hiroyuki Murai, M.D., Ph.D.¹⁾ and Jun-ichi Kira, M.D., Ph.D.¹⁾

¹⁾Department of Neurology, Neurological Institute, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

A 37-old-male with a history of early childhood mental retardation was admitted to our hospital. He experienced recurrent syncope at 23 years old, and at age 35 gait disturbance and hearing impairment developed gradually and worsened over time. His grandparents were in a consanguineous marriage. He was of short stature and absent of tendon xanthomas. Neurological examinations revealed scanning speech, dysphagia, right sensorineural hearing loss, spasticity in both upper and lower extremities, and spastic gait. Tendon reflexes were brisk throughout, and Babinski and Chaddock reflexes were both positive bilaterally. Laboratory tests revealed elevated lactate and pyruvate concentrations in both serum and cerebrospinal fluid. Fluid attenuated inversion recovery magnetic resonance imaging showed high intensity lesions in the bilateral cerebellar hemispheres, pyramidal tracts in the brainstem, and internal capsules symmetrically. Brain magnetic resonance spectroscopy measurements revealed an elevated lactate/creatine plus phosphocreatine ratio and a decreased N-acetyl-aspartate/creatine plus phosphocreatine ratio in the cerebellum. At this point, mitochondrial diseases, particularly myoclonic epilepsy with ragged-red fibers (MERRF), to be the most likely cause. We performed a biopsy of his left biceps brachii muscle, showing variations in fiber size with occasional central nuclei and very few ragged-red fibers. Blood mitochondrial respiratory enzyme assays showed normal values with elevated citrate synthase activity, and mitochondrial DNA analyses for MERRF revealed no pathogenic mutations. We then explored other possibilities and detected an elevated serum cholestanol concentration of 20.4 µg/ml (reference value <4.0) and genetic analysis by direct sequencing method disclosed a novel frame-shift mutation (c. 43_44delGG) in *CYP27A1* gene exon1, leading to a diagnosis of cerebrotendinous xanthomatosis (CTX). This case emphasizes importance of awareness of CTX as a possibility when patients present with clinical phenotypes mimicking mitochondrial diseases, but with negative results for muscle pathology or genetic analyses. The measurements of serum cholestanol concentrations might be useful in diagnosing such atypical cases.

(Rinsho Shinkeigaku (Clin Neurol) 2016;56:667-671)

Key words: cerebrotendinous xanthomatosis, mitochondria, cholestanol, *CYP27A1*, MERRF