

高乳酸血症・ミトコンドリア異常症に関する研究および重症度分類に関する調査研究 分担研究者 大竹 明 埼玉医科大学小児科 教授

研究要旨

高乳酸血症を来す症例に遭遇した場合は、まず心不全他の二次的高乳酸血症症例を除外し、次いで以下に示す先天性高乳酸血症 (Congenital Lactic Acidosis: CLA) を来す症例の鑑別を行う。鑑別の対象疾患は、有機酸代謝異常症、尿素サイクル異常症、脂肪酸代謝異常症、グリコーゲン代謝異常症、糖新生系酵素異常症、ピルビン酸関連酵素異常症、TCA サイクル酵素異常症、およびミトコンドリア呼吸鎖複合体 (MRC) 異常症等である。

個別疾患の診療ガイドラインのうち、本年度は直接の乳酸代謝に関係するピルビン酸関連酵素異常症 [ピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDHC) 欠損症、ピルビン酸カルボキシラーゼ (PC) 欠損症、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) 欠損症]、TCA サイクル酵素異常症の作成を手がけ、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) 欠損症のガイドラインの学会承認を得た。

さらに、ミトコンドリア病データベースを、後藤班、村山班と連携して、JaSMIn (先天代謝異常症患者登録システム) と共有し、ミトコンドリア病に特化した MO Bank (Mitochondrial disease research Organization data Bank / 新生児・小児ミトコンドリア病臨床情報バンク) の登録を進めた。

研究協力者

山崎 太郎 (埼玉医科大学小児科)

原嶋 宏子 (埼玉医科大学小児科)

A. 研究目的

タンデムマスを用いた新しい新生児代謝スクリーニングが全国に拡大し、対象各疾患に対する新しい診断基準の作成が急務となっている。有機酸代謝異常症とタイアップした先天性高乳酸血症もその一つであり、文献検索と自らの症例データを基に、本年度はその診療ガイドラインの作成と成人期の対策について研究した。さらに、ミトコンドリア病に特化した MO Bank (Mitochondrial disease research Organization data Bank / 新生児・小児ミトコンドリア病臨床情報バンク) の登録を進めた。

B. 研究方法

基本的に文献検索研究である。関連論文をエビデン

スレベルに基づいて分類し内容を要約し、診療ガイドラインの素案を作成した。

これとは別に先天性高乳酸血症の最大の原因であるミトコンドリア呼吸鎖 (MRC) 異常症については、全国から集まった患者検体を以下の方法で分析した。

1) Blue Native 電気泳動を用いた Western Blot と *in gel* enzyme stain、および *in vitro* 酵素アッセイを用いた呼吸鎖酵素複合体蛋白レベルの解析。2) フラックスアナライザーを用いた細胞レベルでの酸素消費量の解析。3) 次世代シーケンサーを用いたミトコンドリア DNA 全周塩基配列と既報核病遺伝子 135 個のパネル解析。4) 以上で病因が判明しない症例に対する次世代シーケンス法を用いた全エキソーム解析。

(倫理面への配慮)

本研究の患者解析の部分は申請番号 482 (現在更新されて 482-XI) で埼玉医科大学倫理委員会における審査を受け承認を得て行った。遺伝子解析研究につい

ではヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号）および、医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン（日本医学会 2011 年 2 月）に基づいて行い、さらにこれとは別に各研究機関の倫理審査委員会において承認を得て行った。

C. 研究結果

1. 先天性高乳酸血症症候群の診療ガイドライン作成とその成人期対策について

高乳酸血症を来す症例に遭遇した場合は、まず心不全他の二次的高乳酸血症症例を除外し、次いで以下に示す先天性高乳酸血症 (Congenital Lactic Acidosis: CLA) を来す症例の鑑別を行う。鑑別の対象疾患は、有機酸代謝異常症、尿素サイクル異常症、脂肪酸代謝異常症、グリコーゲン代謝異常症、糖新生系酵素異常症、ピルビン酸関連酵素異常症、TCA サイクル酵素異常症、および MRC 異常症である。

本研究では、直接の乳酸代謝に関係するピルビン酸関連酵素異常症 [ピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDHC) 欠損症、ピルビン酸カルボキシラーゼ (PC) 欠損症、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) 欠損症]、TCA サイクル酵素異常症、および MRC 異常症を対象とするが、MRC 異常症の詳細はミトコンドリア病の診断基準（後藤班）を参照のこと。

