

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08866

研究課題名(和文) 脂肪酸代謝異常に関連する死亡原因の究明方法の開発

研究課題名(英文) Development of a method to investigate cause of death related to fatty acid oxidation disorder

研究代表者

窪 理英子 (Kubo, Rieko)

群馬大学・医学部・技術職員

研究者番号：40747127

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、高度脂肪肝を伴う乳児の突然死症例に遭遇し、解剖検査を実施し、イメージング質量分析を用いた脂肪酸解析結果から、その責任遺伝子を調べ、脂肪酸代謝遺伝子の新規変異を見出した。この死因調査の過程で、脂肪酸代謝遺伝子に日本人特有な熱感受性変異が存在すること、脂肪酸代謝に影響を及ぼす医薬品が処方されている事実を学んだ。そのことからカルニチンパルミトイル基転移酵素IIに熱感受性変異を持つ患児が低カルニチン結晶を誘発する抗生物質を服用したため、脂肪酸代謝が一層低下し、高度脂肪肝やエネルギークライシスが生じたと考えられる症例についても報告した。

研究成果の概要(英文)：We had previously reported a case of congenital FAO deficiency with severe liver steatosis. We analyzed the three main genes associated with FAO deficiency in Japanese, and this revealed the thermolabile variant of CPT2. The enzyme exerts moderate catalytic activity at normal body temperature, whereas the activity is severely impaired during high fever. We investigated a case of sudden unexpected death involving a male homozygotic twin infant. Only the deceased had been treated with an antibiotic containing pivalic acid, which may sometimes cause hypocarnitinemia. Postmortem computed tomography and autopsy demonstrated severe liver steatosis, and subsequent genetic analysis revealed that the twin had the thermolabile variant of carnitine palmitoyl transferase 2 (CPT2). We concluded that the cause of death had been fatty acid oxidation deficiency accelerated by an antibiotic containing pivalic acid and virus infection in this infant harboring the thermolabile genetic variant of CPT2.

研究分野：法医学

キーワード：脂肪酸代謝異常 突然死

1. 研究開始当初の背景

我々は、高度脂肪肝を伴う乳児の突然死症例に遭遇し、解剖検査を実施し、イメージング質量分析を用いた脂肪酸解析結果から、その責任遺伝子を調べ、脂肪酸代謝遺伝子の新規変異を見出した。この死因調査の過程で、脂肪酸代謝遺伝子に日本人特有な熱感受性変異が存在すること、脂肪酸代謝に影響を及ぼす医薬品が処方されている事実を学んだ。従って、日本人はエネルギークライシスからの高度脂肪肝が生ずる可能性が高くなっていることが予想される。

突然死は心臓・血管系疾患、中枢神経系疾患、呼吸系疾患等の種々の原因で生じるが、青壮年突然死症候群や乳幼児突然死症候群のような原因不明な突然死もある。

一方、脂肪肝はアルコール摂取、内分泌疾患、薬剤、高度の栄養障害等のさまざまな原因で生じるが、脂肪酸代謝異常により生じる場合がある。特に乳幼児突然死の症例においては、脂質代謝異常を伴う突然死が知られており、第97次日本法医学会学術全国集会(札幌)において順天堂大学・埼玉医科大学のグループは乳幼児急死例8例中2例において脂肪酸代謝異常が認められたことを報告している。臨床においては、タンデム質量分析による血清・血漿アシルカルニチンの新生児マススクリーニングが実施されている。一方、成人においても高度脂肪肝を伴う突然死例があり、その原因が不明である例も数多く存在する。

そこで、高度脂肪肝を伴う突然死における蓄積された脂肪酸の解析と原因遺伝子を特定することがその死因究明に必要であると考えられる。

2. 研究の目的

高度脂肪肝を伴う突然死例において蓄積された脂肪酸の解析とその原因遺伝子の探索を、最新の検査方法導入により、短時間で系統的、集約的に実施する死因究明プロトコルを確立することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

