

スクリーニングの試験研究を行った。2ヶ月間に67例を検査したところ、ポンペ病3例に再検を必要とすると判定されたが、2例の検査をして異常のないことが確認された。

D. 考察

最近タンデムマスを生児マススクリーニングに導入する国、地域が増えつつある(表1)。特にこの数年間で顕著である。タンデムマスによって新たに対象疾患となる疾患として、有機酸・脂肪酸代謝異常を中心に約20種類が加わる。しかしそれらはいずれも稀少疾患であり、一般小児科医にとってもなじみがうすく、また発症形態、頻度、確定診断法、適切な診療方法、および治療法とその効果などの点で、不明な点が多い。すでに先行している欧米では、タンデムマスによる疾患の発見頻度は4,000~5,000人に1人で費用対効果は優れていると報告されている。わが国におけるタンデムマスの有効性を検証する必要がある。疾患頻度の民族差、遺伝子型の違いによる臨床的重症度の違い、医療システムの違いがあるからである。わが国での発見頻度は現時点では8,000~1万人に1人と計算されている。

タンデムマス対象疾患である有機酸・脂肪酸代謝異常の自然歴を調査したところ、疾患によって発症時期や発症形態は違うものの、何らかの症状

が出てから診断された患者よりも、タンデムマス・スクリーニングで新生児期に発症前に診断された患者の予後は有意に良好であることが示された。

確定診断、診療サポート体制の研究：新生児マススクリーニングで異常が疑われて再検査をしたり、診断後の治療評価をする際には、血液ろ紙のみならず血清を用いた検査を行うべきであることが示された。末梢血液リンパ球とHPLCを用いた酵素活性測定法の臨床的有用性も示されつつある。さらに遺伝子診断の必要なとき、これまでのような研究施設のボランティアに頼る体制から、安定的に診断を提供できる「オーファンネット・ジャパン」のようなサポート体制も形成されつつある。今後、これらの稀少疾患の診断、治療に対して保険収載等のサポート体制も望まれる。

タンデムマスは、年間5万検体以上を検査する能力を持っている。従来のマススクリーニングのように自治体単位でタンデムマスを導入すると、年間出生数1万以下の自治体もあり、コスト面で問題がある。タンデムマスを導入する際、自治体の単位を超えてタンデムマスを持つ検査施設が年間少なくとも3万検体以上を検査するように配置することによって、タンデムマス検査費用を安価に抑えることが可能である。タンデムマス導入を機にマススクリーニング事業の効率化を進める好機でもある。

表1. 世界のタンデムマス・スクリーニング実施状況

	全国実施*	部分的実施**
欧米	アメリカ、カナダ ドイツ、オーストリア、スイス、オランダ、 ベルギー、ルクセンブルク、ポルトガル、 スウェーデン、ノルウェー	英国 (MCAD欠損症のみ) イタリア (一部の州) スペイン (一部の州) フランス、ポーランド、フィンランド ロシア、ベラルーシ
アジア 太平洋	台湾、シンガポール イスラエル、UAE オーストラリア ニュージーランド	日本 (パイロット、約20%) 韓国 (希望者有料、約70%) 中国 (パイロット、上海、杭州) サウジアラビア、クウェート、 エジプト、南アフリカ
中南米	コスタリカ、ウルグアイ	アルゼンチン、ブラジル、チリ、メキシコなど

上記の情報は2009年時点。*全国実施とは、国、州の政策によってその国のほぼ全出生をカバー、**部分的実施とは、一部の州のみで行われたり、希望者に対して有料化で行われたり、またはパイロットスタディ(無料)で検討段階にある国地域である。

新しいマススクリーニング検査技術開発：ムコ多糖症などのライソソーム病のスクリーニング技術開発について検討した。札幌市で血液ろ紙とタンデムマスを用いて2008年4月以降に行ってきた新生児マス・スクリーニングでMPSを発症した例はみられていない。患者は発見されていないものの、すでに診断されているMPS患者のろ紙血を検査してこの方法の有用性を確認している。また血液ろ紙を用いて酵素活性を測定する治療方法によるライソソーム病（ムコ多糖症Ⅰ型、Ⅱ型、およびポンペ病）のマススクリーニングの試みも行った。コスト面の問題、費用対効果の問題など課題があるものの、今後の実用化が期待される。

小児の疾病対策は「治療よりも予防」といわれる。小児保健における障害発生予防事業の3本柱

は、「乳幼児健診」、「予防接種」および「マススクリーニング」があげられる。障害発生予防対策としての新生児マススクリーニング拡大の意義は、新規治療法の開発と同程度に大きい。新生児マススクリーニングの拡大が母子保健に貢献するために、効率的な体制作りが不可欠である。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

別掲（個別に掲載）

G. 知的所有権の出願状況

別掲（個別に掲載）

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制の検討

タンデムマススクリーニング対象疾患の予後調査

研究要旨

2001～2008年に診断された有機酸・脂肪酸代謝異常症例の自然歴と、スクリーニング発見例の予後について調査し、タンデムマスによる新生児スクリーニングの有用性を検討した。自然歴については8年間に島根大学で診断された発症後診断症例のうち、予後が明らかな152症例を対象とした。内訳として有機酸代謝異常症は108症例、脂肪酸代謝異常症が44症例であった。発症時期について、有機酸代謝異常症では新生児期発症が46%を占め、1歳までに全体の66%が発症していた。一方脂肪酸代謝異常症では新生児期発症は19%と少なかったが、1か月以上2歳未満に全体の61%が発症しており、その多くが感染時などに急性脳症様の症状を呈していた。予後については、有機酸代謝異常症では30%が死亡し、52%に何らかの発達障害がみられており、正常発達を獲得した症例は18%のみであった。また脂肪酸代謝異常症でも28%が死亡、20%が発達障害を残しており、いったん発症した症例の予後は必ずしも良くなかった。

同時期にタンデムマスによるマススクリーニングで発見された症例は71例であった。うち新生児期に発症した3症例は全員死亡し、新生児発症2例を含む4例に発達障害を認めたが、有機酸・脂肪酸代謝異常症いずれも約90%の症例が現在まで正常に発達していた。

以上より、タンデムマスによる新生児マススクリーニングは有機酸・脂肪酸代謝異常症の発症／障害予防に寄与することが強く示唆された。今後、発症前に診断された症例の長期予後を明らかにすることが求められる。

研究協力者

長谷川有紀（島根大学小児科助教）
小林 弘典（島根大学小児科助教）
虫本 雄一（島根大学小児科助教）
山口 清次（島根大学小児科教授）

スクリーニングで診断された症例との予後を比較分析した。

A. 研究目的

有機酸・脂肪酸代謝異常症の自然歴や、発症後診断例と発症前診断例との予後を明らかにすることは、タンデムマスによる新生児マススクリーニングの効果を評価する上で必要である。今回、2001年から2008年に当科で診断した有機酸・脂肪酸代謝異常症の発症後診断例について、発症時期と現在までの予後を調査した。また新生児マス