本研究ではホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) 欠損症のみ診療ガイドラインを完成し、学会承認を得た。それ以外の疾病については診療ガイドラインは未完成であり、ここには各疾病の疾患概要のみ記す。

1) ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) 欠損症

PEPCK はオキサロ酢酸をホスホエノールピルビン酸へ変換する酵素であり、ミトコンドリア PEPCK (PEPCK2) と細胞質 PEPCK (PEPCK1) の 2 つのアイソザイムが存在する。PEPCK2 は 14q11.2 に局在し主に乳酸からの糖新生を、PEPCK1 は 20q13.31 に局在し主にアミノ酸からの糖新生を司る。どちらも糖新生系の重要な酵素であり、その欠損症では、新生児期または乳児期早期に、成長障害、筋緊張低下、発達障害、けいれん、傾眠、肝腫大などで発症する。低血糖、代謝

性アシドーシス、高乳酸血症 (L/P 比正常) を呈し、肝障害、尿酸管性アシドーシス、心筋症などの多臓器障害が進行し 2 才までに死亡する例が多い。

酵素活性測定と遺伝子解析で診断できるが、今までに遺伝子異常の報告例はない。治療は低血糖、代謝性アシドーシスへの対症療法が中心であるが、有効な根本療法はなく、成人期への移行症例の報告はない。

2) ピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDHC) 欠損症

PDHC はミトコンドリア内に存在し、嫌気性解糖系でブドウ糖から産生されたピルビン酸をアセチル-CoA に変換して TCA 回路に送り込む大切な酵素である。原因遺伝子として複合体の構成成分である、*E1* (PDHA1), *E1* (PDHB), *E2*(DLAT), *E3*(DLD), *PDP1-2*, *PDK1-4*, *PDHX*, (*LIAS*) の 8 種類が報告されており、世界で 400 例余りの報告がある。このうち最も多いのは X 連鎖遺伝形式を呈する *E1* 遺伝子異常症で、PDHC 欠損症全体の 6 割近くを占める。

臨床症状を形作るのはエネルギー産生不足と乳酸アシドーシスで、症状の重篤度により 3 病型に分類される。(1)重症新生児型：新生児期から乳児早期に、多呼吸、けいれん、意識障害、嘔吐、脳室拡大などの症状と重症高乳酸血症で発病し、いわゆる乳児致死型ミトコンドリア病 (LIMD) の主たる病因の 1 つである。女兒に多い。(2)乳幼児型：精神運動発達遅滞、けいれん、筋緊張低下、中枢神経奇形、顔貌異常などの症状と高乳酸血症で乳幼児期に発病する。画像上 Leigh 脳症を呈する患者も多い。(3)遅発型：軽い筋緊張低下、失調と高乳酸血症で幼児期から学童期に発病する。男児に多い。

診断にはまず乳酸 (L) /ピルビン酸 (P) 比が 10 前後と正常な高乳酸血症の存在を確認することが重要で、軽症型では糖負荷テストも有効である。確定診断には皮膚線維芽細胞を用いた酵素活性測定と遺伝子解析が必要となる。

治療は急性期と慢性期に大別される。急性期の主対策は乳酸アシドーシスの是正で、糖質負荷は厳禁であり、乳酸を含まない輸液、アルカリ剤、呼吸・循環管理を行い、時には透析も必要となる。慢性期は乳酸の蓄積防止とエネルギー産生不足の解消であり、糖質は制限し PDHC を介さずにエネルギーを産生できる高ケトン食、高脂肪食が有効である。ビタミン B1 の大量