高熱発症後に抗生剤投与を受け、その後高度脂肪肝を伴って死亡した症例において、死後画像検査や病理組織学的検査から脂肪肝が明らかであったことから、1) 標本作製が可能であったため Bruker Daltonics 社製 MALDI-TOF/TOF 型質量分析装置を用いたイメージング質量分析による肝臓に蓄積している脂質の同定を試みた。2) 蓄積している脂質に関する情報に基づき、脂肪酸代謝関連酵素の遺伝子解析を行った。3) 死者の罹患疾患、服用薬物、体温、死亡前の症状等の情報収集等を実施し、遺伝子解析結果や生前情報の統合に基づき、脂肪酸代謝異常の原因を解明した。

4. 研究成果

イメージング質量分析を用いた脂肪酸解析結果から、その責任遺伝子を調べ、脂肪酸代謝遺伝子の新規変異を見出した

(Takahashi Y, Kubo R, et al. Forensic Sci Int, 244:e34-e37, 2014.)。日本人にはカルニチンパルミトイル基転移酵素 II の熱感受性変異が多いことが知られているが、この表現型では、温度上昇に伴い、カルニチンパルミトイル基転移酵素 II の活性が低下する。また、医療上の影響因子として、抗生物質の中には低カルニチン血症を誘発する薬剤が日本では認可されている。即ち、カルニチンパルミトイル基転移酵素 II に熱感受性変異を持つ患児がインフルエンザ等の高熱を伴う感染症に罹患した場合、使用される抗生物質によっては低カルニチン血症を招き、脂肪酸代謝が一層低下し、高度脂肪肝やエネルギークライシスが生じることが予想される。以上により、日本人には遺伝学的な分子基盤に加えて、不適当な薬剤の認可という医療の現状がある。そのことから、カルニチンパルミトイル基転移酵素 II に熱感受性変異を持つ患児が低カルニチン結晶を誘発する抗生物質を服用したため、脂肪酸代謝が一層低下し、高度脂肪肝やエネルギークライシスが生じたと考えられる (Takahashi Y, Kubo R, et al. Leg Med. 22:13-17, 2016.)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計19件)

1. Takei H, Sano R, Takahashi Y, Takahashi K, Kominato Y, Tokue H, Shimada T, Awata S, Hirasawa S, Ohta N. Usefulness of coronary postmortem computed tomography angiography to detect lesions in the coronary artery and myocardium in cases of sudden death. **LegMed**. 査読有 2017;30:46-51. doi:10.1016/j.jlegalmed.2018.03.0006
2. Sano R, Fukuda H, Takahashi Y, Takahashi K, Kubo R, Kobayashi M, Fujihara J, Takeshita H, Kominato Y. Sequence analysis of ABO and its homologues is valid for species identification. **Transfus Med**. 査読有 2017;27(6):428-436. doi:10.1111/tme.12455
3. Takahashi Y, Sano R, Yasuda A, Kuboya E, Takahashi K, Kubo R, Kominato Y, Takei H, Kobayashi S,