B. 研究方法

1) 発症後に診断された有機酸代謝異常症の発症時期と予後

2001年1月から2008年12月に当科で診断され、2009年末時点で予後の明らかな症例について、各疾患の発症時期と予後について検討した。

2) 発症後に診断された脂肪酸代謝異常症の発症時期と初発症状、及び予後

2001年1月から2008年12月に当科で診断され、2009年末時点で予後の明らかな症例について、各疾患の発症時期と初発症状、予後について検討

を含む5例のみ死亡、もしくは発達障害を呈していたが、40症例(89%)は正常発達を獲得していた。

脂肪酸代謝異常症例でも新生児発症の1例が死亡し、経過中に発作を生じた1例に軽度の発達障害が残った以外には、24症例(92%)で正常発達を獲得した。

D. 考察と結論

今回の研究で以下のことが明らかとなった。

ア) 発症後診断例の発症時期(表1)

有機酸代謝異常症(OAs)では新生児期発症が48%と最も高く、年齢が高くなるほど減少した。しかしグルタル酸血症1型のように、乳児期に特異的に発症する疾患もあった。

脂肪酸代謝異常症(FAODs)では乳児期から幼児期、特に生後1か月以上2歳未満での発症数が最も多かった。さらにこの時期の発症例は感染などに伴い、強い低血糖や意識障害を呈して、急性脳症様に発症する例がほとんどであった。発症時期は乳幼児突然死症候群(SIDS)の好発年齢と重なっており、SIDSの中に脂肪酸代謝異常症が含まれている可能性を念頭に置く必要がある。

表1. 発症後診断例の発症時期のまとめ

	新生児期	乳児期	幼児期	学童期以降
有機酸代謝異常症(OAs)	48%	20%	21%	12%
脂肪酸代謝異常症(FAODs)	19%	41%	30%	10%

イ) 予後(表2)

OAs: 発症後診断群では正常発達例が18%、死亡は30%であったが、マススクリーニング例ではそれぞれ89%、4%であり、著明にスクリーニング例が予後良好であった。

FAODs: 発症後診断群では正常発達が52%、死亡は28%であったが、マススクリーニング例ではそれぞれ92%、4%と著明に予後は改善していた。

以上よりタンデムマスによる新生児マススクリーニングは有機酸・脂肪酸代謝異常症の発症/障害予防に有用であり、予後の改善につながる事が強く示唆された。

今回の検討における問題点は、スクリーニング例は発症しないような軽症例を多く拾い上げている可能性が否定できないことである。特にプロピオン酸血症は発症後診断例と比較して多くの症例が発見されている。このような症例が本当に発症しないのかどうかを長期に検討していくことが今後求められている。

表2. 発症後診断例とスクリーニング例の予後の比較

		正常発達	発達障害あり	死亡
OAs	発症後診断例	18(%)	52(%)	30(%)
	スクリーニング例	89	7	4
FAODs	発症後診断例	52	20	28
	スクリーニング例	92	4	4

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 虫本雄一, 長谷川有紀, 山口清次, 田中主美, 倉内宏一郎, 山崎雄一: 原因不明の脳症と診断されていたグルタル酸血症1型の兄妹例. 特殊ミルク情報 44: 23-6, 2008
- 2) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 中村 勇, 山口清次: 末梢リンパ球とタンデム質量分析を用いた日本人中鎖アシルCoA脱水素酵素(MCAD)欠損症3例の脂肪酸β酸化能の検討. 日本マス・スクリーニング学会誌 18: 250-5, 2008
- 3) 坂本 修, 大浦敏博, 土屋 滋, 島田美香, 斉藤郁磨, 名古屋裕子, 一條敦子, 針生敬子, 山本俊夫, 遠藤善宏, 秋山和夫, 白石廣行, 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: 新生児タンデムマススクリーニングで発見されるC3, C3/C2高値例の検討. 日本マス・スクリーニング学会誌 19: 63-8, 2009
- 4) Purevsuren J, Fukao T, Hasegawa Y, Kobayashi H, Li H, Mushimoto Y, Fukuda S, Yamaguchi S: Clinical and molecular aspects of Japanese patients with mitochondrial trifunctional protein deficiency. Mol Genet Metab. 98: 372-7, 2009
- 5) Li H, Fukuda S, Hasegawa Y, Kobayashi H, Purevsuren J, Mushimoto Y, Yamaguchi S:

Effect of heat stress and bezafibrate on mitochondrial beta-oxidation: Comparison between cultured cells from normal and mitochondrial fatty acid oxidation disorder children using in vitro probe acylcarnitine profiling assay. *Brain Dev.* 2009

- 6) Mushimoto Y, Hasegawa Y, Kobayashi H, Li H, Purevsuren J, Nakamura I, Taketani T, Fukuda S, Yamaguchi S: Enzymatic evaluation of glutaric acidemia type 1 by an in vitro probe assay of acylcarnitine profiling using fibroblasts and electrospray ionization/tandem mass spectrometry (MS/MS). *J Chromatogr B*

Analyt Technol Biomed Life Sci. 877: 2648-51, 2009

- 7) Tsuburaya R, Sakamoto O, Arai N, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Shigematsu Y, Takayanagi M, Ohura T, Tsuchiya S: Molecular analysis of a presymptomatic case of carnitine palmitoyl transferase capital I, Ukrainian (CPT I) deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening in Japan. *Brain Dev.* 2009

F. 知的所有権の取得状況
特になし

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制の検討

タンデムマス・スクリーニングの再検査、フォローアップにおける 血清アシルカルニチン分析の必要性

研究要旨

血液ろ紙を用いた血中アシルカルニチン分析は、タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニング（タンデムマス・スクリーニング）を含む脂肪酸代謝異常症の診断に使われている。我々はタンデムマス・スクリーニングで発見した極長鎖アシル-CoA脱水素酵素（VLCAD）欠損症症例の経過中に、血液ろ紙ではカットオフ値を下回った2例を経験した。症例1では初回の血液ろ紙でC14:1が0.92nmol/mlであったものが生後2ヶ月に0.31nmol/ml（カットオフ値0.40）となり、症例2では5.21nmol/mlであったものが、徐々に低下し生後10ヶ月に0.27nmol/mlとなった。一方、いずれの症例も同時に検査した血清での分析ではカットオフ値を上回っていた。このことは血液ろ紙だけの検査ではVLCAD欠損症を見逃す可能性のあることを示唆する。血清には血液ろ紙に含まれる血球がなく、特に長鎖脂肪酸の測定に有用である。これまでの報告も含めて判断するとタンデムマス・スクリーニングにおいてVLCAD欠損症を含む長鎖脂肪酸代謝異常症が疑われる症例の再検査や、タンデムマス・スクリーニング以外でも診断が必要な場合には、血清の検査を追加することが望ましい。

