

シトリン欠損症の病態について

早坂 清

山形大学医学部小児科学講座
みゆき会病院小児科
(令和元年11月12日受理)

要 旨

シトリンは、*SLC25A13*にコードされ、主に肝臓に発現するアスパラギン酸グルタミン酸輸送体であり、リンゴ酸-アスパラギン酸シャトルを構成する。このシャトルは、肝の解糖系に不可欠であり、シトリン欠損症の主な罹患臓器は肝臓である。シトリン欠損症は、*SLC25A13*変異が病因であり、日本人を含む東南アジア人に多い疾患である。3つの病型があり、新生児期には、肝内胆汁うっ滞症 (NICCD)、適応・代償期には、発育不全と脂質異常症 (FTTDCD)、成人期には、シトルリン血症2型 (CTLN2) を惹起する。

肝細胞はエネルギー源として、食間には脂肪酸を、食後にはグルコースを利用する。肝細胞は、食後の高血糖時に糖を取り込み、多くをグリコーゲンの合成に、一部は解糖系を介してエネルギー源および脂質の合成 (de novo lipogenesis) に利用する。シトリン欠損症では、NADHシャトルの障害から肝の解糖系が障害される。近年、肝PPAR α の低下が確認され、更に中鎖脂肪酸療法の著明な効果が報告された。本症では、肝の解糖系、脂質合成および β 酸化が障害されることから、肝細胞のエネルギー欠乏が基本的病態と考える。中鎖脂肪酸療法は、特異的に肝細胞にエネルギーを供給し、本症の基本的病態を改善する効果的な治療法である。また、本症では成長が著しい胎児期後半、新生児期および思春期に、成長障害が認められ、シトリン欠損による脂質合成障害に起因すると考える。CTLN2における高アンモニア血症は、肝におけるアルギニノコハク酸合成酵素の二次的障害が主因と考えられてきたが、アンモニアおよび血漿アミノ酸の解析から、グルタミン合成酵素の二次的障害が主因と推察される。また、肝の免疫組織学的変化から、肝細胞のzoningの障害が示唆される。シトリン欠損症は、糖、アミノ酸および脂質の代謝が複合的に障害される疾患であり、更なる病態の解明が待たれる。

キーワード：シトリン欠損症、リンゴ酸-アスパラギン酸シャトル、シトリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞症、成人発症シトルリン血症2型、中鎖脂肪酸

はじめに

シトルリン血症は、シトルリン血症1型とシトルリン血症2型に分類される。シトルリン血症1型はアルギニノコハク酸合成酵素 (argininosuccinate synthase 1: ASS1) の遺伝子変異が病因であり、他の尿素回路の酵素異常症と同様に新生児~成人に高アンモニア血症を起こす疾患である。

一方、シトルリン血症2型 (シトリン欠損症) は、シトリンをコードする*SLC25A13*遺伝子変異が病因であり、二次的にシトルリンの代謝が障害される。本

疾患は、日本人を含む東南アジア人に多く認められ、1968年、宮腰らにより高シトルリン血症を伴う慢性反復性肝脳疾患として報告された¹⁾。生来、豆を好むという食嗜好を持つ人が、突然、アンモニア脳症を発症し死に至る疾患として知られてきた。1999年、小林らにより、連鎖解析からシトリンをコードする*SLC25A13*の遺伝子変異が明らかにされた²⁾。シトリンは、ミトコンドリアに局在するアスパラギン酸グルタミン酸輸送体で主に肝臓に発現し、リンゴ酸-アスパラギン酸シャトルを構成する (図1)²⁾⁻⁴⁾。このNADHシャトルは、肝の解糖系に不可欠であり、シトリン欠損症では肝の解糖系が基本的に障害さ

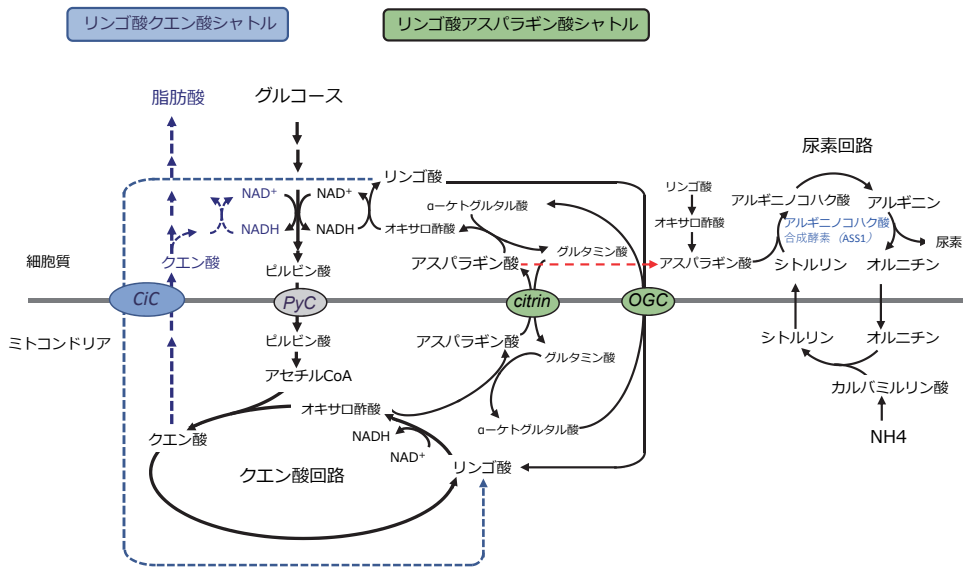


図1. 肝臓におけるNADHシャトルと尿素回路
 CiC：クエン酸輸送体、PyC：ピルビン酸輸送体、OGC：リンゴ酸 α-ケトグルタル酸輸送体
 実線は解糖系、TCAサイクル、リンゴ酸アスパラギン酸シャトルおよび尿素回路を示し、青い点線は脂質合成系を示す。

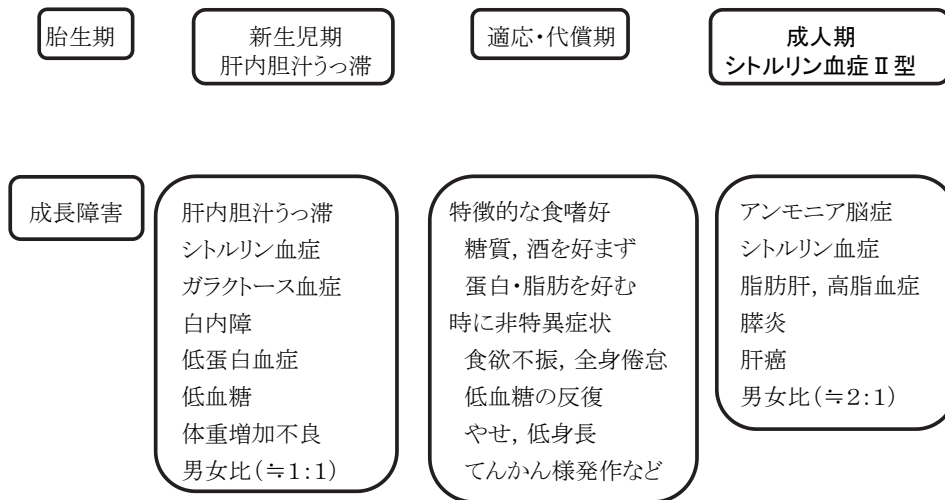


図2. シトリン欠損症の年齢依存症状

れる。シトリン欠損症には、年齢に応じた3つの病型がある(図2)。新生児期には、新生児肝内胆汁うっ滞症(neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: NICCD)、適応・代償期には、発育不全と脂質異常症(failure to thrive and dyslipidemia caused by citrin deficiency: FTTDCD)、成人期には、成人発症シトルリン血症2型(adult-onset type 2 citrullinemia: CTLN2)を惹起する⁴⁾。