- Shimada T, Awata S, Tokue H, Hirasawa S. Postmortem computed tomography evaluation of fatal gas embolism due to connection of an intravenous cannula to an oxygen supply. *Leg Med*. 査読有 2017;27:1-4. doi:10.1016/j.legamed.2017.11.005
4. Takahashi Y, Kubo R, Sano R, Nakajima T, Takahashi K, Kobayashi M, Handa H, Tsukada J, Kominato Y. Histone deacetylase inhibitors suppress ABO transcription in vitro, leading to reduced expression of the antigens. *Transfusion*. 査読有 2017;57(3):554-562. doi:10.1111/trf.13958
 5. Sano R, Nakajima T, Takahashi Y, Kubo R, Kobayashi M, Takahashi K, Takeshita H, Ogasawara K, Kominato Y. Epithelial expression of human ABO blood group gene is dependent upon a downstream regulatory element functioning through an epithelial cell-specific transcription factor, Elf5. *J Biol Chem*. 査読有 291. 2016.22594–22606. doi:10.1074/jbc.M116.730655
 6. Nakajima T, Sano R, Takahashi Y, Watanabe K, Kubo R, Kobayashi M, Takahashi K, Takeshita H, Kominato Y. ABO alleles are linked with haplotypes of an erythroid cell-specific regulatory element in intron 1 with a few exceptions attributable to genetic recombination. *Vox Sang*. 査読有 110. 2016. 90–92. doi:10.1111/vox.12312
 7. Isa K, Yamamuro Y, Ogasawara K, Yabe R, Ogiyama Y, Ito S, Takahashi Y, Kominato Y, Sano R, Uchikawa M. Presence of nucleotide substitutions in the ABO promoter in individuals with phenotypes A₃ and B₃. *Vox Sang*. 査読有 110. 2016. 285–287. doi: 10.1111/ vox.12363
 8. Yazawa S, Takahashi R, Sano R, Mogi A, Saniabadi AR, Kuwano H, Asao T. Fucosylated Glycans in α 1-Acid Glycoprotein for Monitoring Treatment Outcomes and Prognosis of Cancer Patients. *PLoS One*. 査読有 2016. 11. e0156277. doi: 10.1371/journal.pone.0156277
 9. Fujihara J, Kimura-Kataoka K, Sano R, Kominato Y, Takeshita H. Association of a single-nucleotide polymorphism (rs6180) in GHR gene with plural tissue weight. *J Genet*. 査読有 95. 2016. 189–92. Doi 無
 10. Takahashi Y, Sano R, Takahashi K, Kominato Y, Takei H, Kobayashi S, Shimada T, Tokue H, Awata S, Hirasawa S. Use of postmortem coronary computed tomography angiography with water-insoluble contrast medium to detect stenosis of the left anterior descending artery in a case of sudden death. *Leg Med*. 査読有 19. 2016. 47–51. doi: 10.1016/j.legalmed.2016.02.003
 11. Takahashi Y, Sano R, Kominato Y, Kubo R, Takahashi K, Nakajima T, Takeshita H, Ishige T. A case of sudden unexpected infant death involving a homozygotic twin with the thermolabile CPT2 variant, accompanied by rotavirus infection and treatment with an antibiotic containing pivalic acid. *Leg Med*. 査読有 22. 2016. 13–17. doi:10.1016/j.legalmed.2016.07.005
 12. Kuninaka H, Takahashi Y, Sano R, Takahashi K, Kubo R, Kominato Y, Takei H, Kobayashi S, Shimada T, Tokue H, Awata S, Hirasawa S. Use of postmortem computed tomography angiography to detect vascular injuries accompanying skull base fracture. *Leg Med*. 査読有 23.