研究協力者

虫本 雄一（島根大学小児科助教）
小林 弘典（島根大学小児科助教）
長谷川有紀（島根大学小児科助教）
坂本 修（東北大学医学部小児科）
大浦 敏博（仙台市立病院小児科）
山口 清次（島根大学小児科教授）

アシルカルニチン（C14:1）が用いられ、我々が行っているタンデムマス・スクリーニングでのカットオフ値は、血液ろ紙で0.40nmol/ml、血清で0.10nmol/mlとしている。現在進められているタンデムマス・スクリーニングでは血液ろ紙を用いて血中アシルカルニチンの分析を行っている。

VLCAD欠損症を含む長鎖脂肪酸代謝異常症において、血液ろ紙と血清のアシルカルニチン値を直接比較した報告は少ない。今回、タンデムマス・スクリーニングで発見されたVLCAD欠損症症例の血液ろ紙、血清中C14:1値の経過を追跡したところ、血液ろ紙ではカットオフ値を下回った2症例を経験したので報告する。

A. 研究目的

極長鎖アシル-CoA脱水素酵素（VLCAD）欠損症は、タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニング（タンデムマス・スクリーニング）の対象疾患であり、本邦ではパイロットスタディの結果から約15万出生に1人の頻度と考えられている。発症形態として新生児期に肥大型心筋症、低血糖で発症する重症型、乳児期に発症する低血糖型、主に幼児期以降に発症する筋型がある。

VLCAD欠損症のスクリーニング指標にはC14:1

B. 研究方法

対象症例

症例1

在胎41週、3,566g、アプガースコア 9/9点、自

然経膈分娩で出生した。その他、周産期歴、家族歴に異常なし。タンデムマス・スクリーニングでC14:1が0.92nmol/mlと高値を示し、確定診断のために行った遺伝子検査でVLCAD欠損症の原因となるACADVL遺伝子に複合ヘテロ接合性変異(T260P、C607S)を認めた。生後3ヶ月よりMCTミルクを開始し、食事指導、sick dayの対応により1歳半現在まで無症状で経過している。

症例2

在胎40週、3,296g、吸引分娩で仮死なく出生した。その他、周産期歴、家族歴に異常なし。新生児マス・スクリーニングでC14:1が5.21nmol/mlと高値を示した。遺伝子解析ではACADVL遺伝子に複合ヘテロ接合性変異(997insT、A416T)を認めVLCAD欠損症と診断した。MCTミルクを生後1ヶ月から開始したが、摂取が不規則になり9ヶ月時に中止された。問診からは1歳半頃より、ぐったりする低血糖様発作が数回あったが、検査で確認された急性発症は感染罹患後の横紋筋融解症を伴った2回であった。1回目は2歳1ヶ月時の突発性発疹に罹患した際、筋肉痛はなかったが罹患1週間後の定期採血でCK 2,452IU/l、AST 106IU/l、ALT 211IU/lと上昇がみられた。2回目は2歳2ヶ月時のヘルパンギーナ罹患の際、発熱はなかったが、徐々に経口摂取が減少し発症3日目にぐったりしてきたため近医で点滴加療をうけた。その後の紹介受診時の採血でCKが10,000IU/l以上、AST 487IU/l、ALT 162IU/lと高値を示した。その際の血糖は88mg/dl、静脈血液ガス所見はpH 7.409、BE -3.2mmol/l、HCO³⁻ 20.2mmol/l、PCO₂ 32.6mmHgであった。1歳半頃より言葉の遅れを指摘され、2歳を過ぎても発語がなかったが、2歳6ヶ月現在、自閉症として経過観察中である。

C. 研究結果

経過中の血液ろ紙、血清におけるC14:1の値を図1に示す。

症例1 (図1a)

血液ろ紙でのC14:1は、生後1ヶ月で0.50nmol

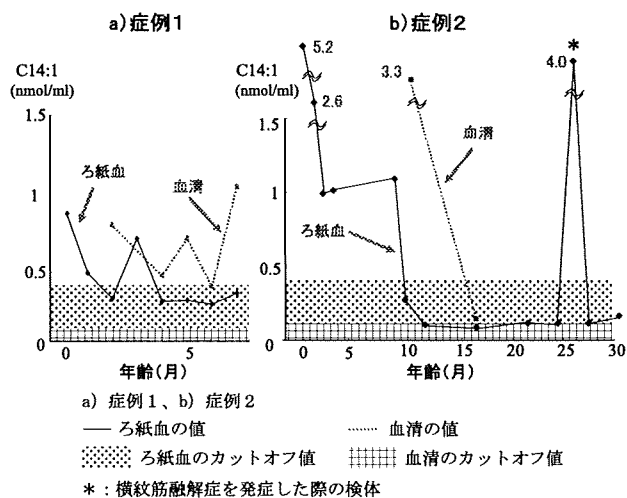


図1. 血液ろ紙と血清におけるC14:1値の推移

/mlまで低下し、生後2ヶ月に0.31nmol/mlとカットオフ値(<0.40)を下回った。生後3ヶ月には0.75nmol/mlと再度高値を示したが、生後4ヶ月から11ヶ月まで0.27~0.35nmol/mlとカットオフを下回る値で推移した。一方、生後2ヶ月から血液ろ紙と同時に検査を行った血清では、C14:1が0.40~1.13nmol/mlといずれの時期でもカットオフ値(<0.10)を超えていた。

症例2 (図1b)

血液ろ紙でのC14:1は、生後1ヶ月は2.6nmol/mlと高値、生後2ヶ月から9ヶ月の間も0.99~1.09nmol/mlとカットオフ値(<0.40)を上回った。しかし、その後は2歳1ヶ月の発作の際に4.01nmol/mlと一過性に上昇したものの、それ以外の生後10ヶ月から2歳7ヶ月までの定期検査では0.08~0.16nmol/mlとカットオフ値を超えなかった。一方、血清では、生後5ヶ月時にC14:1が3.33nmol/mlと高値、1歳5ヶ月時にも0.14nmol/mlと軽度ではあるがカットオフ値(<0.10)を上回った。

D. 考察と結論

今回の2症例では、C14:1値は出生後徐々に低下し、血液ろ紙がカットオフ値を下回った際も血清ではカットオフ値を上回っていた。このことは、再検などの際に血液ろ紙のみの検査ではVLCAD欠損症を見逃す可能性があることを示唆する。

