

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K21179

研究課題名（和文）iPS細胞を用いた脂肪酸代謝異常症に対するベザフィブラートの有効性評価法の開発

研究課題名（英文）Development of effective evaluation method of bezafibrate for the fatty acid metabolism disorders using the iPS cells

研究代表者

山田 健治（Yamada, Kenji）

島根大学・学術研究院医学・看護学系・助教

研究者番号：70624930

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：高脂血症薬の一つであるベザフィブラートという薬剤を、実際に脂肪酸代謝異常症の患者に投与したところ、明らかな有効性を示さなかった。しかし一部の患者では明らかに臨床症状が改善したため、その有効性は否定出来なかった。そこで、本研究ではベザフィブラートの投与前に、その有効性を予測する方法を検討した。当初はiPS細胞を用いて検討する方針であったが、結果としてin vitro probe assayやfatty acid oxidation fluxといった患者由来の培養細胞を用いて脂肪酸代謝能を測定する従来の方法を応用することで、ある程度はベザフィブラートの有効性を予測できることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果はベザフィブラートの有効性を患者細胞を用いて予測するだけでなく、他の治療候補薬剤の有効性を検討することにも応用できる。本研究で発展させた脂肪酸代謝能の測定技術は一度に数～十数種類の薬剤を簡便に調べることが出来る。つまり、現時点ではベザフィブラートも含めて証明された治療薬のない脂肪酸代謝異常症への治療薬を探索する際に、患者由来の培養細胞を用いることで、安全に多数の薬剤を網羅的に検討できる。さらに、脂肪酸代謝異常症だけでなく、ミトコンドリア病といった他の先天代謝異常症の治療薬の有効性を調べることに応用できると思われる。

研究成果の概要（英文）：Although bezafibrate has been reported as a hopeful drug for fatty acid oxidation disorders (FAOD) in in vitro, a clinical trial showed no obvious efficacy. However, the clinical symptom was clearly improved in some patients. Therefore, I thought that its efficacy could not be completely denied, and the measurement of fatty acid oxidation capacity might be inappropriate.

In this study, I initially planned to develop and investigate a method for predicting the efficacy of bezafibrate using iPS cells. However, as a result, I found that modified conventional methods using fibroblasts derived from patients with FAOD, such as in vitro probe assay and fatty acid oxidation flux, can partially predict the efficacy of bezafibrate.

研究分野：先天代謝異常症

キーワード：脂肪酸代謝異常症 ベザフィブラート 代謝性ミオパチー in vitro probe assay 脂肪酸代謝能 VLCAD欠損症 CPT2欠損症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

脂肪酸 酸化系は炭水化物からのエネルギー供給が低下した時に代替エネルギー供給源となる。ミトコンドリア脂肪酸代謝異常症 (FAOD)は脂肪酸 酸化系酵素の欠損であり、骨格筋や心筋のようなエネルギーを多く必要とする臓器が障害される疾患であるが、時に突然死や脳症などの重篤な症状も呈する。その多くは新生児タンデムマス・スクリーニングの対象疾患であるが、生活指導や対症療法が中心で、2020年現在であっても有効な薬物治療は確立されていない。

ベザフィブラートは高脂血症薬であるが、近年、酸化系酵素の転写を促進し、酵素発現を誘導することで酸化能を改善させることが知られてきた。申請者らも、患者由来の皮膚線維芽細胞を飢餓状態で一定時間培養後に酸化系の代謝産物であるアシルカルニチンを測定する *in vitro* probe (IVP)アッセイという酸化能評価法を用いて、ベザフィブラートの有効性を報告した (Yamaguchi S, Yamada K, et al. Mol Genet Metab.2012.)。

ベザフィブラートはその作用機序から酵素活性がある程度残っている軽症患者にしか効果がないと考えられている。そのため投与前に *in vitro* で反応性を予測することは重要である。しかし、我々は IVP アッセイで BEZ が有効と判断されたが、実際の臨床効果は得られなかった症例を経験した (Vatanavicharn N, Yamada K, et al. Brain Dev. 2015)。すなわち、従来の IVP アッセイだけでは BEZ の反応性を予測することが困難であり、新たな分析法が必要と考えられた。