2016. 55–58. doi: 10.1016/j.legalmed.2016.09.008
13. Murayama M, Takahashi Y, Sano R, Watanabe K, Takahashi K, Kubo R, Kuninaka H, Kominato Y. Characterization of five cases of suspected bathtub suicide. *Legal Medicine*. 査読有 13.2015.576-578. doi:10.1016/j.legalmed.2015.07.005
14. Tokue H, Takahashi Y, Hirasawa S, Awata S, Kobayashi S, Shimada T, Tokue A, Sano R, Kominato Y, Tsushima Y. Intestinal obstruction in a mentally retarded patient due to pica. *Ann Gen Psychiatry*. 査読有 14.2015.22. doi: 10.1186/s12991-015-0060-4
15. Fujihara J, Yasuda T, Iida R, Ueki M, Sano R, Kominato Y, Inoue K, Kimura-Kataoka K, Takeshita H. Global analysis of genetic variations in a 56-bp variable number of tandem repeat polymorphisms within the human deoxyribonuclease I gene. *Legal Medicine*. 査読有 17. 2015. 283–286. doi:10.1016/j.legalmed.2015.01.005
16. Watanabe K, Takahashi Y, Sano R, Nakajima T, Kominato Y, Kobayashi S, Shimada T, Takei H, Awata S, Hirasawa S. Brain fragility can be estimated by its putative signs on postmortem computed tomography. *Legal Medicine*. 査読有 17.2015.98–101. doi:10.1016/j.legalmed.2014.10.008
17. Sano R, Kuboya E, Nakajima T, Takahashi Y, Takahashi K, Kubo R, Kominato Y, Takeshita H, Yamao H, Kishida T, Isa K, Ogasawara K, Uchikawa M. A 3.0-kb deletion including an erythroid cell-specific regulatory element in intron 1 of the ABO blood group gene in an individual with the B_m phenotype. *Vox Sanguinis*. 査読有 108.2015.310–313. doi: 10.1111/vox.12216
18. Sano R, Nogawa M, Nakajima T, Takahashi Y, Takahashi K, Kubo R, Kominato Y, Yokohama A, Tsukada J, Yamao H, Kishida T, Ogasawara K, Uchikawa M. Blood group B gene is barely expressed in in vitro erythroid culture of B_m-derived CD34⁺ cells without an erythroid cell-specific regulatory element. *Vox Sanguinis*. 査読有 108.2015. 302–309. doi: 10.1111/vox.12220
19. 高橋遥一郎, 佐野利恵, 中島たみ子, 小湊慶彦. ABO 遺伝子の転写調節領域の変異により血液型亜型 Am 型、A3 型、B3 型が生じる. *DNA 多型*. 査読有 23.2015.103–107.
- [学会発表](計 24 件)
1. 小湊慶彦. ABO 式血液型遺伝子の転写調節機構解明と血液型亜型の遺伝子解析. 第 101 次日本法医学会学術全国集会. 2017.6.8 岐阜.
 2. 高橋遥一郎. 法医分子病理学的解析の実際 - 脂肪酸代謝異常 2 症例の提示と、被虐待児への応用可能性に - ついて - 第 101 次日本法医学会学術全国集会. 2017.6.8 岐阜.
 3. 佐野利恵, 中島たみ子, 高橋遥一郎, 窪理英子, 高橋圭子, 竹下治男, 小湊慶彦. ABO 遺伝子下流に存在する上皮細胞特異的エンハンサーの同定. 第 101 次日本法医学会学術全国集会. 日本法医学雑誌. 2017.6.8 岐阜.
 4. 佐野利恵, 福田治紀, 高橋遥一郎, 窪理英子, 高橋圭子, 藤原純子, 竹下治男, 小湊慶彦. ABO 式血液型遺伝子とそのパラログ、オーソログの遺伝子解析による種判別法. 第 101 次日本法医学会学術全国集会. 2017.6.8 岐阜