一般に最重症型以外のVLCAD欠損症を含む脂

脂肪酸代謝異常症では、十分なエネルギー供給下では発症しない。新生児期では哺乳確立前の異化亢進の時期（生後2、3日）が最も診断に適しており、生後3日目にVLCAD欠損症と診断された症例が、生後5日目にはC14:1がカットオフ値を下回っていた報告もある。脂肪酸代謝異常症では安定期に必ずしも検査値の異常を示さないことがあるが、今回の2症例のように、血液ろ紙でカットオフ値以下でも血清ではカットオフ値を超える場合が少なくないと思われる。その理由として、血液ろ紙では血球成分を分析してしまうことがあげられる。血球には長鎖脂肪酸が多いため、ろ紙血分析では正常でも長鎖脂肪酸の値が高めになりカットオフ値を高くせざるをえないためである。

今回検討した2例はVLCAD欠損症の中間型から筋型と考えられる症例であった。症例2のように血液ろ紙のC14:1がカットオフ値を下回った症例でも何らかのストレスを契機に発症する可能性は十分にある。発症予防、障害発生予防のためにも、長鎖脂肪酸代謝異常症のスクリーニングの再検査、あるいは経過追跡には、できるだけ血清アシルカルニチン分析を追加する必要がある。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yuichi Mushimoto, Yuki Hasegawa, Hironori Kobayashi, Hong Li, Jamiyan Purevsuren, Isamu Nakamura, Takeshi Taketani, Seiji Fukuda, Seiji Yamaguchi: Enzymatic evaluation of glutaric acidemia type 1 by an *in vitro* probe assay of acylcarnitine profiling using fibroblasts and electrospray ionization/tandem mass spectrometry (MS/MS). *Journal of Chromatography B* 877: 2648-2651, 2009
- 2) 虫本雄一, 山口清次: グルタル酸血症: 小児内科 41: 383-386, 2009
- 3) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 坂本 修, 大浦敏博, 山口清次: 経過中血液ろ紙分析でカットオフ値を下回った極長鎖アシル-CoA脱水素酵素欠損症の2症: 血清分析の必要性.

日本マススクリーニング学会誌 19: 255-259, 2009

- 4) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 李 紅, 福田誠司, 近藤陽一, 脇口 宏, 藤枝幹也, 高杉尚志, 山口 結, 吉良龍太郎, 原 寿郎, 山口清次: 中鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症日本人5症例の発症形態の検討. *小児科学会雑誌* 113: 1800-1804, 2009

2. 学会発表

- 1) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 坂本 修, 大浦敏博, 山口清次: タンデムマス・スクリーニングにおける酵素評価: 経過中血液ろ紙分析で異常を認めなくなった極長鎖アシル-CoA脱水素酵素欠損症2症例: 血清分析の必要性. 第36回マス・スクリーニング学会. 札幌, 2009.
- 2) 虫本雄一, 小林弘典, プレブスレン・ジャミヤン, 李 紅, 長谷川有紀, 山口清次: 島根大学における新生児タンデムマス・スクリーニングの現状. 第84回山陰小児科学会. 米子, 2009
- 3) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 李 紅, Jamiyan Purevsuren, 伊藤道徳, 大浦敏博, 芳野 信, 渡邊陸房, 山口清次: 末梢リンパ球とタンデム質量分析を用いた *in vitro* probe assayによるグルタル酸血症2型の脂肪酸 β 酸化能評価. 第51回日本先天代謝異常学会. 東京, 2009
- 4) Yuichi Mushimoto, Yuki Hasegawa, Hironori Kobayashi, Jamiyan Purevsuren, Li Hong, Seiji Fukuda, Seiji Yamaguchi: A diagnostic support of neonatal mass screening for glutaric acidemia type1: Enzyme evaluation by *in vitro* probe acylcarnitine assay using fibroblasts and electrospray ionization/tandem mass (MS/MS). 7th Inborn Errors of Metabolism and Neonatal Screening. Cancun, 2009

F. 知的所有権の取得状況

特になし

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制の検討

迅速酵素活性測定＋遺伝子解析による タンデムマス新生児スクリーニング陽性例の確定診断実績

研究要旨

前年度に引き続きタンデムマス新生児スクリーニング陽性例の酵素診断を実施した。メープルシロップ尿症も含む全実績では、陽性53例中36例を罹患と診断した。脂肪酸代謝異常症については遺伝子解析も実施し、特にMCAD欠損症の正確な診断には酵素活性測定が不可欠と考えられた。今後、一次スクリーニング検査施設で我々の酵素診断法を実施できる体制を構築することで、確定診断の遅延による診療方針の混乱を低減できると考える。

研究協力者

佐倉 伸夫（重症心身障害児施設鈴が峰病院長）
但馬 剛（広島大学大学院小児科学助教）
岡田 賢（広島大学大学院小児科学助教）
白尾謙一郎（広島大学大学院小児科学大学院生）
原 圭一（広島大学大学院小児科学大学院生）
宇都宮朱里（広島大学大学院小児科学大学院生）
津村 弥来（広島大学大学院小児科学大学院生）
西村 裕（市立広島市民病院新生児科医師）
小野 浩明（県立広島病院小児科医師）
中常千代美（広島市医師会臨床検査センター）
渡川美弥子（広島市医師会臨床検査センター）
吉井千代子（広島市医師会臨床検査センター）
濱川 以行（広島市医師会臨床検査センター）
畑 郁江（福井大学医学部小児科助教）
重松 陽介（福井大学医学部看護学科教授）

A. 研究目的

前年度に引き続き、タンデムマス新生児スクリーニング（MS/MS-NBS）の主な対象疾患陽性例の確定検査として、高速液体クロマトグラフィを用いたリンパ球中の酵素活性測定を実施して、その有用性を検討した。

B. 研究方法

1) 酵素診断

国内各地のMS/MS-NBS陽性例および、現行NBSでのメープルシロップ尿症（MSUD）陽性例について、既報の方法で酵素活性を測定した（但馬：日本マス・スクリーニング学会誌 16, 27-32, 2006）。

2) MCAD欠損症の遺伝子診断

MCAD活性低下を認めたNBS陽性例および有症状精査例につき、ゲノムDNAを基に各エクソンを直接塩基配列決定法で解析した。

3) 倫理面への配慮

MS/MS-NBS試験研究および対象疾患の遺伝子解析については広島大学倫理委員会で承認済みであり、所定の説明を行い、同意書を得た上で実施した。酵素活性測定についても、遺伝子解析について承認を受けた方法に準じて、同意書を得た上で実施した。

C. 研究結果

1) 酵素診断実績（表1）

前年度報告以降の測定実績として、県外からメチルマロン酸血症1例、グルタル酸尿症I型1例

表1. これまでに酵素活性を測定した新生児スクリーニング陽性例の診断結果

疾患	活性低下例/陽性例	疾患	活性低下例/陽性例
メチルマロン酸血症	3/5	SCAD欠損症	2/2
プロピオン酸血症	13/20	MCAD欠損症	7/11
イソ吉草酸血症	2/2	VLCAD欠損症	2/2
グルタル酸尿症 I 型	4/4	メープルシロップ尿症	3/7
総計	陽性53例	活性低下36例	正常活性17例

表2. MCAD活性低下例の遺伝子解析結果

残存活性(%)	診断契機	変異 (アレル1)	変異 (アレル2)
0.0	有症状精査	449-452delCTGA	449-452delCTGA
0.0	新生児スクリーニング	843A>T	IVS3+2C>T
2.2	同胞スクリーニング	未同定	未同定
2.6	新生児スクリーニング	未同定	未同定
3.0	有症状精査	未同定	未同定
10.3	有症状精査	157C>T	449-452delCTGA
11.2*	有症状精査	449-452delCTGA	1189A>T
13.2	新生児スクリーニング	50G>A	449-452delCTGA
47.5	新生児スクリーニング	50G>A	1247T>C

*名古屋市長大立大学小児科での測定結果 (Yokoi K et al.: Tohoku J Exp Med 213: 351-359, 2007.)

の酵素活性低下を確認した。MSUDは陽性7例中3例で酵素活性が低下していた。これらを加えた我々の全実績では、NBS陽性53例の酵素活性を測定して、36例を罹患と診断した。

2) MCAD遺伝子診断実績 (表2)

NBS陽性例・有症状精査例を通じて449-452delCTGAが多く見出されたが、その他の変異は様々で、エクソンの解析では同定困難な症例も見られた。(※表中には我々の酵素診断法を採用した名古屋市長大立大学小児科からの報告例1例を含む。)

D. 考察と結論

MS/MS-NBSでは、酵素活性正常で「偽陽性」と判断された例が少なからず生じており、除外診断には酵素活性測定が最も優れた方法と言える。最重要疾患であるMCAD欠損症では、高めの残存活性を有する例でも1塩基置換が検出され、遺伝子解析だけでは重症度の過大評価も起こりうる。名古屋市長大立大学の報告が示すように、我々の酵素診断法は導入が容易で、対象疾患の拡大も可能なので、今後各地の一次スクリーニング施設で実施できる体制の構築を進めることを提案したい。こ

れによって、スクリーニング陽性を指摘された後、診断が確定できないまま診療方針に混乱を来す症例を減少させることができると考える。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 但馬 剛、佐倉伸夫. メープルシロップ尿症の酵素診断. 日本マス・スクリーニング学会誌, 19(1); 45-49, 2009.

2. 学会発表

- 1) Tajima G, Sakura N, Tsumura M, et al.: The ten-year experience of tandem mass spectrometry-based newborn screening in Hiroshima area of Japan. The 2nd Kure International Medical Forum. Kure, July 2009
- 2) 但馬 剛、佐倉伸夫、津村弥来、他：広島県におけるタンデムマス新生児スクリーニング10年間の経験. 第36回日本マス・スクリーニング学会. 札幌, 2009年8月
- 3) 但馬 剛、佐倉伸夫、畑 郁江、重松陽介：HPLCを用いたグルタル酸尿症 I 型の酵素診断. 第34回日本医用マスペクトル学会. 東

大阪, 2009年9月

- 4) 但馬 剛, 佐倉伸夫: タンデムマス・スクリーニングに向けた簡易な酵素活性測定法の開発. 第51回日本先天代謝異常学会. 東京, 2009年11月

F. 知的所有権の取得状況

特になし。

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制の検討

メチルマロン酸血症におけるミトコンドリア呼吸鎖活性低下について

研究要旨

メチルマロン酸血症は拡大新生児マススクリーニングの候補疾患である。メチルマロン酸血症の発作時、血中メチルマロン酸は高値を示さず、乳酸が極めて高値を示すことが多い。われわれはメチルマロン酸血症の肝臓、腎臓のミトコンドリア呼吸鎖を検討したところ、肝、腎において著しい低下を示すことを見出した。スクリーニングで発見した症例を適切に管理するためには、治療法も含めて今後本疾患のミトコンドリア呼吸鎖の検討が必要である。

研究協力者

高柳 正樹（千葉県こども病院医療局長）

ご家族のご了解を得て、剖検で得られた肝臓、腎臓を検討材料とした。

2) 方法

A. 研究目的

メチルマロン酸血症は拡大新生児マススクリーニングの候補疾患である。メチルマロン酸血症の発作時、血中メチルマロン酸は高値を示さず、血中乳酸が極めて高値を示すことが多い。肝移植が行われた症例においても、中枢神経系局所における高乳酸状態が、神経症状を惹起することが報告されている。（中島葉子：生体肝移植2年後に大脳基底核病変を伴う急性発作を呈したメチルマロン酸血症の1例。第51回日本先天代謝異常学会。東京、2009.）

肝、腎のミトコンドリア呼吸鎖複合体活性は既報の方法（S. Rahman *Ann Neurol* 39: 343-, 2005. DM Kirby *Neurology* 52: 1255-, 1999）を一部改変して行った。酵素活性は呼吸鎖 I -IV及びミトコンドリアマーカールとしてのCitrate syntase (CS)を測定し、CSおよびComplexIIとの比で評価した。

C. 研究結果

測定結果を表に示す。

われわれはメチルマロン酸血症の肝臓のミトコンドリア呼吸鎖複合体活性を検討したところ、著しい低下を示すことを見出した。スクリーニングで発見した症例を適切に管理するためには、治療法も含めて今後本疾患のミトコンドリア呼吸鎖複合体の病態の検討が必要である。

Enzyme assay of respiratory chain

	%	Co I	Co II	Co III	Co IV	CS
Case Liver						
% of normal		21	172	46	80	316
CS ratio		7	55	14	25	-
Co II ratio		12	-	27	46	-
Case Kidney						
% of normal		14	125	126	152	126
CS ratio		11	99	101	121	-
Co II ratio		11	-	101	122	-

Co I; complex I, Co II; complex II, Co III; complex III, Co IV; complex IV, CS; citrate synthase

B. 対象と研究方法

1) 対象

当院で治療管理していたメチルマロン酸血症男子で、胃腸炎を契機にアシドーシス発作が発症し、著名な高乳酸血症を呈し死亡した症例である。

ミトコンドリア呼吸鎖複合体の酵素活性は、肝臓においては呼吸鎖複合体 I、III、IVの低下が認められた。腎臓においては呼吸鎖複合体 I の活性

低下が認められた。特に呼吸鎖複合体 I は両方の臓器で著名な低下をきたしていた。

D. 考察と結論

メチルマロン酸血症の発作時の治療中に、難治性の高乳酸血症が発症することは良く知られている。この原因が二次的に生じたミトコンドリア呼吸鎖複合体の活性低下によるものであることが、今回の研究においても強く支持されるであろう。

われわれはこの症例以外でもメチルマロン酸血症の患者の肝臓においてのミトコンドリア呼吸鎖活性の低下を数例において確認している。また同様の報告がいくつか報告されている。

今後メチルマロン酸血症の治療法の一つとして、ミトコンドリア呼吸鎖異常に対する治療法さらにはミトコンドリアを保護するような治療法を行う必要性があることが考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kaji S, Murayama K, Nagata I, Nagasaka H, Takayanagi M, Ohtake A, Iwasa H, Nishiyama M, Okazaki Y, Harashima H, Eitoku T, Yamamoto M, Matsushita H, Kitamoto K, Sakata S, Katayama T, Sugimoto S, Fujimoto Y, Murakami J, Kanzaki S, Shiraki K:

Fluctuating liver functions in siblings with MPV17 mutations and possible improvement associated with dietary and pharmaceutical treatments targeting respiratory chain complex II. *Mol Genet Metab.* 97: 292-6, 2009. Epub 2009 May 12

- 2) Murayama K, Nagasaka H, Tsuruoka T, Omata Y, Horie H, Tregoning S, Thorburn DR, Takayanagi M, Ohtake A: Intractable secretory diarrhea in a Japanese boy with mitochondrial respiratory chain complex I deficiency. *Eur J Pediatr.* 168(3): 297-302. 2009

2. 学会発表

- 1) 藤浪綾子, 村山 圭, 安嶋まさみ 他: 本邦におけるミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症の現状. 第51回日本先天代謝異常学会. 東京, 2009.
- 2) 藤浪綾子, 村山 圭, 安嶋まさみ 他: ミトコンドリア呼吸鎖異常症における肝疾患の現状. 第36回日本小児栄養消化器肝臓学会. 札幌, 2009

F. 知的所有権の取得状況

特になし

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制の検討

本邦における遺伝子診断ネットワークの構築とその運用

研究要旨

タンデムマスなどの新しい手法の導入によって新生児マススクリーニングの対象が増加するに伴い、その確定診断や治療方針の決定、さらに家族への遺伝カウンセリングをおこなうために遺伝子検査が必要となる疾患も増加していくと考えられる。しかしながら、現在のわが国の診療体系では遺伝子診断を医療として提供するシステムが整備されていない。本分担研究では、稀少遺伝性疾患に対する全国的な遺伝子診断ネットワークを試行し、実際に30件の遺伝子検査を提供した。

研究協力者

松原 洋一（東北大学教授）
青木 継稔（東邦大学学長）
奥山 虎之（国立成育医療センター部長）
鎌谷 直之（東京女子医科大学教授）
呉 繁夫（東北大学准教授）
小崎健次郎（慶應義塾大学准教授）
小杉 眞司（京都大学教授）
櫻井 晃洋（信州大学准教授）
堤 正好（エスアールエル）
成澤 邦明（東北文化学園大学教授）
福嶋 義光（信州大学教授）
山口 清次（島根大学教授）
斉藤加代子（東京女子医科大学教授）
高田 史男（北里大学准教授）

A. 研究目的

新生児マススクリーニングで発見される疾患の多くは稀少遺伝性疾患である。また、地域的にパイロット研究が実施されているタンデムマスの対象である有機酸代謝異常症・脂肪酸代謝異常症も遺伝性疾患である。また先天性聴覚障害の約半数は遺伝性のものである。このような遺伝性疾患においては、その診断確定や治療方針の決定、さらに家族への遺伝カウンセリングをおこなうために、

しばしば遺伝子診断が必要とされる。

しかしながらわが国の診療体系では、染色体検査と下記の少数の遺伝学的検査にしか保険が適用されていない。現在保険収載されている遺伝病的検査は、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、ベッカー型筋ジストロフィー、福山型先天性筋ジストロフィー、栄養障害型表皮水疱症、家族性アミロイドーシス、先天性QT延長症候群、脊髄性筋萎縮症、中枢神経白質形成異常症、ムコ多糖症Ⅰ型、ムコ多糖症Ⅱ型、ゴーシェ病、ファブリ病、ポンペ病の13種類で、このなかに新生児マススクリーニング対象疾患は一つも含まれていない。新生児マススクリーニング対象疾患は、早期発見と早期治療の有用性が国際的にも広く認知されているにも関わらず、その遺伝子検査が標準医療として認可されていないのは先進諸国のなかではわが国だけである。

したがって、実際に遺伝学的検査が必要となった場合に実施するためには様々な困難が存在する。まず遺伝学的検査そのものが、院内はもとより検査会社でも提供されておらず、当該疾患の研究を行っている研究室を探し出して検査を依頼する必要がある。また、遺伝学的検査の費用については、保険未収載のため従来は各研究室が研究の一環として無償提供してきた。しかしながら、財政

的・人支援がないため、診断サービスの維持が困難となりつつある。

このような現状を踏まえ、私たちはわが国における稀少遺伝性疾患の遺伝子診療ネットワークを構築し、その試行を実施した。

B. 研究方法

わが国における稀少遺伝性疾患の遺伝子診療ネットワークを構築し、その運用を試行した。

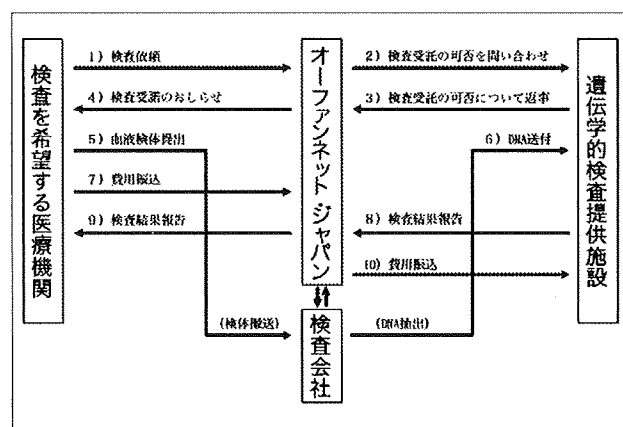
(倫理面への配慮)

本研究で実施した遺伝子検査については、10学会が2003年に制定した「遺伝学的検査に関するガイドライン」に従って実施した。

C. 研究結果

1) 遺伝子検査ネットワーク「オーファンネットジャパン」の構築

まず、全国の大学研究室7施設を遺伝学的検査提供施設として、稀少遺伝性疾患の遺伝子検査ネットワークを構築した。このネットワークの概要を下図に示す。



この遺伝子検査ネットワークによって36種類の遺伝子検査提供体制を整えた。このうち、30種類が遺伝性疾患(表1)、6種類が薬剤反応性遺伝子多型であった。30種の遺伝性疾患の中で、タンデムマスを含む新生児マススクリーニング対象疾患は、フェニルケトン尿症、プロピオン酸血症、ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症、メチルマロン酸血症(mut型)、メチルマロン酸血症(cblA型)、メチルマロン酸血症(cblC型)、カルニチンパルミトイル基転移酵素II(CPT2)欠損症、ホ

モシスチン尿症(I型)、 β -ケトチオラーゼ欠損症の9種であった。また先天性難聴関連遺伝子としては、NOG、TECTA、WFS1、CDH23、COL9A1、COCH、COL9A3、CRYM、KCNQ4、EYA1の10種の遺伝子検査体制を整えた。

さらに、これ以外の遺伝子検査を提供するためにベルギーに本拠を置く遺伝子検査ネットワークGENDIAと連携し、国内の病院からの希望があればGENDIAに検査依頼できる体制を整えた。

2) オーファンネットジャパンによる遺伝子検査の提供

実際にこのネットワークを試行し、これまでに30件の遺伝子検査を提供した(現在進行中のものを含む)。その内訳は、メチルマロン酸血症(mut型)(4件)、メチルマロン酸血症(cblA型)(3件)、プロピオン酸血症(1件)、カルニチンパルミトイル基転移酵素II(CPT2)欠損症(2件)、ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症(4件)、糖原病Ia型(3件)、糖原病Ib型(1件)、Barth症候群(1件)、CHARGE症候群(3件)、de Lange症候群(1件)、Alagille症候群(4件)、神経線維腫症1型(3件)であった。

D. 考察

このネットワークでは、センターであるオーファンネットジャパン自身が遺伝子検査を実施するのではなく、遺伝子検査を希望する医療機関と、その遺伝子検査を提供している研究室の間をコーディネートする役割を担う。医療機関は、従来のように遺伝子検査実施施設を自ら探し出して交渉する必要はなく、オーファンネットジャパンに連絡するだけでよい。一方、検査を受諾する研究室は煩雑な連絡事務作業をオーファンネットジャパンに委ねることができる。遺伝子検査結果は、オーファンネットジャパンを通じて医療機関側に伝えられ、このプロセスを通じて報告書書式の標準化を実施した。血液検体の輸送やDNA抽出に関しては、商業的検査会社の既存のネットワークを活用することで迅速かつ安全な全国サービス提供が可能となった。遺伝子検査の費用については、受益者負

担とし、医療機関が患者さんと協議の上何らかの形で負担していただいた。

実際にこのシステムを通じて30件の遺伝子検査を提供したが、いずれもスムーズに実施することができ問題点は認められなかった。

今後、ネットワークへの参加施設を増やし、遺伝子検査項目を追加していくことで、遺伝子検査提供体制を充実させていくことが可能と考えられる。

E. 結論

わが国における稀少遺伝性疾患の遺伝子検査ネットワークを構築し、その試行によって有用性を確認することができた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kaput J, et al.: Planning the human variome project: the Spain report. *Hum Mutat.* 30(4): 496-510, 2009.
- 2) Kobayashi T, et al.: Molecular and clinical analysis of RAF1 in Noonan syndrome and related disorders: dephosphorylation of serine 259 as the essential mechanism for mutant activation. *Hum Mutat.* 2010 Jan 5. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

松原洋一. 新しいマススクリーニングに向けたサポート体制 (シンポジウム: タンデムマス導入による新生児マススクリーニングの新時代), 第51回日本先天代謝異常学会, 平成21年11月7日, 東京

H. 知的所有権の取得状況

該当なし

表1. オーフアンネットジャパンが提供する遺伝子検査 (疾患名)

フェニルケトン尿症
プロピオン酸血症
マルチプルカルボキシラーゼ欠損症
メチルマロン酸血症 (mut型)
メチルマロン酸血症 (cb1A型)
メチルマロン酸血症 (cb1C型)
カルニチンパルミトイル基転移酵素II (CPT2) 欠損症
ホモシスチン尿症 (I型)
β -ケトチオラーゼ欠損症
Barth症候群 (3-メチルグルタコン酸尿症II型)
サクシニル-CoA : ケト酸CoAトランスフェラーゼ (SCOT) 欠損症
NOG遺伝子変異による難聴
TECTA遺伝子変異による難聴
WFS1遺伝子変異による難聴
CDH23遺伝子変異による難聴
COL9A1遺伝子変異による難聴
COCH遺伝子変異による難聴
COL9A3遺伝子変異による難聴
CRYM遺伝子変異による難聴
KCNQ4遺伝子変異による難聴
BOR症候群
糖原病 I a型
糖原病 I b型
Fanconi-Bickel症候群 (糖原病 XI型)
de Lange症候群
CHARGE症候群
Rubinstein-Taybi症候群
Sotos症候群
Alagille症候群
キサントチン尿症

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制の検討

遺伝子診断体制およびそのネットワークづくり

アミノ酸を変えない塩基置換でも病因となりうるExonic Splicing Enhancer (ESE) 変異： β-ケトチオラーゼ欠損症例の解析から

研究要旨

遺伝子診断体制を構築するにあたり、正確な遺伝子診断、遺伝子変異の評価は重要な課題である。

我々は遺伝子変異のうちスプライシングに影響を与える変異について詳細な解析を行っている。スプライシングには5'スプライス部位、3'スプライス部位、branch 部位などの配列がエクソン/イントロンの決定に重要であるが、近年エクソン内配列もエクソンをエクソンと認識する上で重要であることが知られるようになってきた。その1つがexonic splicing enhancerである。このような変異を理解することが遺伝子診断体制にとって重要なことである。

研究協力者

深尾敏幸（岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科/大学院医学系研究科小児病態学 教授）

A. 研究目的

遺伝子診断体制を構築するにあたり、正確な遺伝子診断、遺伝子変異の評価は重要な課題である。我々は遺伝子変異のうちスプライシングに影響を与える変異について詳細な解析を行い、その病態を明らかにすることが目的である。今回は特にExonic splicing enhancerの異常についての解析をおこなった。

B. 研究方法

1) 症例

生後7ヶ月時に重篤なケトアシドーシスで発症したミトコンドリアアセトアセチル-CoAチオラーゼ (T2) 欠損症の日本人患者。

2) 遺伝子解析

ゲノムレベルでの遺伝子変異スクリーニングとcDNA解析を行った。

3) ミニジーンによるスプライシング実験

T2遺伝子のエクソン9~11（イントロン短縮後）を含む断片をpCAGGSに組み込んで、エクソン10領域についてはIn vitro mutagenesisによっていくつかの変異を導入した。T2とRabbitのbeta-globinの融合mRNAとしてスプライシング産物を解析した。

C. 研究結果

1 ゲノムレベルでの変異解析では、c. 556G>T (D186Y、エクソン(ex)6)とc. 951C>T(D317D、ex10)の2つの塩基置換が認められた。RT-PCRにて全翻訳領域を1フラグメントとして増幅、サブクローニングして解析するとc. 556G>T(D186Y)のある8クローンとD186Yはなくex10スキップのある2クローンが認められた。以上からc. 951C>Tはex10をスキップさせると考えられた。コンピューターサーチにより、この塩基置換はexonic splicing enhancer (ESE) SF2/ASFの上にあったため、ESEの機能が低下しスプライシング (sp) 異常が生じたとの仮説をたてた。まず正常のex9~ex11

までのspミニジーンを作成して、それにこのESEのコンセンサス配列にあたる塩基を1つずつ置換した947C>T、951C>T、952G>Aの3つのミニジーン、さらにex10の最初の塩基を941C>Gとex認識を増強する置換を組み合わせた3つのミニジーンを作成してsp実験を行った。結果ESEのコンセンサス配列にあたる塩基を置換した947C>T、3つのミニジーンにおいては、ex10をスキップするバンドが検出されたが、正常およびex10の最初の塩基を941C>Gとex認識を増強した3つのミニジーンでは、ex10スキップのバンドは検出されなかった。以上からイントロン9のスプライスアクセプター部位が弱いため、ex10は適切なspにESEを必要とし、その配列の変異により、ex10スキップをすることが明らかとなった。

D. 考察と結論

スプライシングには5'スプライス部位、3'スプライス部位、branch部位などの配列がエクソン/イントロンの決定に重要であるが、近年エクソン内配列もエクソンをエクソンと認識する上で重要であることが知られるようになってきた。その1つがexonic splicing enhancerである。このようにエクソン内のアミノ酸置換を伴わない塩基置換(Synonymous mutations)であってもexonic splicing enhancerに影響し病因となりうるので注意が必要である。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fukao T, Kondo M, Yamamoto T, Orii KE, Kondo N: Comparison of mitochondrial A3243G mutation load in easily accessible samples in a family with maternally inherited diabetes and deafness. *Molecular Medicine Reports* 2: 69-72, 2009
- 2) Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Mushimoto Y, Li H, Fukuda S, Shigematsu Y, Fukao T, Yamaguchi S: A novel molecular aspect of Japanese patients with medium-chain

acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MCADD): c.449-452delCTGA is a common mutation in Japanese patients with MCADD. *Mol Genet Metab* 96: 77-79, 2009

- 3) Macdonald MJ, Longacre MJ, Langberg EC, Tibell A, Kendrick MA, Fukao T, Ostenson CG: Decreased levels of metabolic enzymes in pancreatic islets of patients with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 52: 1087-1091, 2009
- 4) Otomo T, Muramatsu T, Yorifuji T, Okuyama T, Nakabayashi H, Fukao T, Ohura T, Yoshino M, Tanaka A, Okamoto N, Inui K, Ozono K, Sakai N: Mucopolidosis II and III alpha/beta: mutation analysis of 40 Japanese patients showed genotype-phenotype correlation. *J Hum Genet*. 54: 145-151, 2009
- 5) Purevsuren J, Fukao T, Hasegawa Y, Fukuda S, Kobayashi H, Yamaguchi S: Clinical and molecular investigations of 5 Japanese patients with mitochondrial trifunctional protein deficiency. *Mol Genet Metab* 98: 372-377, 2009
- 6) Thummler S, Dupont D, Acquaviva C, Fukao T, de Ricaud D: Different Clinical Presentation in Siblings with Mitochondrial Acetoacetyl-CoA Thiolase Deficiency and Identification of Two Novel Mutations. *Tohoku J Exp Med* 220: 27-31, 2010
- 7) Fukao T, Zhang G, Matsuo N, Kondo N: CpG islands around exon 1 in Succinyl-CoA: 3-ketoacid CoA transferase (SCOT) gene were hypomethylated even in human and mouse hepatic tissues where SCOT gene expression was completely suppressed. *Molecular Medicine Reports* 3: 355-359, 2010
- 8) Fukao T, Nguyen HT, Nguyen NT, Vu DC, Can NTB, Pham ATV, Nguyen KN, Kobayashi H, Hasegawa Y, Bui TH, Niezen-Koning KE, Wanders RJA, de Koning T, Nguyen LT, Yamaguchi S, Kondo N: A common mutation, R208X, identified in

Vietnamese patients with mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) deficiency Mol Genet Metab in press

2. 学会発表

- 1) Fukao T, Naiki Y, Tanaka, Kondo N: An exonic splicing mutation identified in a beta-ketothiolase-deficient patient. 11th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, August 29-September 2, SanDiego, USA, 2009
- 2) Fukao T, Hori T, Teramoto T, Kobayashi H, Takayanagi M, Hasegawa Y, Yasuno T, Yamaguchi S, Kondo N: The Time-course of blood and urinary acylcarnitine levels during initial L-carnitine supplementation to a CPT2-deficient patient. 11th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, August 29-September 2, SanDiego, USA, 2009
- 3) 深尾敏幸, 近藤直実, 内木康博, 堀川玲子, 田中藤樹: エクソン内1塩基置換により,

Exonic splicing Enhancer配列に影響し, エクソンスキップを来したミトコンドリアアセトアセチル-CoAチオラーゼ (T2) の1症例. 第54回日本人類遺伝学会, 8月24日-26日, 東京, 2009

- 4) 久保田一生, 深尾敏幸, 堀友博, 小林宏典, 船戸道徳, 長谷川有紀, 山口清次, 近藤直実: CPT2欠損症: 生後0日からの血液ろ紙, 血清のアシルカルニチンプロファイルの変化. 第51回日本先天代謝異常学会総会, 11月5日~7日, 東京, 2009
- 5) 深尾敏幸, 堀川玲子, 内木康博, 田中藤樹, 近藤直実: β -ケトチオラーゼ欠損症の分子病態: Exonic splicing enhancer変異の解析. 第51回日本先天代謝異常学会総会, 11月5日~7日, 東京, 2009

F. 知的所有権の取得状況

特になし