

ミトコンドリア NAD キナーゼ遺伝子 (*NADK2*) 欠損症の症例報告

Case reports for the recessive disorder due to a mutation in mitochondrial NAD kinase gene (*NADK2*)

NADP⁺は、主に補酵素として生体内の多様な合成系の反応や酸化ストレスからの防御反応等に関わる。NADP⁺は、NAD キナーゼ(NADK)のはたらきによるNAD⁺のリン酸化反応(反応式1)により合成される。



ヒトでは、ミトコンドリア局在性NADK (*NADK2*)と細胞質局在性NADKが機能しており、特に前者の*NADK2*は著者らにより特定された¹⁾。*NADK2*の特定から現在に至るまで、*NADK2* 遺伝子 (*NADK2*) 欠損症の症例が2例報告された²⁾³⁾。これらは、NADP⁺の機能に関心を持ち続けている著者らにとって、ミトコンドリアにおけるNADP⁺の重要性を印象深く実感させる症例となった。ここで2例の症例を紹介したい。

DECR 欠損症の原因遺伝子は *NADK2* である²⁾

2,4-ジエノイル CoA レダクターゼ (EC 1.3.1.34 ; DECR) は多加不飽和脂肪酸の代謝に関わる補助酵素であり、 Δ^2, Δ^4 -ジエノイル CoA を Δ^3 -エノイル CoA へと NADPH 依存的に還元する反応を触媒する。ミトコンドリア局在型の *DECR1* とペルオキシソーム局在型の *DECR2* が知られている。最初の症例は Roe らにより 1990 年に報告されており⁴⁾、患者は筋緊張低下症と小脳症、ならびに高リジン血症を示し、生後4ヶ月で亡くなった。生化学的には血漿中の高濃度 C10:2-カルニチン (2-トランス, 4-シス デカノイルカルニチン) が検出された。患者の筋肉と肝臓の *DECR* 残存活性は各々 17 および 40% であった。これ以上の追跡研究はなされていない。なお、家族性の高リジン血症の原因遺伝子は *AASS* であり、アミノアジピクセミアルデヒドシンターゼ (*AASS*) はミトコンドリアにおける NADPH 依存的なリジン分解反応を触媒する (図1)。

本項で紹介する症例論文は Houten らにより 2014 年に公表された²⁾。患者はヒスパニック系の男児である。生化学的特徴を表1に記載する。高濃度の C10:2-カルニチンおよびリジンが検出され、発達遅延、乳酸アシドーシス、および重度の脳症を特徴とするミトコンドリア病様の病状を示した。その患者は5歳で亡くなった。以下原著論文から病状を抜粋する。「生後6ヶ月で

は、彼は体重増加が遅く頭部が安定していなかった。座ることもできなかった。生後18ヶ月では、眼震、外転神経まひ、筋緊張亢進、クローヌス、舞蹈病様運動失調、間欠性の乳酸アシドーシスを示した。生後30ヶ月では、肺炎を呈した。生後36ヶ月では、IおよびII型尿管細管性アシドーシス様症状を示した。4歳半では重度の脳症、ジストニア、痙性四肢麻痺、皮質盲、てんかん、一時的な中枢性無呼吸を示した。5歳で誤嚥性肺炎のため死亡した。MRIの結果、進行性の大脳白質萎縮症、脳萎縮、脳室肥大、両側基底核節 T2 異常を示した。検死解剖により、脳室肥大、特に前頭葉および基底核における重度の白質神経膠症であることが分かった。これらの症状から、*DECR* 欠損症はミトコンドリア病様の症状を呈する神経代謝疾患に至るということが分かった。」

患者由来の繊維芽細胞の残存 *DECR* 活性は10%と低下していた。高濃度の C10:2-カルニチンおよびリジンという所見と併せて、著者の Houten らは *DECR* 欠損症と診断した。しかし、*DECR1* および他の3つの候補遺伝子 (*DECR2*, *AASS*, *MECR*) に変異箇所は見られなかった。エクソームシーケンス解析の結果、*NADK2* のエク

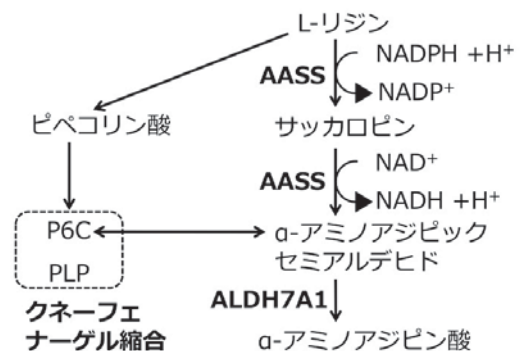


図1 L-リジン分解経路³⁾

P6Cと α -アミノアジピクセミアルデヒドは平衡状態にある。P6CとPLPはクネーフェナーゲル縮合反応を起こす。本文では触れなかったが、*ALDH7A1* 遺伝子はピリドキシン依存性てんかんの原因遺伝子である。*ALDH7A1*、アルデヒドデヒドロゲナーゼ7A1。