5. 佐野利恵, 中島たみ子, 高橋遥一郎, 小笠原健一, 小湊慶彦. ABO 遺伝子下流に存在する上皮細胞特異的エンハンサーの同定. 第 65 回日本輸血・細胞治療学会総会 . 2017.6.23 千葉 .
6. 武井宏行, 佐野利恵, 高橋遥一郎, 小湊慶彦. 死後冠動脈造影検査は急死例の原因検索に有効である. 第 85 回日本法医学会学術関東地方集会 . 2017.10.28 東京
7. 佐野利恵, 高橋遥一郎, 窪理英子, 高橋圭子, 竹下治男, 小湊慶彦. ABO 遺伝子下流に存在する上皮細胞特異的エンハンサーの同定. 日本 DNA 多型学会第 26 回学術集会 2017.11.30 東京 .
8. 佐野利恵, 高橋遥一郎, 窪理英子, 福田治紀, 竹下治男, 藤原純子, 小湊慶彦. ABO 式血液型遺伝子とそのパラログ、オーソログの遺伝子解析による種判別法. 日本 DNA 多型学会第 25 回学術集会 . 2016.12.2 千葉.
9. 國中光, 高橋遥一郎, 佐野利恵, 窪理英子, 高橋圭子, 小湊慶彦. 頭蓋底骨折に伴う血管損傷の検索に死後 CT 血管造影検査が有用であった一例. 第 85 回日本法医学会学術関東地方集会 . 2016.10.29 神奈川.
10. 高橋遥一郎, 佐野利恵, 高橋圭子, 窪理英子, 中島たみ子, 小湊慶彦. ABO 遺伝子の発現量変動の機序解明と、薬剤刺激による血液型抗原量の制御. 第 100 次日本法医学会学術全国集会 . 2016.6.17 東京.
11. 高橋遥一郎, 佐野利恵, 小湊慶彦. 死後冠動脈 CT 造影検査が冠動脈血栓の組織学的検索に有効であった急死例. 第 100 次日本法医学会学術全国集会 . 2016.6.17 東京.
12. 中島たみ子, 佐野利恵, 高橋遥一郎, 竹下治男, 安田年博, 小湊慶彦. ABO 式血液型遺伝子エンハンサーのハプロタイプは ABO 遺伝子型とリンクしている. 第 100 次日本法医学会学術全国集会 . 2016.6.17 東京.
13. 佐野利恵, 中島たみ子, 高橋遥一郎, 小湊慶彦. ABO 式血液型遺伝子エンハンサーハプロタイプの型特異性. 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会 . 2016.4.29 京都.
14. 伊藤正一, 荻山佳子, 鈴木光, 峯岸正好, 清水博, 伊佐和美, 小笠原健一, 内川誠, 高橋遥一郎, 佐野利恵, 中島たみ子, 小湊慶彦. ABO 遺伝子のプロモーター領域の一塩基置換によって生じた B₃ 型の一例. 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会 . 2016.4.29 京都.
15. 高橋遥一郎, 佐野利恵, 村山真之, 小湊慶彦. 死後冠動脈造影に関する症例報告と今後の展開について. 第 10 回法医画像勉強会 . 2016.3.12 東京.
16. 村山真之, 高橋遥一郎, 佐野利恵, 小湊慶彦: 浴槽内での自殺が疑われた 5 症例の検討. 第 84 回日本法医学会学術関東地方集会 . 2015.10.24 東京.
17. 佐野利恵, 中島たみ子, 高橋遥一郎, 小湊慶彦: Bm 型では赤血球系細胞において B 遺伝子の発現が極めて低下している - CD34 陽性細胞を用いた赤血球系細胞への分化培養実験 - . 日本 DNA 多型学会第 24 回学術集会 . 2015.11. 20 岡山.
18. 中島たみ子, 佐野利恵, 高橋遥一郎, 窪理英子, 高橋圭子, 小林もも子, 渡邊華帆, 小湊慶彦, 竹下治男, 安田年博: ABO 式血液型遺伝子エンハンサーハプロタイプの型特異性. 日本 DNA 多型学会第 24 回学術集会 . 2015.11. 20 岡山.
19. 佐野利恵, 中島たみ子, 高橋遥一郎, 竹下治男, 安田年博, 岸田哲子, 小湊

慶彦 B_m 型では赤血球系細胞において B 遺伝子発現が極めて低下している -CD34 陽性細胞を用いた分化培養実験- 第 99 次日本法医学会学術全国集会. 2015.6.11 高知.

20. 佐野利恵、高橋遥一郎、中島たみ子、小湊慶彦: 死後 CT 検査により同定された左室心筋石灰化、心肥大が診断の一助となった左冠動脈肺動脈起始症の一症例. 第 99 次日本法医学会学術全国集会. 2015.6.12 高知.

他 4 件

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

窪 理英子 (KUBO RIEKO)
群馬大学・医学部・技術職員
研究者番号: 40747127

(2) 研究分担者

小湊 慶彦 (KOMINATO YOSHIHIKO)
群馬大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 30205512
佐野 利恵 (SANO RIE)
群馬大学・大学院医学系研究科・講師
研究者番号: 70455955

高橋 遥一郎 (YOICHIRO TAKAHASHI)
群馬大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 50640538
(2015 ~ 2017.3 まで)

(3) 連携研究者

無

研究者番号: