

(資料8)

脳症発症と 酸化障害の関連性に関する研究

研究分担者 山口清次 (島根大学医学部小児科学 教授)
研究協力者 長谷川有紀 (島根大学医学部小児科学 助教)
小林弘典 (島根大学医学部小児科学 助教)
山田健治 (島根大学医学部小児科 医科医員)
高橋知男 (島根大学医学部小児科学 大学院生)
坊 亮輔 (島根大学医学部小児科 医科医員)

研究要旨

正常だった小児が感染などを機に急性増悪するミトコンドリア 酸化異常症(酸化異常症)はインフルエンザ脳症の発症形態と類似点がある。インフルエンザの重症化(または急性脳症)に 酸化障害の関与を培養細胞とタンデムマスを用いる in vitro probe (IVP) assay によって評価した。その結果以下の成果が得られた。

環境温度は 酸化に影響を与える、すなわち 高温下では長鎖脂肪酸の 酸化障害を増悪し、低温下では障害を緩和する可能性がある。 感染時に増加するサイトカインの一部は 酸化に抑制的に働く。 解熱剤の一部(本研究ではサリチル酸とジクロフェナク)は 酸化を抑制して急性脳症への発展のリスクを高める。一方アセトアミノフェンは 酸化に影響を与えない。解熱剤と急性脳症(またはライ症候群)の関係は疫学的調査で警告されているが、本研究によってこれらの臨床疫学的な現象を裏付けることができた。 セレウス菌の毒素セレウリドは 酸化を抑制することが証明された。障害パターンはCPT2 欠損症化またはグルタル酸血症 型の重症型が推定された。

一方、高脂血症治療薬のベザフィブラートが(BEZ)は、 酸化障害を改善する可能性が示され、急性脳症発症の予防、或いは軽減を可能にする薬剤でありうることが示された。

A. 研究目的

小児のインフルエンザ脳症は、発症後短時間のうちにけいれん、意識障害を起こし、死亡したり、後遺症を残すことが少なくない。一方、先天代謝異常である脂肪酸 酸化異常症(酸化異常症)も、正常と変わらぬ生活をしてきた小児が、感染などを契機に急激に悪化して急性脳症、乳幼児突然死様の経過をとる点で、インフルエンザ脳症と臨床的経過

において類似点がある。そこでヒト培養細胞を用いて種々の環境で培養して 酸化能を評価して、急性脳症の発症と 酸化障害との関連性について検討した。

B. 方法

1) in vitro probe (IVP) assay による酸化能評価
培養細胞の 酸化能を評価するために in

in vitro probe (IVP) assay を用いた。IVP assay では、培養皮膚線維芽細胞を特殊なメディウム（ブドウ糖、遊離脂肪酸欠乏かつカルニチン過剰）で培養し、酸化を亢進させた状態で、パルミチン酸などの脂肪酸を添加してメ

ディウム中に分泌されるアシルカルニチンをタンデムマスで測定した。これにより培養細胞の酸化能、および障害部位を評価した。アシルカルニチンはタンデムマスによって測定した。その原理を図1に示す。

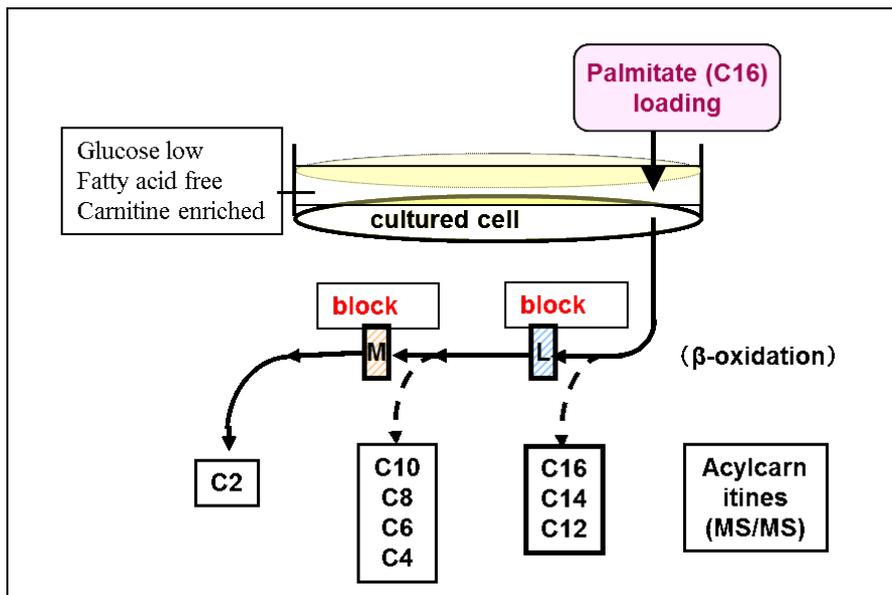


図1 . In vitro probe assay の原理

M、L=それぞれ中鎖と長鎖脂肪酸をさす。中鎖酸化(M)が障害されると、中鎖アシルカルニチン(C4, C6, C8, C10)が増加する。長鎖脂肪酸酸化(L)が障害されると長鎖アシルカルニチン(C12, C14, C16)が増加する。アシルカルニチンはタンデムマス (MS/MS) によって測定する。

2) 環境温度の影響

培養環境を、高温下(41)と低温下(33)、および37 環境下で培養して IVP assay を行った。正常および酸化異常症の細胞における酸化能の変化を検討した。

3) サイトカインの影響

グルタル酸血症型細胞を用いた。インフルエンザ脳症など多くの感染症で増加することが知られているサイトカイン、IFN、TNF、IL1 および IL6 をそれぞれ 10 ng/mL の存在下で、パルミチン酸を負荷して IVP assay によって酸化能の変化を検討した。

4) 解熱剤による酸化能への影響

解熱剤の酸化系に対する影響を調べるために、正常細胞を用いてサリチル酸(アスピリン代謝産物)5 mM、ジクロフェナク 0.3 mM、およびアセトアミノフェン 7.5 mM の存在下で IVP assay を行った。

5) ベザフィブラートの酸化障害の緩和効果の検討

高脂血症治療薬のベザフィブラート (BEZ) が酸化酵素遺伝子をの転写促進することによって、VLCAD 欠損症や CPT2 欠損症などの

酸化異常症の酵素残存活性を増加させることが知られている。IVP assay の培地に BEZ 400 nmol/mL の濃度で添加して BEZ 存在下で IVP assay を行った。VLCAD 欠損症、CPT2 欠損症、GA2、CACT 欠損症、MCAD 欠損症、TFP 欠損症の細胞をテストした。

6) 食中毒菌の毒素セレウリドの酸化への影響

食中毒を起こすセレウス菌の食中毒によって発症から6時間後に死亡した小児例の報告がある (Shiota S, et al: Pediatrics, 2010;25:e951-e955)。正常な細胞を用いて、セレウス菌の毒素セレウリド 50 ng/mL と 100 ng/mL の存在下で、IVP assay を行いセレウリドの酸化能への影響を調べた。

C. 結果

1) IVP assay による酸化能評価の有効性の確認

IVP assay によって正常コントロールと種々の酸化異常症の細胞をテストした。結果を図2に示す。正常コントロール(図2A)ではC2(アセチルカルニチン)のみが有意なピークとして観察された。MCAD 欠損症(図2B)では、C4、C6、C8、およびC10(短鎖・中鎖のアシルカルニチン)の増加がみられた。VLCAD 欠損症(図2C)では、C12、C14、およびC16(長鎖アシルカルニチン)の増加がみられた。CPT2 欠損症(図2D)では、長鎖アシルカルニチン(C16)のみが増加していた。

グルタル酸血症型(GA2)の軽症型(図2E)では、C4~C16(短鎖~長鎖)の広範囲の炭素鎖のアシルカルニチンがみられた。これに対し、GA2の重症型(図2F)では、C16(パルミトイルカルニチン)のみが増加していた。これは、軽症型では負荷したパルミチン酸がある程度代謝されるのに対し、重症型では代謝が著しく障害されていることを示す。以上のように、IVP assay によって酸化の病態が評価できることを確認した。

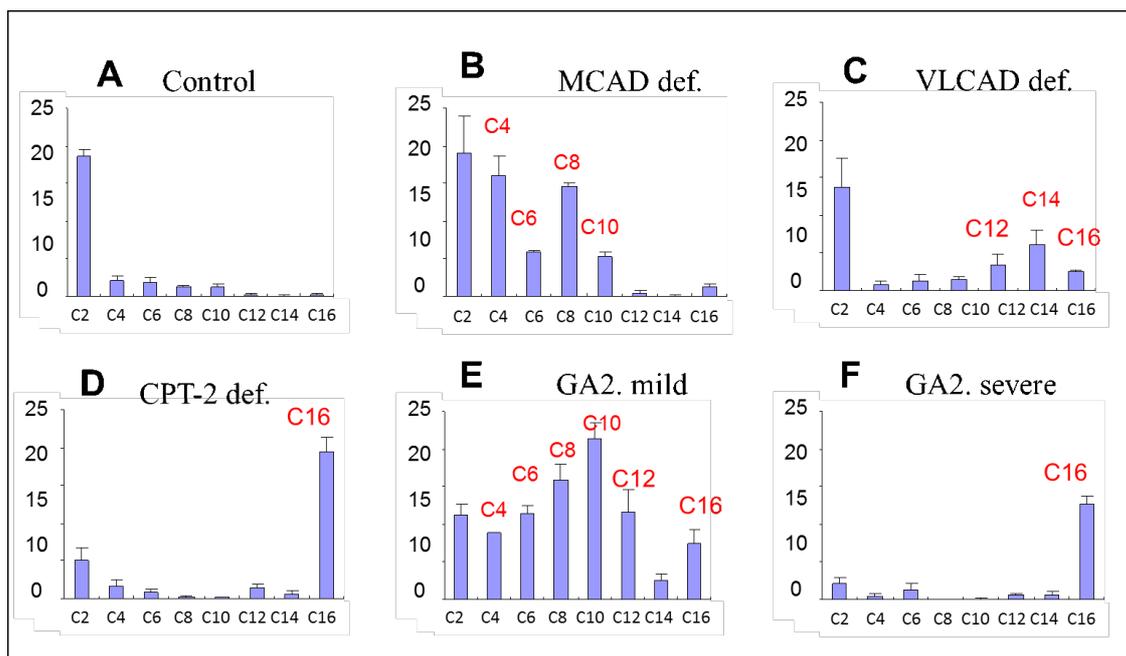


図2. IVP assay による酸化能評価の有効性の確認

縦軸はアシルカルニチン (nmol/mL)、横軸はアシルカルニチンの炭素鎖長を示す。略字: MCAD = 中鎖アシル - CoA 脱水素酵素; VLCAD = 極長鎖アシル - CoA 脱水素酵素; CPT2 = カルニチンパルミトイルトランス

フェラーゼ- ; GA2 = グルタル酸血症 型。

2) 環境温度の影響

33 (低温下)、37、および41 (高温下)の環境下で細胞を培養して IVP assay を行った。その結果、図3に示すように、正常細胞(図3A)では、低温下(33)でC2の減少がみられた。アセチル-CoAの産生が低下された可能性がある。VLCAD欠損症(図3B)では、高温下では有意な変化がみられず、低温化で長鎖アシルカルニチン(C16)もC2も両方とも減少した。このことは酸化自体の代謝が抑制された可能性がある。mild GA2(図3C)では、低温下ではアシルカルニチンに変化がみられなかったが、高温下でC16、C14、C12の長鎖アシルカルニチンも、C2も増加した。長鎖酸化が障害の程度が高まり酵素欠損部位に基質の負荷が高まった可能性がある。同時に中鎖~短鎖の代謝が盛んになってアセチル-

ル-CoAの産生も高まった可能性がある。

CPT2欠損症(図3D)、TFP欠損症(図3E) severe GA2では、低温下で蓄積した長鎖アシルカルニチンが減少しC2は増加した。このことは長鎖酸化障害が緩和され、同時にアセチル-CoAの産生が高まったとみられ、全体に代謝が改善したと考えられる。高温下では、CPT2欠損症はC2も長鎖アシルカルニチンも変化がみられなかった。TFP欠損症では高温下で長鎖アシルカルニチンの蓄積が増加し、C2は減少した。このことはTFP欠損症では高温下では長鎖酸化の障害が増強すると推測される。Severe GA2では長鎖酸化が障害され、C2も同時に増加したということは中鎖酸化が改善してアセチル-CoAの産生も高まったものと思われる。

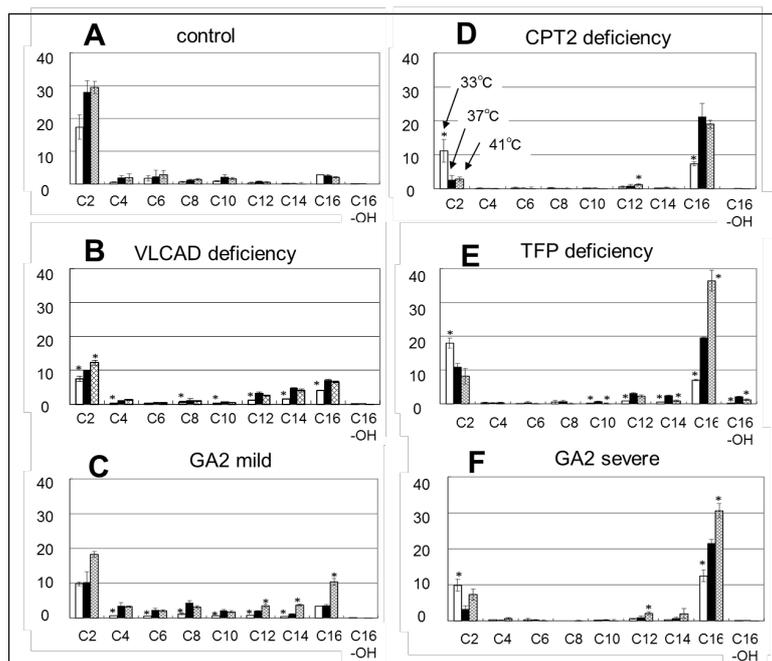


図3. 温度環境による酸化能への影響

略字: CPT2 = カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ- ; VLCAD = 極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素; TFP = ミトコンドリア三頭酵素; GA2 = グルタル酸血症 型。 = 33 ; = 37 ; = 41 。

3) サイトカインの影響

グルタル酸血症 型 の中間型症例の細胞であり、短鎖～長鎖のアシルカルニチンが広範囲に増加している細胞である。アシルカルニチンプロフィールに有意な差はみられな

かった。一方、TNF、および IL1 の存在下では、短鎖～長鎖まで広範囲にアシルカルニチンの増加がみられた。即ち酸化障害が増強したと推測された。

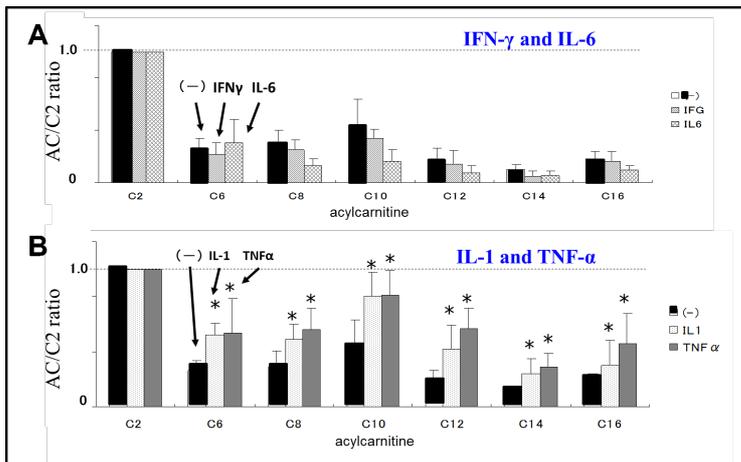


図4. サイトカインの酸化系におよぼす影響

グルタル酸血症 型患者の細胞を使用した。A = IFN と IL6 の存在下で酸化への影響がみられなかった；B = IL1 と TNF の存在下でいずれも中鎖から長鎖の酸化障害が増強された。*印は有意差がみられた。

4) 解熱剤による酸化への影響

解熱剤の存在下で正常細胞を用いて IVP assay を行った (図5)。サリチル酸の存在下では C6～C12 が有意に増加した。ジクロフェ

ナクの存在下では、C6 と C12 が有意に増加した。これに対し、アセトアミノフェン存在下では酸化能に有意な変化はみられなかった。

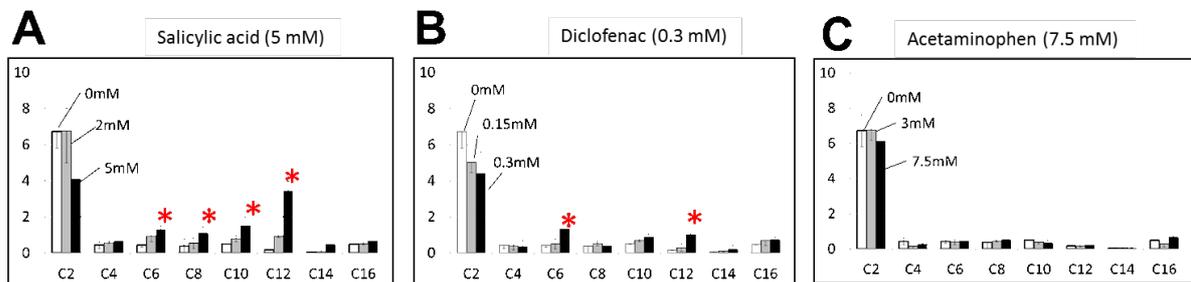


図5. 解熱剤の酸化への影響

*印は有意差があったものをさす。A = サリチル酸 (5 mM)；B = ジクロフェナク (0.3 mM)；アセトアミノフェン (7.5 mM)。 = 解熱剤なし； □ = 中等の濃度； = 高濃度 (中毒量)

5) ベザフィブラートの酸化障害改善効果

ベザフィブラート添加前には、VLCAD 欠損症 (A) では C16、C14、C12 の長鎖アシルカルニチンの増加がみられ、グルタル酸血症型 (B) では短鎖～長鎖 (C4～C16) のアシルカルニチンの増加がみられた。下段の BEZ 存在下では、両者ともにアシルカルニチンプロファイルが正常化している。

VLCAD 欠損症と GA2 の結果を図 6 に示す。BEZ 添加前の培地中のアシルカルニチンは、VLCAD 欠損症では C12、C14、C16 の増加がみられたのに対し、BEZ 添加後は正常化した (図 6A)。また GA2 では BEZ 添加前には短鎖～長

鎖 (C4～C16) のアシルカルニチンの増加が著明であるのに対し、BEZ 添加後にはほぼ正常化した (図 6B)。

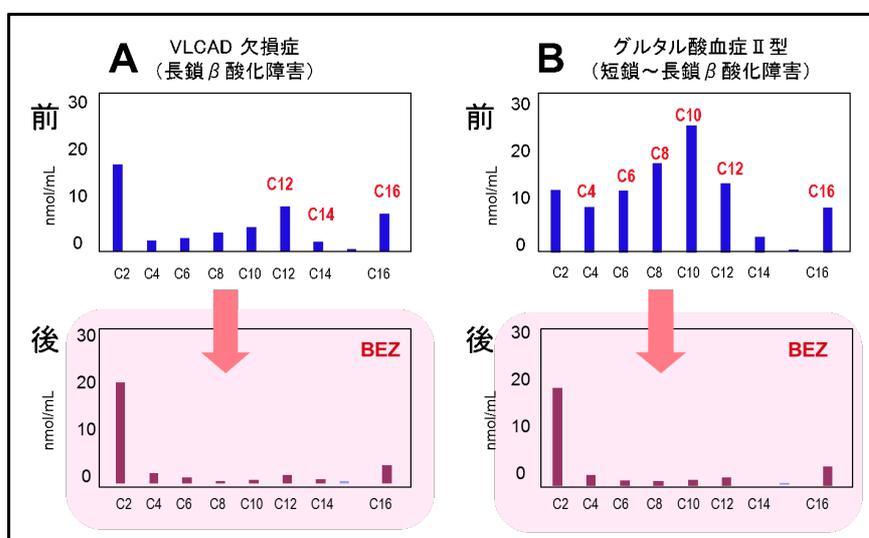


図 6 . VLCAD 欠損症と GA2 グルタル酸血症 型細胞に対するベザフィブラートの影響

A、VLCAD 欠損症；B、グルタル酸血症 型細胞。下段はベザフィブラート添加後のアシルカルニチンプロファイル。

6) 食中毒菌の毒素セレウリドの酸化への影響

図 7 に示すようにセレウリド (GER) の存在下では、濃度が 50 ng/mL も 100 ng/mL でも、C16 が著増し、反対に C2 は低下した。この所

見は長鎖脂肪酸の酸化が抑制されたために C16 が蓄積し、アセチル-CoA 産生低下のためにアセチルカルニチン (C2) の減少がみられたものと推定される。

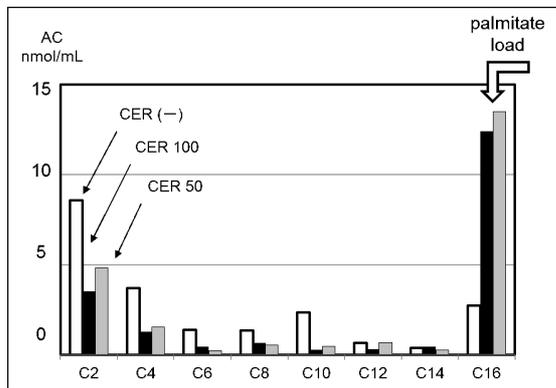


図7. セレウリド存在下の 酸化系への影響

CER = セレウリド、100 ng/mL および 50 ng/mL の濃度。 = セレウリドなし； = セレウリド 100 ng/mL； □ = セレウリド 50 ng/mL。

D. 考察

インフルエンザ脳症ではそれまで正常と変わらぬ生活をしていた小児が発熱を契機に電撃的に発症し、急性経過をとることが特徴である。先天代謝異常症のうち、酸化異常症の一部がこれに類似した発症形態をとることが知られている。そこで、インフルエンザ脳症、またはその他の小児の急性脳症の発症機序に、酸化障害が何らかの形で関与しているという仮説のもとに、酸化能を評価する IVP assay という手法で研究を行った。すなわち、酸化障害を引き起こす後天的な要因、および酸化障害を改善させる環境について探索した。

本研究から以下のような成果が得られた。

環境温度は酸化に影響を与えることが分かった。すなわち高温下では長鎖脂肪酸の酸化障害が増強する；高温下では全体として酸化そのものは促進される；低温下では長鎖酸化障害は緩和される；低温下では一部はアセチル-CoA 産生が改善するが、他方では長鎖も短鎖も酸化自体が抑制されることもある。

インフルエンザなどで増加するサイトカ

インの一部が酸化に抑制的に働くことが分かった。IF と IL6 では酸化に影響せず、一方 IL1 と TNF は酸化を抑制することが推測された。すなわちサイトカインの一部は酸化を抑制するものがあり、それが急性脳症への発展を促進する可能性がある。

解熱剤の一部は酸化を抑制して急性脳症への発展のリスクを高める。アスピリン（代謝産物のサリチル酸）とジクロフェナクは酸化抑制に作用し、アセトアミノフェンは酸化に影響を与えないことが観察された。急性脳症（またはライ症候群）と関係することが疫学的調査で警告されており、アセトアミノフェンは小児に安全に使用できるといわれている。本研究によって、これらの臨床疫学的な現象を、酸化能の評価する実験によって裏付けられた。

セレウス菌による急性食中毒で突然死した小児例が報告されている。セレウス菌の毒素セレウリドを添加した IVP assay を行ったところ、正常な細胞にもかかわらずセレウリド存在下では、CPT2 欠損症またはグルタル酸血症型の重症型のパターンに類似していた。すなわち細菌毒素が酸化に影響を与え、それが急性脳症を起こした可能性がある。

高脂血症治療薬のベザフィブラーが (BEZ) は、酸化酵素の遺伝子の上流にあるプロモーターであるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR) を刺激して 酸化酵素の遺伝子の転写を促進して、酵素量を増やすことによって 酸化障害を改善する可能性がある。今回の研究によって 酸化異常症の細胞の残存活性が回復することが示された。

本研究によって、インフルエンザ脳症や小児の後天的要因に基づく急性脳症が、発熱ストレスや使用される解熱剤、或いは細菌毒素による 酸化障害が関与している可能性を示された。また 酸化を改善させる薬剤によって、急性脳症の予防、重篤化予防に役立つ可能性がある。

E . 結論

インフルエンザ脳症など小児の急性脳症発症に、後天的要因による 酸化障害が何らかの関与をしている可能性がある。酸化に影響を与える因子として、発熱ストレス、サイトカイン、使用される解熱剤等の薬剤、細菌の毒素などがあげられる。また 酸化障害を緩和する因子としてベザフィブラートのような薬剤、或いは低温環境も考えられる。

F. 研究発表

1. 発表論文

- 1) Ihara K, Yoshino M, Hoshina T, Harada N, Kojima-Ishii K, Makimura M, Hasegawa Y, Watanabe Y, Yamaguchi S, Hara T: Coagulopathy in patients with late-onset ornithine transcarbamylase deficiency in remission state: A previously unrecognized complication. *Pediatrics* 131(1): e327-30, 2013 (January)
- 2) Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamada K, Takahashi T, Takayanagi M, Fukao T, Fukuda S, Yamaguchi S: Intracellular in vitro probe acylcarnitine assay for identifying deficiencies of carnitine transporter and carnitine palmitoyltransferase-1. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405(4): 1345-1351, 2013 (February)
- 3) Yamaguchi S, Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Mushimoto Y, Yamada K, Takahashi T, Furui M, Taketani T, Fukuda S, Fukao T, Shigematsu Y: Expanded newborn mass screening with MS/MS and medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency in Japan. *日本マススクリーニング学会誌* 23(3): 270-276, 2013
- 4) 山口清次: MS 解析による代謝障害の診断. *分子消化器病* 10(1): 72-78, 2013
- 5) 山口清次: 新生児スクリーニングの新時代 ; タンデムマス法の導入. *日本周産期・新生児医学会雑誌* 48(4): 827-829, 2013
- 6) 山田健治, 長谷川有紀, 吉川陽子, 高橋知男, 小林弘典, 虫本雄一, Jamiyan Purevsuren, 山口清次: 成人後に診断された有機酸・脂肪酸代謝異常症の臨床的検討. *臨床神経学* 53(3): 191-195, 2013
- 7) 山口清次: タンデムマスを用いた新生児マススクリーニングによる先天代謝異常症の早期診断. *小児科臨床* 66(2): 193-198, 2013
- 8) 山口清次: 小児科領域におけるタンデムマスと GC/MS の臨床応用: 最近の進歩. *臨床病理* 61(9): 817-824, 2013
- 9) 山口清次(編): *タンデムマス・ガイドブック、診断と治療社、東京、2013*
- 10) Naiki M, Ochi N, Kato YS, Purevsuren J, Yamada K, Kimura R, Fukushi D, Hara S, Yamada Y, Kumagai T, Yamaguchi S, Wakamatsu N: Mutations in HADHB, which encodes the β -subunit of mitochondrial trifunctional protein, cause infantile onset hypoparathyroidism and peripheral polyneuropathy. *American Journal of*

- Medical Genetics A 164(5): 1180-1187, 2014 (May)
- 11) Yasuno T, Osafune K, Sakurai H, Asaka I, Tanaka A, Yamaguchi S, Yamada K, Hitomi H, Arai S, Kurose Y, Higaki Y, Sudo M, Ando S, Nakashima H, Saito T, Kaneoka H: Functional analysis of iPSC-derived myocytes from a patient with carnitine palmitoyltransferase deficiency. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 448(2): 175-181, 2014 (May)
 - 12) Shioya A, Takuma H, Yamaguchi S, Ishii A, Hiroki M, Fukuda T, Sugiee H, Shigematsu Y, Tamaoka A: Amelioration of acylcarnitine profile using bezafibrate and riboflavin in a case of adult-onset glutaric acidemia type 2 with novel mutations of the electron transfer flavoprotein dehydrogenase (ETFDH) gene. *Journal of The Neurological Sciences* 346(1-2): 350-352, 2014 (November)
 - 13) Vatanavicharn N, Yamada K, Aoyama Y, Fukao T, Densupsoontorn N, Jirapinyoe P, Sathienkijkanchai A, Yamaguchi S, Wasant P: Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency: two neonatal cases with common splicing mutation and in vitro bezafibrate response. *Brain and Development*, inpress
 - 14) Sakai C, Yamaguchi S, Sasaki M, Miyamoto Y, Matsushima Y, Goto YI: ECHS1 mutations cause combined respiratory chain deficiency resulting in Leigh syndrome. *Human Mutation*, inpress
 - 15) Kobayashi T, Minami S, Mitani A, Tanizaki Y, Booka M, Okutani T, Yamaguchi S, Ino K: Acute fatty liver of pregnancy associated with fetal mitochondrial trifunctional protein deficiency. *J Obstet Gynaecol Res*, inpress (November)
 - 16) 山口清次, 長谷川有紀: 小児栄養性ビタミン欠乏症の有機酸分析による診断-ビタミンB1 欠乏症、ビタミンB12 欠乏症、ビオチン欠乏症. *小児科臨床* 67(5): 787-794, 2014 (5 月)
 - 17) 山口清次: タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングの社会的意義と課題. *公衆衛生情報* 44(3): 5-8, 2014 (6 月)
 - 18) 山口清次: ミトコンドリア脂肪酸 酸化異常症. 編: 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.29 神経症候群(第2版) -その他の神経疾患を含めて- - 先天代謝異常 -, 日本臨床社, 大阪, p627-631, 2014 (6 月)
 - 19) 山口清次: 有機酸代謝異常. 編: 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.29 神経症候群(第2版) -その他の神経疾患を含めて- - 先天代謝異常 -, 日本臨床社, 大阪, p622-626, 2014 (6 月)
 - 20) 山口清次: 有機酸・脂肪酸代謝異常症. 編: 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.31 神経症候群(第2版) -その他の神経疾患を含めて- - てんかん症候群 全般てんかんおよび症候群症候性 特異症候群 先天代謝異常 -, 日本臨床社, 大阪, p205-211, 2014 (12 月)
2. 学会発表
 - 1) Yamaguchi S: GC-MS for diagnosis of Organic Acidurias. International Conference on Inborn Errors of Metabolism 2013 講演. New Delhi, India, April 2013
 - 2) Yamaguchi S: Fatty acid oxidation defects. International Conference on Inborn Errors of Metabolism 2013 講演. New Delhi, India, April 2013
 - 3) Yamaguchi S, Purevsuren J, Hasegawa Y,

- Kobayashi H, Mushimoto Y, Yamada K, Takahashi T, Furui M, Fukao T, Shigematsu Y, Fukuda S: Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency and newborn screening in Japan. 2013 Joint Meeting of the Newborn Screening and Genetic Testing Symposium (NBS>S) and the International Society for Neonatal Screening (ISNS). Atlanta, USA, May 2013
- 4) Yamaguchi S: Diagnosis and treatment of mitochondrial fatty acid oxidation defects. The Second Forum of International Translational Medicine of Clinical Genetics in Beijing - Development and Application of Genetic Technology 講演. Beijing, China, August 2013
 - 5) Yamada K, Kobayashi H, Takahashi T, Hasegawa Y, Purevsuren J, Fukuda S, Ito M, Yamaguchi S: Responsiveness of bezafibrate for neonatal onset form of glutaric acidemia type 1: comparison with milder form using in vitro probe assay. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, September 2013
 - 6) Yamaguchi S, Yamada K, Kobayashi H, Takahashi T, Hasegawa Y, Purevsuren J, Ohkubo T, Watanabe M, Tsunemi T, Ishii A, Takuma H, Tamaoka A, Shigematsu Y, Fukuda S: Two Japanese cases of adult onset myopathic form of glutaric acidemia type 1. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, September 2013
 - 7) Yamaguchi S: A new treatment option for mitochondrial fatty acid oxidation defects: Bezafibrate, a PPAR agonist. 12th Asian Oceanian Congress on Child Neurology. Riyadh, Saudi Arabia, September 2013
 - 8) Yamaguchi S: Beriberi (Vitamin B1 deficiency) of young children lurking in modern life: A new approach for biochemical detection. 2013 Joint Meeting of 13th Asian Pan-Pacific Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition and 40th Japanese Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition シンポジウム. 東京, October 2013
 - 9) Yamaguchi S: Screening, diagnosis, and treatment of organic and fatty acid disorders. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD) Educational lecture. Chiba, November 2013
 - 10) 高橋知男, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: SIDS, ALTE 様症状で発症し先天代謝異常症と判明した 10 例の検討. 第 40 回日本マス・スクリーニング学会. 大阪, 2013 年 8 月
 - 11) 高橋知男, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: サリチル酸の酸化に及ぼす影響: in vitro probe assay による評価. 第 38 回日本医用マススペクトル学会年会. 神戸, 2013 年 9 月
 - 12) Yamaguchi S: Organic Acidaemias and emergency treatments. 1st Asia Pacific Inborn Errors of Metabolism Course 講演. Tokyo, January 2014
 - 13) Yamaguchi S: Pediatric emergency and inborn metabolic disease. Seminar: Updates on Inborn Errors of Metabolism セミナー. Kubang Kerian Kelantan, Malaysia, April 2014
 - 14) Yamaguchi S: Current topics in mass screening and collaboration studies with Asian countries. Seminar: Updates on Inborn Errors of Metabolism セミナー. Kubang Kerian Kelantan, Malaysia, April 2014
 - 15) Yamaguchi S, Liu L, Furui M, Yamada K, Taketani T, Shibata N, Kobayashi H, Hasegawa Y, Fukuda S: Improvement of fatty acid oxidation capacity of cells from fatty acid oxidation defects at low

temperature: evaluation by in vitro probe assay. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. Innsbruck, Austria, September 2014

- 16) Vatanavicharn N, Taketani T, Nabangchang C, Yamaguchi S: Isolated sulfite oxidase deficiency: A rare metabolic disorder with neuroimaging mimicking perinatal asphyxia. 第56回日本先天代謝異常学会. 仙台, 11 2014
- 17) 長谷川有紀, 古居みどり, 小林弘典, 山田健治, 高橋知男, 竹谷 健, 山口清次: ミトコンドリア三頭酵素 (TFP) 欠損症の出生前診断5症例の経験. 第11回中国四国出生前医学研究会. 岡山, 2014年2月
- 18) 長谷川有紀, 小林弘典, 山田健治, 高橋知男, 新井真理, 室谷浩二, 山口清次: 尿中有機酸分析によりトルエン中毒が疑われた5ヵ月男児例: 虐待の疑いのあるALTE症例. 第20回日本SIDS・乳幼児突然死予防学会. さいたま市, 2014年3月
- 19) 坊 亮輔, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: 管理に難渋しているCPT-2欠損症の4ヵ月女児例. 第93回山陰小児科学会. 米子, 2014年9月
- 20) 高橋知男, 坊亮輔, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: 解熱剤の脂肪酸酸化に対する影響: サリチル酸、ジクロフェナクナトリウム、アセトアミノフェンの評価. 第56回日本先天代謝異常学会. 仙台, 2014年11月
- 21) 山田憲一郎, 内木美紗子, 星野伸, 北浦靖之, 近藤雄介, 下澤伸行, 山口清次, 下村吉治, 三浦清邦, 若松延昭: HIBCH欠損症の同定と変異タンパク質の生化学的

解析. 第56回日本先天代謝異常学会. 仙台, 2014年11月

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