ソン 10 に c.1018C>T のナンセンス変異 (p.R340X) が特定された。この変異は、患者ではホモ接合型で、両親ではヘテロ接合型であった。変異 *NADK2* の転写量は約 1/4 に低下しており、*NADK2* の発現もウェスタン解析で検出されなかった。患者のミトコンドリア NADP (H) 量も約半分に低下していた。*DEC1* も *AASS* も共に *NADPH* 依存の酸化還元反応を触媒する酵素であるため、*NADK2* への変異は理にかなっていた。興味深いことに、患者繊維芽細胞の *DEC1* 量は正常であったが、*in vitro* で活性を示さなかった。一方で患者の *AASS* 量は約 1/3 に低下していた。これらは *NADK2* のトランスフェクトで部分的に回復した。ミトコンドリア NADP (H) の、*DEC1* に対するシャペロン様の機能と *AASS* の安定化への寄与が推察された。患者のリポ酸含量は正常であったが、酸素消費量の低下などのミトコンドリア機能の低下が観察された。

このように、患者では *DEC1* と *AASS* の機能不全が観察されたが、これらのみが原因ではなく、他のミトコンドリアの NADP (H) 依存反応の不具合によるミトコンドリアの機能不全が原因であろうと著者の Houten らは考えている。それらの反応は、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ反応およびリンゴ酸酵素反応を介する還元的カルボキシレーション、活性酸素種の解毒反応、シトクロム P450 反応、ステロイド、胆汁酸、ビタミン D、鉄-硫黄クラスターの各合成反応などを含む。アコニターゼ、コハク酸デヒドロゲナーゼ、チトクロムオキシダーゼ、複合体 I などは鉄-硫黄クラスター含有タンパク質である。

DEC1 欠損症はリジン制限と PLP の投与で改善できる³⁾

2016 年にも Tort らにより *NADK2* 欠損症の別の症例報告がなされた³⁾。患者はスペイン系の両親から生まれた女兒である。生化学的データを表 1 に示す。また、症状と治療過程を原著論文から抜粋する。「出生前 (妊娠 34 週と 37 週) のスキャンにより、脳室拡大および脳梁欠損症と脳梁形成不全を伴う中枢神経系異常がみつかった。誕生時から、筋緊張低下、非協調的な動き、小脳萎縮症を伴う小頭症が確認された。血漿、尿、脳脊髄液に高濃度のリジンが検出された。また、血液と脳脊髄液に高濃度の乳酸が検出された。高濃度の C10:2-カルニチンも検出された。食欲不振、摂食拒否、頻繁な嘔吐も示した。血液と脳脊髄液に高濃度の乳酸が検出されたため、ミトコンドリアのエネルギー代謝異常が疑われた。そこで、ピオチン、チアミン、カルニチン投与治療が開始された。生後 1 ヶ月半でリジン制限食が開始された。これにより、食欲不振と嘔吐に大きな改善がみられた。また、血漿のリジン濃度が 40-257 $\mu\text{mol/L}$ (対照値 52-196 $\mu\text{mol/L}$) へと劇的に低下した。生後 3 ヶ月で高濃度ピペコリン酸が検出されたため、ピリドキシン投与も治療に加えられた。3 歳で、レベチラセタムに応答しないミオクローヌス性てんかんを呈するようになった。ピリドキシンをピリドキサルリン酸 (PLP) に変えたところ改善がみられた。筋肉におけるミトコンドリア呼吸鎖複合体 III および IV の活性がやや低かったため、コエンザイム Q10、イ

表 1 DEC1 欠損症の生化学データ

| | Houtenら2014年 ²⁾ | Tortら2016年 ³⁾ |
|--|----------------------------|--------------------------|
| リジン | | |
| 血漿 (CV: 52-196 $\mu\text{mol/L}$) | 135-831 | 617-1506 |
| 尿 (CV: 22-171 mmol/molクレアチン) | 1779 | 544-6976 |
| 脳脊髄液 (CV: 9.0-51.0 $\mu\text{mol/L}$) | 226 | 204 |
| ピペコリン酸 | | |
| 血漿 (CV: 0.1-4.2 $\mu\text{mol/L}$) | 正常 | 40.9 |
| 脳脊髄液 (CV: 0.01-0.12 $\mu\text{mol/L}$) | 正常 | 0.24 |
| 乳酸 | | |
| 血漿 (CV: 0.5-2.2 mmol/L) | 1.8-7.7 | 7.57 |
| 脳脊髄液 (CV: 1.11-2.44 mmol/L) | 4.1 | 3.1 |
| C10:2-カルニチン (CV: <0.03 $\mu\text{mol/L}$) | 0.2-1.3 | 0.20; 2.4 |

CV: 対照値

デベノン, ビタミン E, クレアチンといった他の補因子の投与を開始した. 3歳で補助があれば歩けるようになった. 10歳で静的下肢運動失調と協調運動失調を示した. 歩行には依然として補助が必要だが, 言葉を理解し, とてもフレンドリーな少女だ. 2歳時の脳MRIの結果, 正面および後頭の脳梁欠損症, 細い脳梁, ミエリン化の遅れを伴う左右両側の脳室拡大が観察された. 6歳および9歳では, 進行性の小脳萎縮が観察された.]

エクソームシーケンス解析により, 原因遺伝子として *NADK2* が特定された. エキソン9近傍に c.956+6T>C 変異が検出され, これがエクソンスキッピングを引き起こし, 不完全な *NADK2* (p.Trp319Cycfs*21) へと翻訳される. 患者における *NADK2* 転写の著しい減少が観察され, *NADK2* の発現もウェスタン解析では検出できなかった.]

この2016年の報告の特徴は, 治療により病状の改善がみられ, 患者は「10歳のフレンドリーな少女」と記載されており, 少なくとも10歳までは生存が確認されている点にある. 著者の Tort らは, PLP の投与が効果的と考えている. その理由として, Tort らが想定しているのは以下の2つである. (1) 患者では, ピペコリン酸 (L-リジン代謝物) 濃度が高いため, ピペリジン-6-カルボキシル酸 (P6C) 濃度も高くなり, P6C と平衡状態にある α -アミノアジピックセミアルデヒド (AASS の作用により生じる L-リジン代謝物) 量が正常範囲に保たれる (図1). 一方, PLP が P6C とクネーフェナーゲル縮合反応を起こすため PLP 量が低下している (図1). 従って PLP の投与が有効である. (2) PLP が多くの中樞神経系の酵素活性に必要な補酵素であるため, PLP の投与が有効である.

おわりに

NADK2 の欠損が高リジン血症を伴う DECR 欠損症に至ることが明らかとなった. ただし, NADP (H) は DECR や AASS の補酵素として機能するのみならず, これらの酵素を活性化および安定化させるシャペロンとしても機能することも分かった. さらに, NADP (H) は多様な他のミトコンドリアの反応過程に関わる. この事実が, DECR 欠損症, すなわち *NADK2* 欠損症がミトコンドリア病様の病症を呈する理由と考えられ

た. 一方で, この欠損症はリジン制限と PLP の投与で改善できることも示された. とはいえ, ミトコンドリアにおける多様な NADP (H) 依存酸化還元反応の不全によって被るダメージが PLP 投与とリジン制限だけでどのように補われるのかに関しては, 詳細は不明である. 今後の研究の進展を期待したい.

(平成 29.1.26 受付)

Key Words: Mitochondrial NAD kinase, DECR deficiency, hyperlysinemia, pyridoxal phosphate, AASS

¹Laboratory of Basic and Applied Molecular Biotechnology, Division of Food Science and Biotechnology, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Uji, Kyoto 611-0011, Japan

²Faculty of Science and Engineering, Department of Life Science, Setsunan University, Neyagawa, Osaka, Japan
Shigeyuki Kawai¹, Kousaku Murata²

¹京都大学大学院農学研究科 食品生物化学専攻 生物機能変換学分野

²摂南大学 理工学部 生命科学科
河井 重幸¹, 村田 幸作²

文 献

- 1) Ohashi K, Kawai S, Murata K (2012) Identification and characterization of a human mitochondrial NAD kinase. *Nat Commun* **3**, 1248 doi: 1210.1038/ncomms2262
- 2) Houten SM, Denis S, Te Brinke H, Jongejan A, van Kampen AHC, Bradley EJ, Baas F, Hennekam RCM, Millington DS, Young SP, Frazier DM, Guzsavas-Calikoglu M, Wanders RJA (2014) Mitochondrial NADP(H) deficiency due to a mutation in *NADK2* causes dienoyl-CoA reductase deficiency with hyperlysinemia. *Hum Mol Genet* **23**, 5009-5016
- 3) Tort F, Ugarteburu O, Torres MA, Garcia-Villoria J, Giros M, Ruiz A, Ribes A (2016) Lysine restriction and pyridoxal phosphate administration in a *NADK2* patient. *Pediatrics* **138**, pii: e20154534
- 4) Roe CR, Millington DS, Norwood DL, Kodo N, Sprecher H, Mohammed BS, Nada M, Schulz H, McVie R (1990) 2,4-Dienoyl-coenzyme A reductase deficiency: a possible new disorder of fatty acid oxidation. *J Clin Invest* **85**, 1703-1707