投与に反応する症例も軽症例には存在する。基本的に予後不良な疾患であるが、B1 反応例には予後良好で成人期に移行するものも存在する。

3) ピルビン酸カルボキシラーゼ (PC) 欠損症

PC はミトコンドリア内に存在する糖新生系の律速酵素であり、ピルビン酸からオキザロ酢酸を生成する。原因遺伝子は 11q13 に局在する常染色体劣性遺伝病である。

臨床症状を形作るのは、低血糖と、オキザロ酢酸の低値をもたらす TCA 回路の作動不全によるエネルギー不足である。重症例ではオキザロ酢酸由来のアスパラギン酸の不足による尿素サイクル作動不全による高アンモニア血症も問題になる。症状の重篤度により Robinson は 3 病型に分類している。Group A: 乳児型は、主に生後 5 か月以内に発症し、低血糖、高乳酸血症、精神運動発達遅滞、腎尿細管性アシドーシスが高頻度に認められる。Group B: 重症新生児型は、新生児期発症で多くは 3 か月以内に死亡し、低血糖、高アンモニア血症、高シトルリン血症、高リジン血症を伴い、いわゆる乳児致死型ミトコンドリア病 (LIMD) の病因の 1 つである。Group C: 軽症型は生化学上は Group A に似るが精神発達遅滞のほとんど認められない良性型である。

診断にはまず L/P 比が 20 以上と高値の高乳酸血症にもかかわらず 3-ヒドロキシ酪酸/アセト酢酸比は正常ないし低値を取ることが重要で、確定診断には皮膚線維芽細胞を用いた酵素活性測定と遺伝子解析が必要となる。

治療は急性期と慢性期に大別される。急性期の主対策は低血糖と乳酸アシドーシスの是正で、糖質負荷は行っても一次的とすべきであり、乳酸を含まない輸液、アルカリ剤、呼吸・循環管理を行い、時には透析も必要となる。慢性期は乳酸の蓄積防止とエネルギー産生不足の解消であり、糖質は制限しビタミン B1、ピオチン、クエン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸などが試みられている。Group C 以外は基本的に予後不良な疾患であるが、Group C では成人期移行例も認められる。

4) TCA サイクル酵素異常症

・フマラーゼ欠損症

フマラーゼ欠損症は、フマル酸をリンゴ酸に変換す

る TCA 回路の主要構成酵素であるフマラーゼの遺伝的欠損に基づく先天代謝異常症である。まれな病気で、報告例は世界で 50 例前後のみである。フマラーゼは細胞質とミトコンドリアに 2 つの酵素が存在するが、遺伝子は 1q42.1 に存在する 1 つのみで 2 つの酵素は N 末端の数個のアミノ酸が異なるだけであり、報告された患者は全て 2 つの酵素の活性が共に欠損している。症状は、(時に胎生期からの)脳奇形、精神運動発達遅滞、筋緊張低下、顔面奇形、けいれん、発育障害、哺乳障害などの脳神経・筋症状が中心である。血球減少、消化管奇形、肝腫大、視覚障害などの合併は報告があるが、心筋症や心伝導障害の報告はない。高乳酸血症や高アンモニア血症などによる代謝性クライシスは希である。中枢神経症状と尿有機酸分析でのフマル酸著明増加(正常対照の 15~1,000 倍)が特徴である。

症状と尿中フマル酸増加から本症を疑い、酵素診断と遺伝子診断で確定する。酵素診断対象組織としては、皮膚線維芽細胞、リンパ芽球様細胞、リンパ球、筋肉、肝臓が用いられている。

治療は対症療法のみであり多くが生後数年以内に死亡するか、生存しても重度の精神運動発達遅滞を残す非常に予後不良な疾患である。低タンパク療法が試みられたが有効ではなかった。

・スクシニル-CoA リガーゼ (SUCL) 欠損症

SUCL 欠損症は、TCA サイクルの一因でもある SUCL の活性欠損によりミトコンドリア呼吸鎖異常とメチルマロン酸の尿中への少量排泄を伴う常染色体劣性遺伝性疾患であり、古くはメチルマロン酸尿を伴う Leigh 脳症と呼ばれていた。SUCL は TCA サイクルでは -ケトグルタル酸に、それ以外は主にメチルマロニル-CoA に由来するスクシニル-CoA をコハク酸に転換する酵素で、GDP/GTP 系 (G-SUCL) と ADP/ATP 系 (A-SUCL) の 2 つのタイプが存在する。共に サブユニットとサブユニットから成るが、サブユニットは 2 つのタイプの酵素で共通の *SUCLG1* がコードし、サブユニットはそれぞれ *SUCLG2* と *SUCLA2* がコードする。現在までに *SUCLG1* 異常症 (ミトコンドリア DNA 枯渇症候群 (MTDPS) 9) と *SUCLA2* 異常症 (MTDPS 5) とが報告されている。典型例では生後数日から著名な乳酸アシドーシスを来し、致死型乳児ミトコンドリア病

(LIMD)と言われる経過を取る。G-SUCL、A-SUCLの活性が共に低下する *SUCLG1* 異常症の方がより重症で、画像上の基底核病変(いわゆる Leigh 様症候群) 脂肪肝から肝不全も合併し、多くは乳児期早期までに死亡する。これに対し A-SUCL のみ低下する *SUCLA2* 異常症は、時には LIMD としての重症病型をとる者もあるが、乳児期に運動発達遅滞、筋緊張低下、ジストニア、難聴などの神経症状で発症し、画像上の基底核病変も顕著な者が多く、メチルマロン酸排泄を除けば Leigh 脳症と鑑別できない。感染などを契機とし死亡する例も多いが成人期まで生存例の報告もある。*SUCLG1* 異常症と異なり肝障害はないが、これは A-SUCL が肝臓での発現が低いことで説明できる。

神経症状を伴い高乳酸血症で発症する例が多く、他のミトコンドリア呼吸鎖異常症との鑑別が必要となる。LIMD として嵐の様な経過で亡くなった場合でも、できるだけ多くの臓器、組織を診断のために生で凍結保存することを忘れてはならない。尿 GC/MS では、メチルマロン酸、メチルクエン酸、3-ヒドロキシプロピオン酸の排泄がありメチルマロン酸尿を来す各疾患との鑑別が必要になるが、その排泄量は極めて微量であり、患児では TCA サイクル中間代謝産物も一緒に検出される。血中に蓄積する C3、C4DC カルニチンもタンデムマス分析で検出できる。組織・臓器を用いてミトコンドリア呼吸鎖酵素活性を測定し複合型の酵素活性低下を認めたら、ミトコンドリア DNA の定量を行う。確定診断のためには SUCL 酵素活性、もしくは遺伝子解析が必要である。

有効な治療法はない。急性期にはミトコンドリアレスキュー療法を考慮し、慢性期には有効とされる各種治療薬を一つ一つ慎重に試すことが必要になる。

2. MRC 異常症の包括的診断システムの構築

1) 酵素診断

現在までのところ、461 家系 482 例を MRCD と診断した。臨床診断では Leigh 脳症が最も多く 104 例、次いで乳児ミトコンドリア病、脳筋症、肝症、心筋症、神経変性疾患と続き、突然死が 68 例、腸症、その他と極めて多岐にわたっていた。

2) ミトコンドリア遺伝子解析

210 例について解析を行い、既知・未知を合わせて

病因と考えられる遺伝子変異を 59 例(28%)に同定した。つまり 7 割の MRCD は核遺伝子異常と考えられた。

3) 核遺伝子解析

142 例についてエキソーム解析が終了し、まず 25 例で既知の原因遺伝子における新規変異を同定した。これらの中には、いずれも日本人初例となる、*BOLA3*、*ACAD9*、*EFTu* 異常患者等が含まれる。次いで 6 例で新規遺伝子を病因として同定した(*MRPS23*、*QRSL1*、*PNPLA4*、*SLC25A26*、*COQ4*、*GTPBP3*)。

4) 新薬の開発

5-アミノレブリン酸(5-ALA)は一部の患者細胞の ATP 合成能を回復し、その機序は主に呼吸鎖 III と IV の活性回復であった。現在 Leigh 脳症患者を対象に医師主導として治験を進行中である。

5) ミトコンドリア病データベース

さらに、ミトコンドリア病データベースを、後藤班、村山班と連携して、JaSMIn(先天代謝異常症患者登録システム)と共有し、ミトコンドリア病に特化した MO Bank (Mitochondrial disease research Organization data Bank / 新生児・小児ミトコンドリア病臨床情報バンク)の登録を進めている。

D. 考察

いずれの症例も重篤で調べ得た限り成人期移行例は少ない。しかも移行した者も身体的・精神的にハンディを背負う患者ばかりであり、医療の進歩で今後は長期生存例も増加するものと考えられる。今後も文献検索と実際の例数を重ね、より臨床に添うように順次改訂してゆきたい。

E. 結論

先天性高乳酸血症症候群(Congenital Lactic Acidosis: CLA)の診療ガイドラインを作成し、成人期への移行対策を検討した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kondo H, Tanda K, Tabata C, Hayashi K, Kihara M, Kizaki Z, Taniguchi-Ikeda M, Mori M, Murayama K, Ohtake A: Leigh syndrome with Fukuyama congenital muscular dystrophy: A case report. *Brain Dev* 36(8):

730-3, 2014. doi: 10.1016/j.braindev.2013.09.005. Epub 2013 Oct 7.

2) Yamazaki T, Murayama K, Compton AG, Sugiana C, Harashima H, Amemiya S, Ajima M, Tsuruoka T, Fujinami A, Kawachi E, Kurashige Y, Matsushita K, Wakiguchi H, Mori M, Iwasa H, Okazaki Y, Thorburn DR, Ohtake A: Molecular diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan: Focusing on mitochondrial DNA depletion syndrome. *Pediatr Int* 56(2):180-187, 2014. doi: 10.1111/ped.12249. Epub 2014 Mar 6.

3) Ohtake A, Murayama K, Mori M, Harashima H, Yamazaki T, Tamaru S, Yamashita Y, Kishita Y, Nakachi Y, Kohda M, Tokuzawa Y, Mizuno Y, Moriyama Y, Kato H, Okazaki Y: Diagnosis and molecular basis of mitochondrial respiratory chain disorders: exome sequencing for disease gene identification. *Biochim Biophys Acta* 1840(4):1355-1359, 2014. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.01.025. Epub 2014 Jan 24.

4) Nagasaka H, Tsukahara H, Okano Y, Hirano K, Sakurai T, Hui S-P, Ohura T, Usui H, Yorifuji T, Hirayama S, Ohtake A, Miida T: Changes of lipoproteins in phenylalanine hydroxylase-deficient children during the first year of life. *Clin Chim Acta* 433:1-4, 2014. doi: 10.1016/j.cca.2014.02.020. Epub 2014 Mar 5.

5) Saitsu H, Tohyama J, Walsh T, Kato M, Kobayashi Y, Lee M, Tsurusaki Y, Miyake N, Goto Y, Nishino I, Ohtake A, King M-C, Matsumoto N: A girl with West syndrome and autistic features harboring a de novo TBL1XR1 mutation. *J Hum Genet* 59(10):581-3, 2014. doi: 10.1038/jhg.2014.71. Epub 2014 Aug 7.

6) Fukao T, Akiba K, Goto M, Kuwayama N, Morita M, Hori T, Aoyama Y, Venkatesan R, Wierenga R, Moriyama Y, Hashimoto T, Usuda N, Murayama K, Ohtake A, Hasegawa Y, Shigematsu Y, Hasegawa Y: The first case in Asia of 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase deficiency (HSD10 disease) with atypical presentation. *J Hum Genet* 59(11): 609-14, 2014. doi: 10.1038/jhg.2014.79. Epub 2014 Sep 18.

7) Uehara N, Mori M, Tokuzawa Y, Mizuno Y, Tamaru S, Kohda M, Moriyama Y, Nakachi Y, Matoba N, Sakai T, Yamazaki T, Harashima H, Murayama K, Hattori K, Hayashi J, Yamagata T, Fujita Y, Ito M, Tanaka M, Nibu K, Ohtake A, Okazaki Y: New MT-ND6 and NDUFA1 mutations in mitochondrial respiratory chain disorders. *Ann Clin Transl Neurol* 1(5):361-9, 2014. doi: 10.1002/acn3.59. Epub 2014 Apr 28. PMID: 25356405 [PubMed]

8) Izumi Y, Musha I, Suzuki E, Iso M, Jinno T, Horikawa R, Amemiya S, Ogata T, Fukami M, Ohtake A: Hypogonadotropic Hypogonadism in a Female Patient Previously Diagnosed as Having

Waardenburg Syndrome Due to a SOX10 Mutation. *Endocrine*. 2014 Oct 2. [Epub ahead of print]

9) Kopajtich R, Nicholls TJ, Rorbach J, Metodiev MD, Freisinger P, Mandel H, Vanlander A, Ghezzi D, Carozzo R, Taylor RW, Marquard K, Murayama K, Wieland T, Schwarzmayr T, Mayr JA, Pearce SF, Powell CA, Saada A, Ohtake A, Invernizzi F, Lamantea E, Sommerville EW, Pyle A, Chinnery PF, Crushell E, Okazaki Y, Kohda M, Kishita Y, Tokuzawa Y, Assouline Z, Rio M, Feillet F, de Camaret BM, Chretien D, Munnich A, Menten B, Sante T, Smet J, Régál L, Lorber A, Houry A, Zeviani M, Strom TM, Meitinger T, Bertini ES, Van Coster R, Klopstock T, Rötig A, Haack TB, Minczuk M, Prokisch H: Mutations in GTPBP3 cause a mitochondrial translation defect associated with hypertrophic cardiomyopathy, lactic acidosis and encephalopathy. *Am J Hum Genet* 95(6):708-20, 2014. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.10.017. Epub 2014 Nov 26.

10) Montassir H, Maegaki Y, Murayama K, Yamazaki T, Kohda M, Ohtake A, Iwasa H, Yatsuka Y, Okazaki Y, Sugiura C, Nagata I, Toyoshima M, Saito Y, Itoh M, Nishino I, Ohno K: Myocerebrohepatopathy spectrum disorder due to POLG mutations: A clinicopathological report. *Brain Dev*. 2014 Nov 18. pii: S0387-7604(14)00261-7. doi: 10.1016/j.braindev.2014.10.013. [Epub ahead of print]

11) Akatsuka J, Mochizuki M, Musha I, Ohtake A, Kobayashi K, Kikuchi T, Kikuchi N, Kawamura T, Urakami T, Sugihara S, Hoshino T, Amemiya S: The Japanese Study Group of Insulin Therapy for Childhood and Adolescent Diabetes: The ratio of glycated albumin to hemoglobin A1c measured in IFCC units accurately represents the glycation gap. *Endocr J* 62(2): 161-172, 2015. 2014 Nov 2. [Epub ahead of print]

12) Nozaki F, Kumada T, Kusunoki T, Fujii T, Murayama K, Ohtake A: Fever of Unknown Origin as the Initial Manifestation of Valproate-Induced Fanconi Syndrome. *Pediatr Neurol* 51(6): 846-849, 2014. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2014.09.007. Epub 2014 Sep 21.

13) Brea-Calvo G, Tobias B Haack, Karall D, Ohtake A, Invernizzi F, Carozzo R, Kremer L, Dusi S, Fauth C, Scholl-Bürgi S, Graf E, Ahting U, Resta N, Laforgia N, Verrigni D, Okazaki Y, Kohda M, Martinelli D, Freisinger P, Strom TM, Meitinger T, Lamperti C, Lacson A, Navas P, Mayr JA, Bertini E, Murayama K, Zeviani M, Prokisch H, Ghezzi D: COQ4 mutations cause a broad spectrum of mitochondrial disorders associated with CoQ10 deficiency. *Am J Hum Genet* 96: 309-317, 2015. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.12.023. Epub 2014 Dec.

14) Shimbo H, Takagi, M, Okuda M, Tsuyusaki Y, Takano K, Iai M, Yamashita S, Murayama K, Ohtake

- A, Goto Y, Aida N, Osaka H: A rapid screening with direct sequencing from blood samples for the diagnosis of Leigh syndrome. *Mol Genet Metab* in press, 2015.
- 15) Haack T, Jackson C, Murayama K, Kremer L, Schaller A, Kotzaeridou U, de Vries M, Schottmann G, Santra S, Büchner B, Wieland T, Graf E, Freisinger P, Eggimann S, Ohtake A, Okazaki Y, Kohda M, Kishita Y, Tokuzawa Y, Sauer S, Memari Y, Kolb-Kokocinski A, Durbin R, Hasselmann O, Cremer K, Albrecht B, Wiczorek D, Engels H, Hahn D, Zink A, Alston C, Taylor R, Rodenburg R, Trollmann R, Sperl W, Strom T, Hoffmann G, Mayr J, Meitinger T, Bolognini R, Schuelke M, Nuoffer J-M, Kölker S, Prokisch H, Klopstock T: Deficiency of multifunctional ECHS1 causes mitochondrial encephalomyopathy. *Ann Clin Transl Neurol*, in press, 2015.
- 16) Abe Y, Terashima H, Hoshino H, Sassa K, Sakai T, Ohtake A, Kubota M, Yamanouchi H: Characteristic MRI features of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Brain Dev.* 2015 Feb 13. pii: S0387-7604(15)00022-4. doi: 10.1016/j.braindev.2015.01.006. [Epub ahead of print]
- 17) Kishita Y, Pajak A, Bolar NA, Marobbio CM, Maffezzini C, Miniero DV, Monné M, Kohda M, Stranneheim H, Murayama K, Naess K, Lesko N, Bruhn H, Mourier A, Wibom R, Nennesmo I, Jespers A, Govaert P, Ohtake A, Van Laer L, Loeys BL, Freyer C, Palmieri F, Wredenberg A, Okazaki Y, Wedell A: Intra-mitochondrial Methylation Deficiency Due to Mutations in SLC25A26. *Am J Hum Genet* 97(5):761-768, 2015.
- 18) Kohda M, Tokuzawa Y, Kishita Y, Nyuzuki H, Moriyama Y, Mizuno Y, Hirata T, Yatsuka Y, Yamashita-Sugahara Y, Nakachi Y, Kato H, Okuda A, Tamaru S, Borna NN, Banshoya K, Aigaki T, Sato-Miyata Y, Ohnuma K, Suzuki T, Nagao A, Maehata H, Matsuda F, Higasa K, Nagasaki M, Yasuda J, Yamamoto M, Fushimi T, Shimura M, Kaiho-Ichimoto K, Harashima H, Yamazaki T, Mori M, Murayama K, Ohtake A, Okazaki Y: Comprehensive Genomic Analysis Reveals the Genetic Landscape of Mitochondrial Respiratory Chain Complex Deficiencies. *PLoS Genet* 12(1): e1005679, 2016.
- 19) Ogawa E, Shimura M, Fushimi T, Tajika M, Ichimoto K, Matsunaga A, Tsuruoka T, Ishige M, Fuchigami T, Yamazaki T, Mori M, Kohda M, Kishita Y, Okazaki Y, Takahashi S, Ohtake A, Murayama K. Clinical validity of biochemical and molecular analysis in diagnosing Leigh syndrome: a study of 106 Japanese patients. *J Inherit Metab Dis.* 2017 Apr 20. doi: 10.1007/s10545-017-0042-6. [Epub ahead of print]
- 20) Borna NN, Kishita Y, Ishikawa K, Nakada K, Hayashi JI, Tokuzawa Y, Kohda M, Nyuzuki H, Yamashita-Sugahara Y, Nasu T, Takeda A, Murayama K, Ohtake A, Okazaki Y. A novel mutation in TAZ causes mitochondrial respiratory chain disorder without cardiomyopathy. *J Hum Genet.* 2017 Apr;62(5):539-547. doi: 10.1038/jhg.2016.165. Epub 2017 Jan 26.
- 21) Zaha K, Matsumoto H, Itoh M, Saito H, Kato K, Kato M, Ogata S, Murayama K, Kishita Y, Mizuno Y, Kohda M, Nishino I, Ohtake A, Okazaki Y, Matsumoto N, Nonoyama S. DNM1L-related encephalopathy in infancy with Leigh syndrome-like phenotype and suppression-burst. *Clin Genet.* 2016 Nov;90(5):472-474. doi: 10.1111/cge.12805. Epub 2016 Jun 14.
- 22) Kopajtich R, Murayama K, Janecke AR, Haack TB, Breuer M, Knisely AS, Harting I, Ohashi T, Okazaki Y, Watanabe D, Tokuzawa Y, Kotzaeridou U, Kölker S, Sauer S, Carl M, Straub S, Entenmann A, Gizewski E, Feichtinger RG, Mayr JA, Lackner K, Strom TM, Meitinger T, Müller T, Ohtake A, Hoffmann GF, Prokisch H, Staufner C. Biallelic IARS Mutations Cause Growth Retardation with Prenatal Onset, Intellectual Disability, Muscular Hypotonia, and Infantile Hepatopathy. *Am J Hum Genet.* 2016 Aug 4;99(2):414-22. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.05.027. Epub 2016 Jul 14.
- 23) Imai A, Kishita Y, Nakayama Y, Fujita S, Futatani T, Kohda M, Yatsuka Y, Nakaya A, Sakata Y, Murayama K, Ohtake A, Okazaki Y. Dried blood spots for newborn screening allows easy determination of a high heteroplasmy rate in severe infantile cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2016 Oct 15;221:446-9. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.06.287. Epub 2016 Jun 29.
- 24) Imai A, Kohda M, Nakaya A, Sakata Y, Murayama K, Ohtake A, Lathrop M, Okazaki Y, Ott J. HDR: a statistical two-step approach successfully identifies disease genes in autosomal recessive families. *J Hum Genet.* 2016 Nov;61(11):959-963. doi: 10.1038/jhg.2016.85. Epub 2016 Jun 30.
- 25) Hashimura Y, Morioka I, Hisamatsu C, Yokoyama N, Taniguchi-Ikeda M, Yokozaki H, Murayama K, Ohtake A, Itoh K, Takeshima Y, Iijima K. Mitochondrial respiratory chain complex IV deficiency complicated with chronic intestinal pseudo-obstruction in a neonate. *Pediatr Int.* 2016 Jul;58(7):651-5. doi: 10.1111/ped.12907. Epub 2016 Jun 6.
- 26) Imai A, Fujita S, Kishita Y, Kohda M, Tokuzawa Y, Hirata T, Mizuno Y, Harashima H, Nakaya A, Sakata Y, Takeda A, Mori M, Murayama K, Ohtake A, Okazaki Y. Rapidly progressive infantile cardiomyopathy with mitochondrial respiratory chain complex V deficiency due to loss of ATPase 6 and 8 protein. *Int J Cardiol.* 2016 Mar 15;207:203-5. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.01.026. Epub 2016 Jan 7.
- 27) Kohda M, Tokuzawa Y, Kishita Y, Nyuzuki H,

Moriyama Y, Mizuno Y, Hirata T, Yatsuka Y, Yamashita-Sugahara Y, Nakachi Y, Kato H, Okuda A, Tamaru S, Borna NN, Banshoya K, Aigaki T, Sato-Miyata Y, Ohnuma K, Suzuki T, Nagao A, Maehata H, Matsuda F, Higasa K, Nagasaki M, Yasuda J, Yamamoto M, Fushimi T, Shimura M, Kaiho-Ichimoto K, Harashima H, Yamazaki T, Mori M, Murayama K, Ohtake A, Okazaki Y. A Comprehensive Genomic Analysis Reveals the Genetic Landscape of Mitochondrial Respiratory Chain Complex Deficiencies. PLoS Genet. 2016 Jan 7;12(1):e1005679. doi: 10.1371/journal.pgen.1005679. eCollection 2016 Jan.

2. 学会発表

1) Ohtake A, Murayama K, Yamazaki T, Harashima H, Tokuzawa Y, Kishita Y, Mizuno Y, Kohda M, Shimura M, Fushimi T, Taniguchi M, Ajima M, Takayanagi M, Okazaki Y: 5-aminolevulinic acid and Fe can bring a permanent cure for mitochondrial respiratory chain disorders. Invited Lecture. Pediatric Neurology Branch Meeting and the 11th Course of the Latest Progress in Pediatric Nervous System Genetic and Metabolic Diseases Treatment. 2nd China

International Forum of Pediatric Development. October 9-11, China National Conventional Center, (Beijing, China), 2015

2) Ohtake A: A comprehensive genomic analysis reveals the genetic landscape of mitochondrial respiratory chain complex deficiencies. Invited Special Lecture. 2015 Annual Conference of Medical Genetics & Genomics at AMC (Asan medical Center) "Bring next generation sequencing into the clinic: Are we ready?" November 6, Asan Institute for Life Science building B1 large auditorium (Seoul, Korea), 2015

以下の患者会フォーラムの実施

1) 第3回先天代謝異常症患者会フォーラム
2014.11.9 TKP ガーデンシティ品川

2) 第4回有機酸・脂肪酸代謝異常症 医師と患者の
シンポジウム 2014.12.6 TKP 品川カンファレンスル
ーム

H . 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