シトリン欠損症は、糖、アミノ酸および脂質の代謝が複合的に障害される疾患である。近年、脂質代謝については、CTLN2の肝におけるperoxisome

proliferator-activated receptor α (PPAR α) の低下が見出され⁵⁾、治療については、中鎖脂肪酸(Medium chain triglycerides: MCT)の補充療法がNICCDおよびCTLN2に対して著効を示す事が見出された⁶⁾⁻⁸⁾。更に、最近、シトリン欠損症における特徴的な成長障害も報告されている⁹⁾。一方、肝臓における糖代謝の特徴が糖尿病の研究から明らかにされ¹⁰⁾⁻¹²⁾、アンモニア代謝においても、尿素回路に加えて、グルタミン合成酵素系の重要性が確認された¹³⁾。これらのことから、シトリン欠損症の病態について、新たな知見を統合した考察が求められる。

I シトルリン欠損症の3つの病型 (図2)

1. シトルリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞症 (neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: NICCD)

出生体重は平均体重よりも軽く、生後1～4ヶ月頃に肝内胆汁うっ滞を呈する。約40%の症例は新生児マス・スクリーニングにて、ガラクトース、メチオニン、フェニルアラニンなどの上昇が指摘される^{14),15)}。黄疸、淡黄色の脂肪便、体重増加不良、低血糖、白内障などの症状を呈し、検査では低蛋白血症および総胆汁酸、直接ビリルビン、アルカリホスファターゼやγグルタミルトランスペプチダーゼなどの胆道系酵素、トランスアミナーゼ (軽度)、血中アンモニア (軽度)、αフェトプロテインなどの上昇を認め、凝固能の低下、シトルリン、メチオニン、スレオニン、チロシン、アルギニンなどの血漿アミノ酸および血中ガラクトースが高値を示す。肝生検では、肝内胆汁うっ滞に加えて脂肪肝が認められる。多くは、生後6ヶ月頃から軽快し、1歳までには治癒する。臨床的特徴に基づき遺伝子解析により診断される³⁾。

2. シトルリン欠損による発育不全と脂質異常症 (Failure to thrive and dyslipidemia caused by citrin deficiency: FTTDCD)

NICCD治癒後には、豆腐を含めた豆類、チーズや肉類を好み、米飯や饅頭などの甘い物を好まないという食嗜好を示す。一部の症例では、反復する低血糖、易疲労感、低身長、高脂血症や膵炎などの症状を認め、FTTDCDと称する⁴⁾。国内では、早期に診断され食事指導 (高蛋白・高脂肪食) や中鎖脂肪酸補充療法を受けていることが多く、診断基準を満たす症例は少ない。ケトン性低血糖症を反復する症例では、本疾患を念頭に食嗜好を聴取することが重要である。

3. 成人発症シトルリン血症2型 (adult-onset type 2 citrullinemia: CTLN2)

約20万人に一人の発症頻度を示し、特徴的な食嗜好を示し、飲酒はしない。食事の変更 (低蛋白・低脂肪食) や手術などを契機に、10～70歳代に、高アンモニア血症による意識障害、失見当識、異常行動、全身倦怠、痙攣などを呈する⁴⁾。病初期には、夕食後に血中アンモニアが上昇し、脳症を発症するが、朝にはアンモニアは低下し脳症も軽快する。進行すると日中にも脳症が認められる。診断には、血中アンモニア測定のタイミングが重要である。精神病と誤診されることがあり、高脂血症、膵炎、肝臓癌などを併発することも

ある。脂肪肝を呈することが多く、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) と診断される症例もある¹⁶⁾。男性が女性の約2倍多く、多くは痩せていて、body mass index (BMI) は20以下である。検査では血中アンモニアおよび血漿シトルリンの上昇、Fischer比の低下に加えて、軽度の肝機能障害を認める。アンモニア脳症を反復し、放置すれば死に至る。診断は、臨床的特徴に基づき遺伝子診断を行う¹⁷⁾。

II シトルリンについて

1. シトルリンの遺伝子

シトルリンをコードする*SLC25A13*遺伝子は、染色体7q21.3に位置し、160kbの大きさで、18個のエクソンから構成される。シトルリンは、675個のアミノ酸からなるアスパラギン酸グルタミン酸輸送体であり、主に、肝臓、腎臓、心臓および新生児期の小腸に発現している²⁾⁻⁴⁾。シトルリン欠損症は劣性遺伝を示し、患者から検出される遺伝子変異は、蛋白質の構造を大きく変化させるフレームシフト変異、欠失、ナンセンス変異が多い。遺伝子型による臨床型の違いは認められない。日本人症例では、11種類の遺伝子変異が95%を占め、変異のホモ接合体もしくは複合ヘテロ接合体は、約7000人に一人存在する¹⁷⁾。

2. 肝臓におけるNADHシャトルの構成

シトルリンは、ミトコンドリア内膜に局在するアスパラギン酸グルタミン酸輸送体であり、リンゴ酸α-ケトグルタル酸輸送体とともにリンゴ酸-アスパラギン酸シャトルを構成する (図1)²⁾⁻⁴⁾。このシャトルは、解糖系で生成される細胞質のNADHの還元当量をミトコンドリア内へ転送し、NAD⁺に酸化 (リサイクル) するシステムで、解糖系には不可欠なシステムである。肝臓以外の組織ではシトルリンのアイソフォームであるアララ (アスパラギン酸グルタミン酸輸送体) が存在し代償することが推測され、シトルリン欠損症においては肝臓の解糖系が障害される。人の肝臓においては、齧歯類と異なり、グリセロールリン酸シャトルは作動しておらず、リンゴ酸-アスパラギン酸シャトルとリンゴ酸-クエン酸シャトルの2つがNADHシャトルとして作動している。リンゴ酸-アスパラギン酸シャトルは、解糖系において、リンゴ酸-クエン酸シャトルは脂質合成系において重要な役割を果たしている。

なお、シトルリンは、細胞質のグルタミン酸をミトコンドリア内に転送するとともに、ミトコンドリア内のアスパラギン酸を細胞質に転送する (図1)。細胞質

のアスパラギン酸は、シトルリンとともにASS1の基質として代謝されることから、シトルリン欠損症においては、アスパラギン酸不足によるASS1反応の障害が推測される。しかし、NICCDおよびCTLN2の発症時を除き、シトルリン血症（血漿シトルリンの上昇）は生涯認められない。アスパラギン酸は、非必須アミノ酸であり、肝機能が保持されればリンゴ酸（オキサロ酢酸）から生成され、肝細胞内で欠乏することは無い。一方、シトルリンのアイソフォームであるアララの欠損症では、中枢神経におけるアスパラギン酸の欠乏からミエリンの形成障害が惹起される¹⁸⁾。

3. 肝における糖代謝・脂質合成への関与

肝における糖代謝の特徴は、食後の血糖上昇時にグルコースを取り込み、大部分をグリコーゲンの合成に、一部は解糖系を介し脂質の合成（de novo lipogenesis）と肝細胞のエネルギー源として利用する。なお、肝細胞は、食間には脂肪組織から放出された脂肪酸をエネルギー源として利用する¹⁹⁾。グルコースはグルコース輸送体（主にGLUT2）により肝細胞に取り込まれ、グルコキナーゼ（GK）により最初に代謝される。グルコースに対するKmは、GLUT2が15–20 mM（270–360 mg/dl）およびGKも10mM（180 mg/dl）と高く¹⁹⁾、グルコースが肝細胞に取り込まれ代謝されるのは、食後など血糖値が上昇した時に限定される。また、解糖系は、ホスホフルクトキナーゼなどの代謝調節を受ける。ホスホフルクトキナーゼはクエン酸やATPによって阻害され、AMPやフルクトース6-リン酸により活性化されるアロステリック酵素である。一方、肝の解糖系は脂質合成系（de novo lipogenesis）と共役しており、グルコースは脂質の合成にも利用される。解糖系は転写調節因子carbohydrate response element-binding protein（ChREBP）により、脂質合成系はsterol regulatory element-binding protein-1c（SREBP-1c）により主に制御されるが、ChREBPは脂質合成系、SREBP-1cは解糖系の代謝調節にも関与し、相互の代謝は密接に関連している^{10)–12)}。図1に示すように、解糖系および脂質合成系の2つの反応は、リンゴ酸–アスパラギン酸シャトルとリンゴ酸–クエン酸シャトルの2つのNADHシャトルを介し、共役している。即ち、解糖系にて生成されたNADHは、脂質合成系を介しNAD⁺に酸化（リサイクル）され、細胞質のNAD⁺が増加する。

肝における脂質の合成（de novo lipogenesis）の意義について、高脂肪の欧米食を摂取している成人にお

いては、生理学的には重要な役割を有していないと考えられる²⁰⁾。しかし、成人では、栄養状態をモニターし、PPAR α 活性の調節を介してエネルギーの消費を調節していると考えられる²¹⁾（脂肪肝の項参照）。一方、身体が急速に成長する胎児期～小児期では、体内で脂質を合成・供給する重要な役割を担っていることが示唆される⁸⁾（成長障害の項参照）。

III シトルリン欠損症の病態代謝

1. シトルリン欠損症における成長障害

シトルリン欠損症の小児では、NICCD発症の有無に拘わらず、出生時体重および身長が小さい^{15,22)}。シトルリン欠損症の男児では体重 2.6 ± 0.3 kg（ $n=55$, $P=5.08E-14$ ）（標準体重 3.0 ± 0.4 kg）、身長 47.9 ± 1.9 cm（ $n=38$, $P=0.00051$ ）（標準身長 49.0 ± 1.9 cm）、女児では体重 2.6 ± 0.3 kg（ $n=63$, $P=7.98E-16$ ）（標準体重 3.0 ± 0.4 kg）、身長 47.6 ± 2.3 cm（ $n=42$, $P=0.0076$ ）（標準身長 48.5 ± 1.8 cm）と有意に小さく、シトルリンは胎児期の成長に関与していることを示している⁹⁾。妊娠後期には、胎児の体脂肪および中枢神経系が急速に発育し、脂質の需要が増大する。しかし、母体から胎盤を介し供給されるリポ蛋白や脂肪酸は十分でなく、胎児における脂質の合成（de novo lipogenesis）が重要な役割を果たしている^{23)–26)}。シトルリンは、脂質の合成（de novo lipogenesis）を介して、胎児の成長に寄与していることが示唆される。

NICCDを発症した小児では、体重は出生時から生後6–9ヶ月まで標準より有意に少なく、NICCD治療後、男児では7–12歳、女児では8歳時に再び低値を示す。身長は男女ともに11–13歳まで低値を示す。NICCDの非発症児では、新生児～乳児期の成長障害は認められないが、NICCD発症児と同様に思春期の成長障害が認められる。生後の半年間および思春期は、急速な成長が認められる時期であり、シトルリン欠損症ではde novo lipogenesisが障害されるため、成長が障害されるものと考えられる⁹⁾。

2. NICCDの発症と治療

肝細胞は、エネルギー源として胎児期にはアミノ酸を利用し、出生後には脂肪酸とグルコースにスイッチングする。更に、生後半年間は、生涯で最も急速な成長が認められる期間で、エネルギーの需要が増加し、de novo lipogenesisも亢進する^{6,9)}。しかし、シトルリン欠損症では、肝の解糖系、de novo lipogenesisおよび β 酸化も障害される（脂肪肝の項参照）。また、乳糖の成分であるガラクトースの代謝に関与す

シトリン欠損症の病態

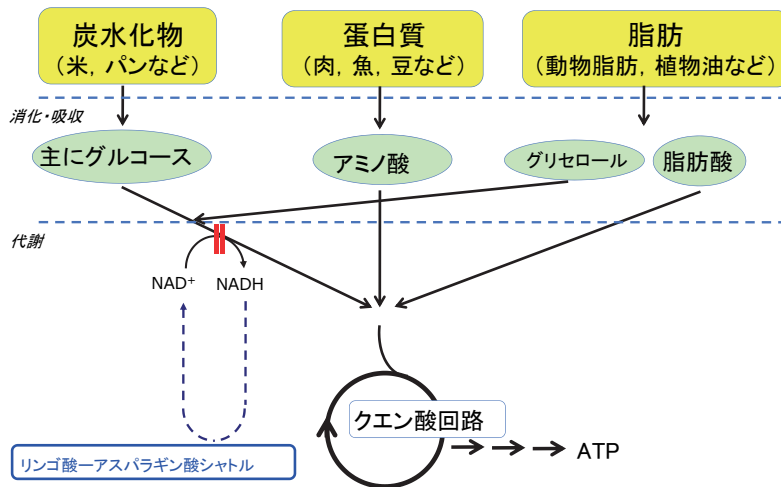


図3. 肝における食物のエネルギー変換

るUDP-ガラクトース-4-エピメラーゼはNAD⁺をcofactorとし、シトリン欠損症では肝NADHシャトルの障害から細胞質のNADH濃度が上昇するため、反応が阻害され、有毒なガラクトースの中間代謝産物が蓄積する⁶⁾。これらのことから、NICCDは急速な成長を認める新生児期に発症し、緩やかな成長に移行する生後6ヶ月以降に自然治癒すると考える。

NICCDの主要な症状は、肝内胆汁うっ滞である。胆汁酸の排泄には、BSEP (bile salt export pump)、ビルルビンの輸送にはMRP2 (multidrug resistance associated protein 2)、アミノリン脂質の輸送にはFIC1 (FIC gene 1) が関与し、いずれの輸送体もATPを要する。また、シトリンを代謝するASS1反応もATPを必要とする。肝細胞に特異的にエネルギーを供給する中鎖脂肪酸の投与により、胆汁うっ滞もシトリン血症も速やかに改善することから、NICCDにおける肝細胞のエネルギー欠乏状態が裏付けられる。

3. 食の嗜好と治療による変化

シトリン欠損症では、一般的に高脂肪・高蛋白食を好み、蔗糖は好まず、糖度の高い果物、アルコールなども好まない²⁷⁾。蔗糖はグルコースとフルクトースからなる二糖類であり、フルクトースの毒性（後述）から好まないと推測される。一方、アルコールの代謝にはNAD⁺を必要とするため代謝が障害され、少量のアルコール摂取で宿酔となる。蛋白質（アミノ酸）は脱アミノ化されTCAサイクルにより、脂肪（脂肪酸）はβ酸化により、NAD⁺を必要とせず肝臓で代謝され

ATPを供給する（図3）。肝細胞のATPを減少させる薬物は食欲を亢進させることが報告されており^{28), 29)}、脳と肝のネットワークから、肝細胞のATPを上昇させる食物に対する嗜好が形成されると考える。中鎖脂肪酸補充療法により嗜好が変化することが知られており、肝ATPの増加、脂質の合成促進およびリンゴ酸-クエン酸シャトルを介する細胞質NAD⁺/NADH比の改善などから、嗜好も変化し、炭水化物の摂取も増加すると考える。

4. フルクトースおよびグリセロールの毒性について

頭蓋内圧亢進の治療に用いられるグリセロール（10%グリセリン＝グリセロール、5%フルクトース）の投与は致命的であり、複数の死亡例が報告されている³⁰⁾。この事象は、遺伝性フルクトース不耐症に対するフルクトースの投与による事象と酷似している（図4）。遺伝性フルクトース不耐症では、フルクトースを含む輸液により肝細胞壊死と重篤な代謝性アシドーシスを起こし、少なくとも15人の死亡例が報告されている³¹⁾。フルクトースは肝臓への取り込みおよび代謝も早く、グルコースと異なりホスホフルクトキナーゼの代謝調節も受けない。フルクトースを経静脈的に投与すると、正常人においても肝ATPが消費され、中間代謝産物も貯留し無機リン（Pi）が捕捉され、急速にATPが減少する³²⁾。遺伝性フルクトース不耐症ではアルドラーゼBが欠損するため、フルクトース1-リン酸が代謝されず蓄積し、肝細胞内のPiが捕捉されATPが枯渇し、致命的なダメージを受ける。シトリン欠損症では、NAD⁺を要するグリセルアルデヒド3

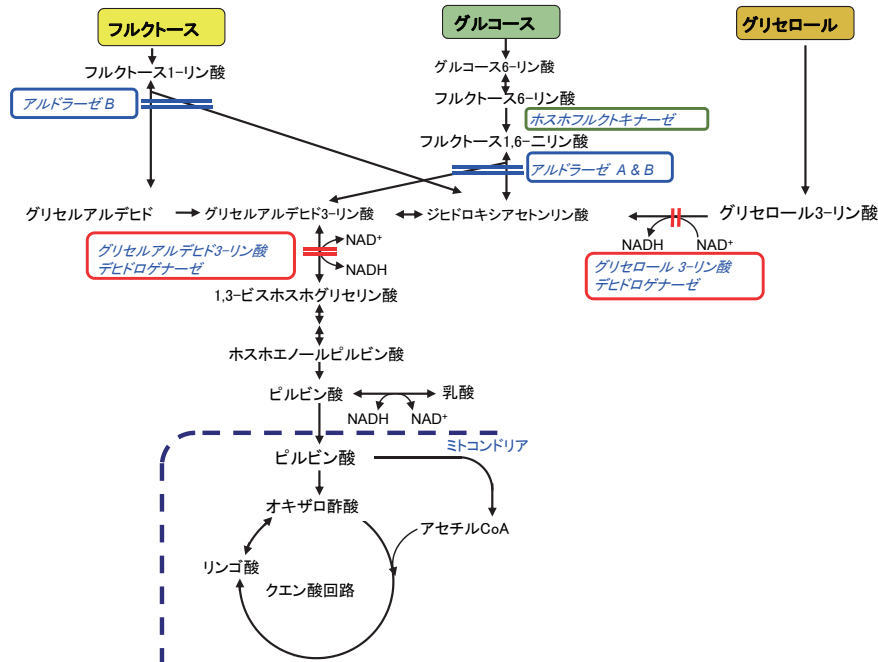


図4. シトリン欠損症および遺伝性果糖不耐症における糖の代謝
二重赤線は、シトリン欠損症における代謝障害部位を示し、二重青線は遺伝性果糖不耐症における代謝障害部位を表す。ホスホフルクトキナーゼは、アロステリックな調節をうける。

リン酸デヒドロゲナーゼおよびグリセロール3-リン酸デヒドロゲナーゼの反応が障害されており、グリセロールの投与では、フルクトースの急速な代謝から肝ATPが消費され、肝細胞内にフルクトースおよびグリセロールの中間代謝産物が蓄積しPiも捕捉されることから、ATPが枯渇し、致命的なダメージを受けることが推測される。シトリン欠損症では、グリセオールやフルクトースを含有する輸液製剤は禁忌である。

5. 糖の代謝異常（糖の毒性および低血糖）について

シトリン欠損症の肝細胞は、エネルギー源としてグルコースを利用できず、蛋白質および脂肪を利用する（図3）。低炭水化物食（高蛋白・高脂肪食）から高炭水化物食（低蛋白・低脂肪食）に変更するとCTLN2の発症を誘発する危険性があり、高炭水化物食（低蛋白・低脂肪食）の継続は回避しなければならない。こうした事象とグリセオール（フルクトース）投与による死亡例の報告から、「炭水化物は有害である」と短絡的に考えられてしまうが、高炭水化物食による影響は、炭水化物の毒性というよりは、むしろ低タンパク質・低脂肪食による肝臓の栄養障害と考えるべきである。

一方、糖の毒性については、ある条件下では糖は確かに有害な作用を示す。高血糖が持続すると、肝細胞に多量のグルコースが取り込まれ代謝される（肝臓における糖代謝への関与の項参照）。シトリン欠損症で

は、グリセルアルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼの反応が障害されるため、中間体が蓄積し、無機リンが補足され、ATPが減少する（図4）。中心静脈栄養により高血糖と高アンモニア血症を起こした1症例が報告されている³³⁾。乳癌手術後に著明な体重減少を呈した症例に中心静脈栄養を施行し、高血糖と高アンモニア血症が認められ、血糖の調節によりアンモニアも低下した。この現象は反復確認された。最近、糖尿病の罹患とともにCTLN2を発症した症例および再発した症例（論文投稿中）が見出され、インスリンと中鎖脂肪酸療法によりCTLN2が軽快した。これらのことから高血糖時における糖の毒性は明らかであり、中心静脈栄養時や糖尿病を併発する際には、血糖のコントロールが重要である。血糖を正常値内に保つ限り糖の毒性は認められず、血糖の調節により回復（可逆的）し、グリセオールによる致死的作用とは明らかに異なる。

一方、NICCD後には、低血糖を反復する乳幼児が少なからず存在する。機序として、第1に、肝グリコーゲンの合成にはエネルギーを必要とし、エネルギー欠乏からグリコーゲンの合成が障害されること。第2に、糖新生には、肝細胞のATPと細胞質のNAD⁺を必要としており、シトリン欠損症では、共に欠乏するため糖新生が障害されること³⁴⁾。第3に、シトリン欠損症の患児では、代謝の特性（食の嗜好と治療による変化の項参照）から蛋白質や脂肪を好み、炭水化物

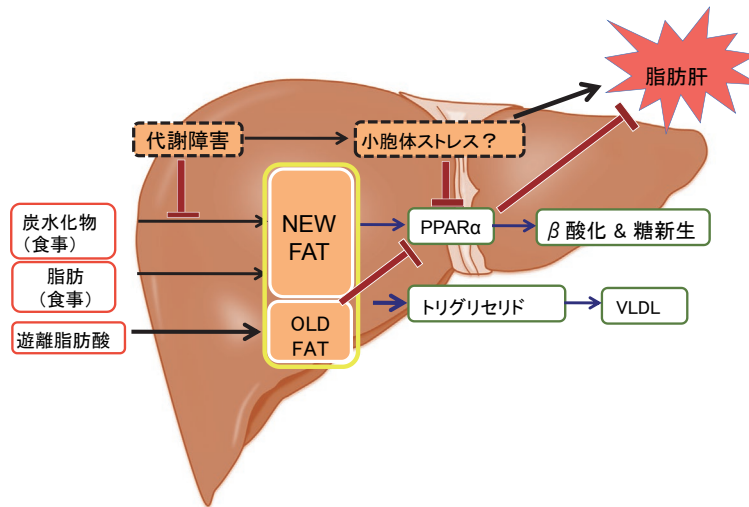


図5. シトリン欠損症における脂肪肝
PPAR α ：ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 α 、VLDL：超低密度リポ蛋白質

の摂取量が少なくなることなどが考えられる。グルコースは主に脳で利用され、成人と小児では脳の重量がほぼ同等であることから、炭水化物は、ほぼ同一量（約130g/日）を必要とし、低血糖を回避するためには必要量の摂取が重要である³⁵⁾。成人CTLN2に効果的な蛋白：脂肪：炭水化物比の食事では低血糖を惹起する。必要量の炭水化物の摂取を促すとともに、重篤な症例では、中鎖脂肪酸を補充し、肝細胞へのエネルギーの供給と食嗜好の変化（炭水化物摂取の増加）を誘導する。

6. 脂肪肝

NICCDおよびCTLN2の多くでは、脂肪肝が認められ、CTLN2ではNASHとしての報告例もある¹⁶⁾。また、CTLN2においては高トリグリセリド血症を呈する症例も多く、VLDL上昇の報告もある^{7), 36)}。機序として、リンゴ酸-アスパラギン酸シャトルが障害され、代償的にリンゴ酸-クエン酸シャトルの活性が亢進し、脂質の合成が亢進すると推定されてきた。しかし、脂質の合成にはエネルギーが必要であり、シトリン欠損症では肝細胞がエネルギー欠乏状態にあることから、この仮説は成立しない。2014年、信州大学の小松らによりCTLN2の肝臓におけるPPAR α の低下が明らかにされた⁵⁾。c-Jun N-terminal kinase (JNK)の活性亢進も確認されたことから、小胞体ストレスによるPPAR α の抑制が推測される。一方、PPAR α は肝臓にて合成された脂質(New fat)によりup-regulationされ、末梢脂肪組織から放出された遊離脂肪酸(Old fat)によりdown-regulationされる(図5)³⁷⁾。

中鎖脂肪酸補充療法は、肝細胞にATPとともに多量のアセチルCoAを供給し、脂質の合成を促進し、脂肪肝および高トリグリセリド血症を改善する^{7), 8)}。これらのことから、シトリン欠損症では、肝臓における脂質の合成(New fat)障害および小胞体ストレスから、PPAR α がdown-regulationされ、脂肪組織から放出された遊離脂肪酸の β 酸化が障害され脂肪肝を惹起すると考える^{5), 37)}。

7. シトルリン血症および高アンモニア血症について

アンモニアは肝臓で処理され、肝臓には、尿素回路とグルタミン合成酵素系の2つの処理機構が存在する(図6)³⁸⁾。肝細胞は門脈域から中心静脈域に向かって配列し、それぞれの領域に従って代謝特性を示す(zoning)。門脈周辺の肝細胞では尿素回路活性が高く、中心静脈周辺の肝細胞ではグルタミン合成酵素活性が高い。尿素回路は、アンモニアに対する親和性は低い、Vmaxが大きく大量のアンモニアを処理出来る。一方、グルタミン合成酵素では、Vmaxは小さいが、アンモニアに対する親和性が高く、尿素回路で処理されずに残ったアンモニアを捕捉しグルタミンを合成する。尿素回路の異常による高アンモニア血症が多数確認されてきたことから、尿素回路の役割が重視されて来たが、近年、グルタミン合成酵素欠損症の発見や¹³⁾、ノックアウトマウスの研究から³⁹⁾、グルタミン合成酵素系の解毒機構の重要な役割が明らかにされた。

シトルリン血症の機序について考察する。シトルリンは尿素回路のASS1により代謝され、ASS1はATPの存在下にシトルリンとアスパラギン酸を基質とし、ア

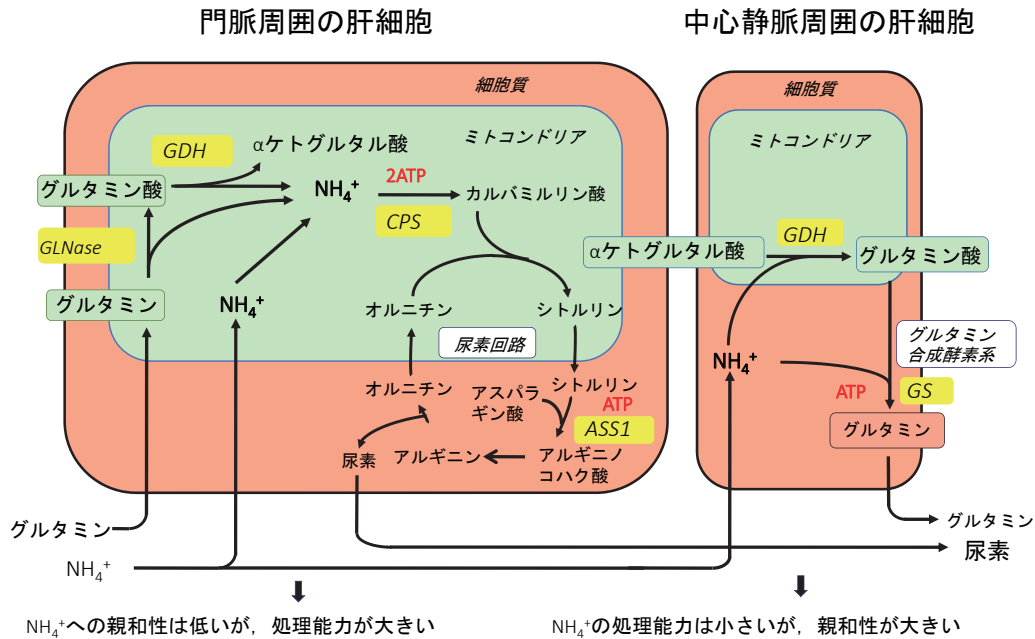


図6. 肝におけるNH₄⁺の解毒機構

ASS1: アルギニノコハク酸合成酵素、CPS: カルバミルリン酸合成酵素、GDH: グルタミン酸脱水酵素、GLNase: グルタミナーゼ、GS: グルタミン合成酵素

ルギニノコハク酸を生成する(図1, 6)。シトルリンは、アスパラギン酸をミトコンドリアから細胞質へ転送し、シトルリン欠損症では、細胞質のアスパラギン酸の不足によるASS1反応の障害が推測されてきた。NICCDにおいては、シトルリン血症は認めるが、アンモニアの上昇もASS1の活性低下も認めず⁴⁰⁾、中鎖脂肪酸補充療法により血漿シトルリンは速やかに正常化する⁷⁾。一方、CTLN2では、中鎖脂肪酸補充療法により高アンモニア血症は速やかに改善しても、血漿シトルリンの高値が持続する症例が多い^{7), 8)}。肝ASS1の酵素量が正常の20%以下に減少している症例が多く⁴¹⁾、免疫組織学的解析では、対照肝は全てASS1陽性肝細胞から構成されているが、CTLN2においてはASS1陰性肝細胞の集簇が認められる^{7), 8), 42)}。早期に、中鎖脂肪酸補充療法が施行された症例では、血漿シトルリンは速やかに正常化し、長期的にはASS1陰性肝細胞も消滅する⁸⁾。シトルリン血症の機序はNICCDとCTLN2とで異なり、NICCDにおいては、基質やATPの不足によるASS1反応の障害が関与し、CTLN2においては、ASS1の酵素量の減少が関与している。

高アンモニア血症の機序について考察する。CTLN2では、血漿シトルリンの上昇および肝ASS1酵素の量的減少が認められることから、高アンモニア血症は、肝ASS1の障害に起因すると長年考えられてきた。しかし、最近の研究からは否定的である。第1に、ASS1酵素活性が50-80%も残存する症例が存在する⁴¹⁾。

第2に、アンモニア脳症をおこしていても、血漿シトルリンが正常~高値と変動する症例が報告されている⁴³⁾。第3に、中鎖脂肪酸補充療法により血中アンモニアは速やかに低下しても、血漿シトルリンは、高値を持続する症例が多数存在する^{7), 8)}。第4として、近年、タンデム型質量分析計を利用した新生児マス・スクリーニングにより、シトルリン血症1型の軽症型が検出されている。この病型では、ASS1の遺伝子変異により、酵素活性が7-26%に低下し、血漿シトルリン(< 1,000 μmol/L)も上昇しているが、高アンモニア血症は認められない⁴⁴⁾⁻⁴⁶⁾。この病型に認められる血漿シトルリン値はCTLN2に認められる値と同程度である⁴⁾。なお、高アンモニア血症を惹起するシトルリン血症1型では、血漿シトルリン> 1,000 μmol/Lと高値を示す。これらの事から、CTLN2におけるASS1の障害は軽度で、血漿シトルリン値は上昇しても高アンモニア血症は起こさず、他の要因の関与が考えられる。

次に、グルタミン合成酵素 (glutamine synthase: GS) の関与について考察する。一般的に、尿素回路の異常により高アンモニア血症を呈する場合、血漿グルタミンが上昇する。しかし、CTLN2では高アンモニア血症時にも血漿グルタミンが上昇せず、正常値以下を示す症例も少なからず存在する^{7), 8)}。中鎖脂肪酸の補充療法では、血中アンモニアの低下とともに血漿グルタミンの上昇が確認される。一方、血漿シトルリンは、高アンモニア血症が消失しても高値を持続する

症例が多数存在する。これらのことから、CTLN2における高アンモニア血症は、肝ASS1の障害ではなく、肝GSの障害が主因と考える。なお、肝GS活性の低下は認められず、基質やATP不足による酵素反応の障害と考える⁸⁾。

肝臓のアンモニア解毒機構の構築には、肝細胞のzoningが関与している³⁸⁾。ASS1酵素発現を免疫組織学的に検討すると、対照肝では全ての肝細胞に検出されるが、CTLN2ではASS1酵素陰性の肝細胞が集簇して認められる^{7), 8), 42)}。一方、GS陽性の肝細胞は、対照肝では中心静脈周囲に限局して認められるが、CTLN2では、広範囲に分布して認められる。これらは、肝細胞のzoning、即ち分化誘導の障害を示唆している。なお、グルタミン合成酵素の発現は、Wnt/ β -cateninにより誘導されることが知られており、CTLN2では、発癌にも関連するWnt/ β -catenin系のシグナルの亢進が推測される。シトリン欠損症では、酸化ストレスの増加も報告されており⁴⁷⁾、Wnt/ β -catenin系の亢進とともに、発癌との関連が注目される⁴⁸⁾。中鎖脂肪酸補充療法は、GSの発現を正常化させることから、肝癌発生の抑制効果も期待される⁸⁾。

8. シトリン欠損症のモデル動物について

シトリンをコードする*SLC25A13*のノックアウトマウスが作成されたが、人と異なり発症しない³⁴⁾。マウスでは、de novo lipogenesisの活性が高く、マウスの肝臓には人の肝臓に存在しないグリセロールリン酸シャトルも存在する。マウスの生存には、炭水化物から脂肪を合成し、エネルギーを貯蔵する能力が非常に重要であることが示唆される。シトリンおよびミトコンドリアグリセロール3-リン酸脱水素酵素のダブルノックアウトマウスも作成されたが、同様に発症せず、多量の蔗糖（グルコースとフルクトースからなる二糖類）を負荷し、シトリン欠損症のモデルとしている^{49), 50)}。しかし、NADHシャトルの欠損から解糖系が障害されており、多量の蔗糖（フルクトース）の負荷により、肝ATPの消費と無機リンの捕捉が起こり、急速にATPが枯渇する。CTLN2では、肝細胞における慢性のエネルギー欠乏が基本的病態と考えられ、ダブルノックアウトマウスに多量の蔗糖を負荷した実験は急性のエネルギー欠乏状態を反映し、シトリン欠損症の病態とは異なる。

IV シトリン欠損症の基本的病態と中鎖脂肪酸の薬理効果

肝臓は、食間には脂肪酸を、食後にはグルコースを

エネルギー源として利用する。シトリン欠損症では、肝のPPAR α がdown-regulationされ、解糖、脂質合成および β 酸化も障害されることから、シトリン欠損症の基本的病態は、肝細胞のエネルギー欠乏である。中鎖脂肪酸は、門脈を経由し肝臓に取り込まれ、 β 酸化により多量のアセチルCoAとATPを産生し、肝臓にエネルギーを供給する⁵¹⁾。更に、脂質の合成を促進し、リンゴ酸-クエン酸シャトルを介し細胞質のNAD⁺/NADH比を改善する。中鎖脂肪酸補充療法は、シトリン欠損症の基本的病態を改善する理想的な治療法と考える。

謝 辞

研究に協力頂いた共同研究者および中鎖脂肪酸（マクトンオイル）を無償で提供して下さいましたキッセイ薬品に感謝する。また、中鎖脂肪酸補充療法の治療に参加して下さいました患者さんのご協力に感謝する。

文 献

1. 宮腰孝, 高橋剛夫, 加藤征夫, 渡辺瑞也, 伊藤忠一: 猪瀬型肝脳疾患とシトリン代謝異常. 神経化学1968; 7: 88-91
2. Kobayashi K, Sinasac DS, Iijima M, Boright AP, Begum L, Lee JR, et al.: The gene mutated in adult-onset type II citrullinaemia encodes a putative mitochondrial carrier protein. Nat Genet 1999; 22: 159-163
3. Palmieri L, Pardo B, Lasorsa FM, del Arco A, Kobayashi K, Iijima M, et al.: Citrin and aralar1 are Ca²⁺-stimulated aspartate/glutamate transporters in mitochondria. EMBO J 2001; 20: 5060-5069
4. Saheki, Song YZ: Citrin deficiency, in: GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource [database online]. Copyright, University of Washington, Seattle. 1993-2017. Available at <http://www.genetests.org>.
5. Komatsu M, Kimura T, Yazaki M, Tanaka N, Yang Y, Nakajima T, et al.: Steatogenesis in adult-onset type II citrullinemia is associated with down-regulation of PPAR α . Biochim Biophys Acta 2014; 1852: 473-481
6. Hayasaka K, Numakura C, Toyota K, Kimura T: Treatment with lactose (galactose)-restricted and medium-chain triglyceride-supplemented formula for neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency. JIMD Rep 2012; 2: 37-44
7. Hayasaka K, Numakura C, Toyota K, Kakizaki S,

- Watanabe H, Haga H, et al. : Medium-chain triglyceride supplementation under a low-carbohydrate formula is a promising therapy for adult-onset type II citrullinemia. *Mol Genet Metab Rep* 2014; 1: 42-50
8. Hayasaka K, Numakura C, Yamakawa M, Mitsui T, Watanabe H, Haga H, et al. : Medium-chain triglycerides supplement therapy with a low-carbohydrate formula can supply energy and enhance ammonia detoxification in the hepatocytes of patients with adult-onset type II citrullinemia. *J Inher Metab Dis* 2018; 41: 777-784
 9. Numakura C, Tamiya G, Ueki M, Okada T, Maisawa SI, Kojima-Ishii K, et al. : Growth impairment in individuals with citrin deficiency. *J Inher Metab Dis* 2019; 42: 501-508
 10. Uyeda K, Repa JJ: Carbohydrate response element binding protein, ChREBP, a transcription factor coupling hepatic glucose utilization and lipid synthesis. *Cell Metab* 2006; 4: 107-110
 11. Filhoulaud G, Guilmeau S, Dentin R, Girard J, Postic C: Novel insights into ChREBP regulation and function. *Trends Endocrinol Metab* 2013; 24: 257-268
 12. Jeon TII, Osborne TF: SREBPs: metabolic integrators in physiology and metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2012; 23: 65-72
 13. Häberle J, Görg B, Rutsch F, Schmidt E, Toutain A, Benoist JF, et al. : Congenital glutamine deficiency with glutamine synthetase mutations. *N Engl J Med* 2005; 353: 1926-1933
 14. 大浦敏博：シトリン欠損症研究の進歩－発症予防・治療法の開発に向けて。 *日本小児科学会誌* 2009；113：1649-1653
 15. Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, Nishi I, Abukawa D, Sakamoto O, et al. : Neonatal presentation of adult-onset type II citrullinemia. *Hum Genet* 2001; 108: 87-90
 16. Takagi H, Hagiwara S, Hashizume H, Kanda D, Sato K, Sohara N, et al. : Adult onset type II citrullinemia as a cause of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2006; 44: 236-239
 17. Kikuchi A, Arai-Ichinoi N, Sakamoto O, Matsubara Y, Saheki T, Kobayashi K, et al. : Simple and rapid genetic testing for citrin deficiency by screening 11 prevalent mutations in SLC25A13. *Mol Genet Metab* 2012; 105: 553-558
 18. Wibom R, Lasorsa FM, Tohonen V, Barbaro M, Sterky FH, Kucinski T, et al. : AGC1 deficiency associated with global cerebral hypomyelination. *New Eng J Med* 2009; 361: 489-495
 19. Seifter S, England S: Energy metabolism. In: Arias I, Wolkoff A, Boyer J, Shafritz DA, Fausto N, Harvey J, et al. eds. *The liver: biology and pathobiology*, 5th Edition, New York: Raven Press, 2009: 1-41
 20. Hellerstein MK: De novo lipogenesis in humans: metabolic and regulatory aspects. *Eur J Clin Nutr.* 1999; 53 (Suppl 1): S53-S65
 21. Contreras AV, Torres N, Tovar AR: PPAR- α as a key nutritional and environmental sensor for metabolic adaptation. *Adv Nutr* 2013; 4: 439-445
 22. Tamamori A, Fujimoto A, Okano Y, Kobayashi K, Saheki T, Tagami Y, et al. : Effects of citrin deficiency in the perinatal period: feasibility of newborn mass screening for citrin deficiency. *Pediatr Res* 2004; 56: 608-614
 23. Widdowson EM, McCance RA, Spray CM: The chemical composition of the human body. *Clin Sci* 1951; 10: 113-125
 24. Hausman DB, Hausman GJ, Martin RJ: Influence of the pituitary on lipolysis and lipogenesis in fetal pig adipose tissue. *Horm Metab Res* 1993; 25: 17-20
 25. Herrera E, Amusquivar E: Lipid metabolism in the fetus and the newborn. *Diabetes Metab Res Rev* 2000; 16: 202-210
 26. Lorenzo M, Caldés T, Benito M, Medina JM: Lipogenesis in vivo in maternal and foetal tissues during late gestation in the rat. *Biochem J* 1981; 198: 425-428
 27. Nakamura M, Yazaki M, Kobayashi Y, Fukushima K, Ikeda S, Kobayashi K, et al. : The characteristics of food intake in patients with type II citrullinemia. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2011; 57: 239-245
 28. Ji H, Graczyk-Milbrandt G, Friedman MI: Metabolic inhibitors synergistically decrease hepatic energy status and increase food intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 278: R1579-1582
 29. Rawson NE, Ulrich PM, Friedman MI: Fatty acid oxidation modulates the eating response to the fructose analogue 2,5-anhydro-D-mannitol. *Am J Physiol* 1996; 271: R144-148
 30. Yazaki M, Takei Y, Kobayashi K, Saheki T, Ikeda S: Risk of worsened encephalopathy after intravenous glycerol therapy in patients with adult-onset type II citrullinemia (CTLN2). *Intern Med* 44: 188-195, 2005
 31. Cox TM: Iatrogenic deaths in hereditary fructose intolerance. *Arch Dis Child.* 1993; 69: 413-415
 32. Steinman B, Gitzelmann R, Van den Berghe G: Disorders of fructose metabolism. In: Valle D, Beaudet AL, Vogelstein B, Kinzler KW, Antonarakis SE, Ballabio A, et al. eds. *The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed. New York: McGraw-

- Hill, 1995: 905-934
33. 玉川進, 中村洋之, 片野俊男, 吉沢睦, 大竹一英, 窪田達也: 高カロリー輸液で意識障害を繰り返した成人型シトルリン血症の1症例. 日本集中治療医学会雑誌 1994; 1: 37-41
 34. Sinasac DS, Moriyama M, Jalil MA, Begum L, Li MX, Iijima M, et al.: Slc25a13-knockout mice harbor metabolic deficits but fail to display hallmarks of adult-onset type II citrullinemia. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 527-536
 35. Academies IoMotN: Dietary Reference Intakes: energy, carbohydrates, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. Washington: National Academies Press; 2005. 265-338
 36. Imamura Y, Kobayashi K, Shibatou T, Aburada S, Tahara K, Kubozono O, et al.: Effectiveness of carbohydrate restricted diet and arginine granules therapy for adult onset type II citrullinemia: a case report of siblings showing homozygous SLC25A13 mutation with and without the disease. *Hepatol Res*. 2003; 26: 68-72
 37. Chakravarthy MV, Pan Z, Zhu Y, Tordjman K, Schneider JG, Coleman T, et al.: "New" hepatic fat activates PPARalpha to maintain glucose, lipid, and cholesterol homeostasis. *Cell Metab* 2005; 1: 309-322
 38. Häussinger D, Schliess F: Glutamine metabolism and signaling in the liver. *Front Biosci* 2007; 12: 371-391
 39. Qvartskhava N, Lang PA, Görg B, Pozdeev VI, Ortiz MP, Lang KS, et al.: Hyperammonemia in gene targeted mice lacking functional hepatic glutamine synthetase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112: 5521-5526
 40. Tazawa Y, Kobayashi K, Ohura T, Abukawa D, Nishinomiya F, Hosoda Y, et al.: Infantile cholestatic jaundice associated with adult-onset type II citrullinemia. *J Pediatr*. 2001; 138: 735-740
 41. Yasuda T, Yamaguchi N, Kobayashi K, Nishi I, Horinouchi H, Jalil MA, et al.: Identification of two novel mutations in the SLC25A13 gene and detection of seven mutations in 102 patients with adult-onset type II citrullinemia. *Hum Genet* 2000; 107: 537-545
 42. Yagi Y, Saheki T, Imamura Y, Kobayashi K, Sase M, Nakano K, et al.: The heterogeneous distribution of argininosuccinate synthetase in the liver of type II citrullinemic patients. Its specificity and possible clinical implications. *Am J Clin Pathol* 1988; 89: 735-741
 43. Maruyama H, Ogawa M, Nishio T, Kobayashi K, Saheki T, Sunohara N: Citrullinemia type II in a 64-year-old man with fluctuating serum citrulline levels. *J Neurol Sci* 2001; 182: 167-170
 44. Häberle J, Pauli S, Linnebank M, Kleijer WJ, Bakker HD, Wanders RJ, et al.: Structure of the human argininosuccinate synthetase gene and an improved system for molecular diagnostics in patients with classical and mild citrullinemia. *Hum Genet* 2002; 110: 327-333
 45. Ruitenbeek W, Kobayashi K, Iijima M, Smeitink JA, Engelke UF, De Abreu RA, et al.: Moderate citrullinaemia without hyperammonaemia in a child with mutated and deficient argininosuccinate synthetase. *Ann Clin Biochem* 2003; 40(Pt 1): 102-107
 46. Häberle J, Pauli S, Schmidt E, Schulze-Eifling B, Berning C, Koch HG: Mild citrullinemia in Caucasians is an allelic variant of argininosuccinate synthetase deficiency (citrullinemia type 1). *Mol Genet Metab* 2003; 80: 302-306
 47. Nagasaka H, Okano Y, Tsukahara H, Shigematsu Y, Momoi T, Yorifuji J, et al.: Sustaining hypercitrullinemia, hypercholesterolemia and augmented oxidative stress in Japanese children with aspartate/glutamate carrier isoform 2-citrin-deficiency even during the silent period. *Mol Genet Metab* 2009; 97: 21-26
 48. Thompson MD, Monga SP: WNT/beta-catenin signaling in liver health and disease. *Hepatology* 2007; 45: 1298-1305
 49. Saheki T, Iijima M, Li MX, Kobayashi K, Horiuchi M, Ushikai M, et al.: Citrin/mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase double knock-out mice recapitulate features of human citrin deficiency. *J Biol Chem* 2007; 282: 25041-25052
 50. Saheki T, Moriyama M, Kuroda E, Funahashi A, Yasuda I, Setogawa Y, et al.: Pivotal role of inter-organ aspartate metabolism for treatment of mitochondrial aspartate-glutamate carrier 2 (citrin) deficiency, based on the mouse model. *Sci Rep* 2019; 9: 4179
 51. Bach AC, Babayan VK: Medium-chain triglycerides: an update. *Am J Clin Nutr* 1982; 36: 950-962

Pathogenesis of citrin deficiency

Kiyoshi Hayasaka

Department of Pediatrics, Yamagata University School of Medicine
Department of Pediatrics, Miyukikai Hospital

ABSTRACT

Citrin is aspartate/glutamate transporter in mitochondria, a component of malate-aspartate nicotinamide adenine dinucleotide hydrogen (NADH) shuttle. Citrin, encoded by *SLC25A13*, is expressed mainly in liver and is essential for the hepatic glycolysis. Citrin deficiency is caused by *SLC25A13* mutation. It presents with age-dependent clinical manifestations: neonatal intrahepatic cholestasis (NICCD), failure to thrive and dyslipidemia (FTTDCD), and adult-onset type II citrullinemia (CTLN2). Hepatocytes use fatty acid and glucose at fasting and postprandial states, respectively, as energy source. Hepatocytes of citrin deficiency cannot use glucose and fatty acid as energy source due to a defect in NADH shuttle and a down-regulation of PPAR α , respectively. Energy deficit of hepatocytes is considered a fundamental pathogenesis of citrin deficiency. Medium chain triglyceride therapy can supply the energy to the hepatocytes and correct a fundamental defect. The cause of hyperammonemia in CTLN2 had been considered secondary damage of hepatic argininosuccinate synthase 1. However, profile of plasma amino acids suggests that hyperammonemia is mainly caused by an impairment of hepatic glutamine synthase reaction. Growth impairment in citrin deficiency is observed during the periods of rapid growth probably due to a defect in lipogenesis. Further study is required to elucidate the entity of citrin deficiency.

Keywords: citrin deficiency, malate-aspartate shuttle, neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency, adult-onset type II citrullinemia, medium chain triglyceride