IVP アッセイによるベザフィブラートの反応性と実際の臨床効果とに乖離があるのは、効果判定を行うときの薬剤濃度や培養液に加える脂肪酸濃度が極端に高い等、実際の生体内とは掛け離れた培養条件である事も原因と考えられた。しかし、薬剤濃度や脂肪酸を生理的範囲内に近づけると、IVP アッセイでは感度の問題で微細な酸化能の変化を拾い切れない。更に FAOD 患者で傷害される臓器は肝臓や筋肉・心筋であり、小児患者ではこれらの組織を得ることが困難なため、皮膚線維芽細胞を対象としていることも IVP アッセイ法の限界であると思われた。

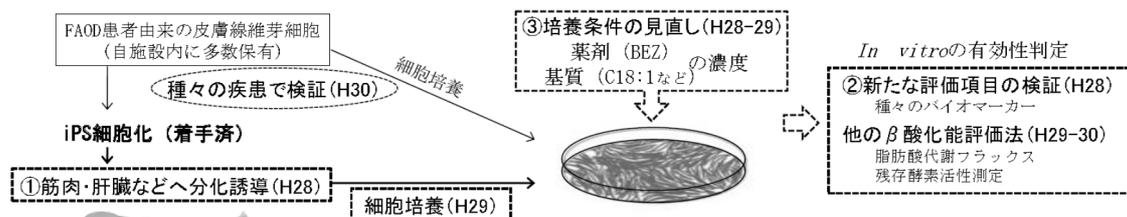
### 2. 研究の目的

本研究の目的は、患者に実際にベザフィブラートを投与する前に、効果が期待できる患者にだけ投与するために、患者由来の細胞を用いて (インビトロで)ベザフィブラートの有効性を予測する方法を開発することである。そこで、研究当初は FAOD 患者由来の iPS 細胞や皮膚線維芽細胞を用いた IVP アッセイを改変・応用し、インビトロでの薬剤反応性をより正確に評価できる方法を開発することであった。

我々は 2015 年当時に、FAOD の 1 つである極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症患者の iPS 細胞を作成済みで、肝臓や筋肉に分化誘導した細胞を用いた分析に着手しつつあった。そのためベザフィブラートや脂肪酸濃度などの培養条件を生理的範囲内に近づけ、酸化能を感度よく評価できる測定法を検証できると考えていた。

### 3. 研究の方法

研究開始当初は、下図のように VLCAD 欠損症患者由来の iPS 細胞の分化誘導や、皮膚線維芽細胞を用いた IVP アッセイにおける新たな評価項目の検証、培養条件の見直しを行う予定であった。



本研究計画の概略図

具体的には、すでに作成済みであった VLCAD 欠損症患者由来の iPS 細胞を使って、心筋細胞や肝細胞といった FAOD で障害されやすい臓器、器官の分化細胞を作成したり、IVP アッセイで基本的に用いられるアシルカルニチン以外の酸化能を評価できるバイオマーカーを探索したり、細胞の培養条件を生理的範囲内に近づけるための検討を行う予定であった。

しかし、研究着手の直前 (2015 年 12 月) に「Fatty acid oxidation flux predicts the clinical severity of VLCAD deficiency (Diekman E. F. et al. Genetics in Medicine, 2015)」という論文が報告された。その内容は酵素活性よりも Fatty acid oxidation flux (FAO フラックス) の方が VLCAD 欠損症患者の重症度を予測しやすい、と言うものであった。FAO フラックスとは放射性同位元素 (ラジオアイソトープ、RI) を用いた脂肪酸代謝能の測定法であり、技術的には iPS 細胞などを用いるよりも簡便で安価である。

元々、本研究でも、FAO フラックス法による薬剤有効性の評価も予定していたこともあり、iPS

細胞を用いた IVP アッセイよりも、患者由来の皮膚線維芽細胞を用いた FAO フラックスでベザフィブラートの有効性を評価出来るのではないかと考えて方針を転換した。

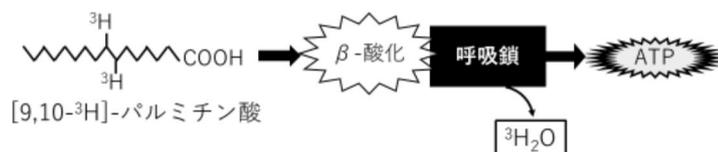
FAO フラックスの測定法の概要は以下の通りである。脂肪酸は 酸化とミトコンドリア呼吸鎖の反応を経て、最終的に水(H<sub>2</sub>O)と ATP へと代謝されるが、RI である <sup>3</sup>H( 三重水素、トリチウム ) でラベルされた脂肪酸からは <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O が産生される。患者由来の皮膚線維芽細胞に、RI でラベルされた [9,10-<sup>3</sup>H] パルミチン酸を添加して培養し、<sup>3</sup>H<sub>2</sub>O の信号強度をシンチレーションカウンター(トリチウムを測定できる機械)で測定することで、脂肪酸がどれほど代謝(水に分解)されたのかを測る事ができる (Moon A, et al. J Clin Invest. 1987)。

本研究では、これを応用して以下の方法で FAO フラックスを測定した(1 検体につき 3 回ずつ測定 = triplicate での分析)。まず、24 ウェルプレートで患者由来の皮膚線維芽細胞(1.0 × 10<sup>5</sup> 個/ウェル)を 24 時間培養する。次いでベザフィブラート(100 μM または 800 μM)が添加された培養液に変更し、更に 72 時間培養する。その後、RI でラベルされたパルミチン酸を含んだ反応液を加え 2 時間培養する。10%トリクロロ酢酸で反応を停止させ、遠心分離後に上清を 6 価 NaOH でアルカリ化させた後に、陰イオン交換樹脂を通して、水(<sup>3</sup>H<sub>2</sub>O)と未反応のパルミチン酸を分離させる。シンチレーションカウンターで最終生成水中のトリチウム濃度を測定する。健常者のトリチウム濃度を 100%として、患者由来細胞のトリチウム濃度の比(%)を FAO フラックスとした。

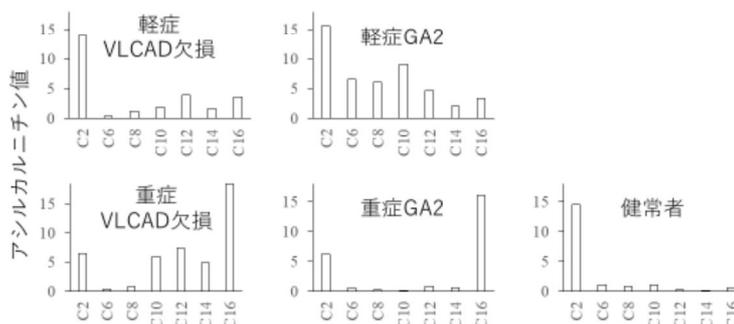
また IVP アッセイは既報の通り行った(Yamada K, et al. Brain Dev. 2017)。概要は以下の通りで、患者由来の皮膚線維芽細胞を培養プレート(6well)でコンフルエンスになるまで培養後に、高カルニチン(400 μM)、低ブドウ糖(100mg/dL)、高パルミチン酸(100 μM)の特殊な培地にベザフィブラートを添加(0、100、800 μM)して 72 時間培養する。培養後に培地の上清をタンデムマス分析計を用いてアシルカルニチン分析する。疾患ごとに、或いはその重症度によって特徴的な蓄積するアシルカルニチンが異なるが(下図)、ベザフィブラート添加によって蓄積するアシルカルニチンの減少が見られれば有効と判断する。

## FAOフラックスとIVPアッセイ

<FAOフラックス>  
RIでラベルされた脂肪酸がどの程度β酸化されたのか、脂肪酸の最終代謝産物である<sup>3</sup>H<sub>2</sub>O濃度を測定して評価する。



<IVPアッセイ>  
細胞を飢餓状態にしてβ酸化を促す特殊な培地を用いる。疾患や重症度に応じて蓄積するアシルカルニチンのパターンが異なるため、FAODの鑑別や重症度の判定に用いられる。

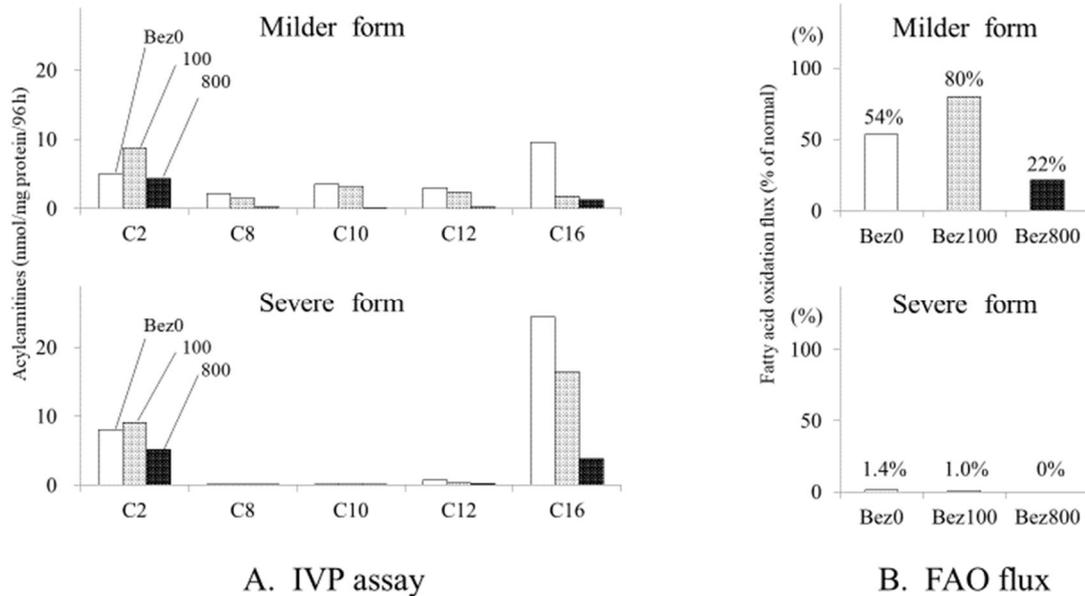


本研究の対象としてグルタル酸血症 2 型 (GA2) の軽症型と重症型患者由来の皮膚線維芽細胞を用いた。GA2 はおよそ 30 万出生に 1 人の頻度で生じる常染色体劣性遺伝性の FAOD の一つで、IVP アッセイでは、上記のように軽症型と重症型でそのアシルカルニチンプロファイルが大きく異なる(軽症型では C4 ~ C16 が中等度に上昇するのに対し、重症型では C16 だけが上昇する)。これまでの研究で、GA2 に対するベザフィブラートの有効性を研究しており、多数の検体を保管しているため、この疾患を対象とした。この他、一部の研究では VLCAD 欠損症患者由来の皮膚線維芽細胞も用いた。

### 4. 研究成果

本研究で、IVP アッセイと FAO フラックスでベザフィブラートの反応性が違うこと、FAO フラックスの方が臨床的な有効性を反映した結果であることを報告した (Yamada K, Taketani T. Journal of Human Genetics, 2019)(下図、前論文より抜粋)。下図 A は IVP アッセイの結果で、GA2 の milder form (軽症型、A 図上部) と severe form (重症型、A 図下部) にベザフィブラートを添加した際のアシルカルニチンの変化を示したものである。ベザフィブラート 100 μM または 800 μM を加えると、軽症型、重症型ともに蓄積していた C16 (パルミトイルカルニチン) が減少しており、パルミチン酸の代謝が改善したことを示している。なお、ベザフィブラート 800

$\mu\text{M}$  では C16 のみならず C2 (アセチルカルニチン) も減少している。C2 はアセチル CoA に相当するもので、エネルギー代謝の指標になりうるものである。



一方、B 図は FAO フラックスの結果で、上部は軽症型、下部は重症型の結果を示している。コントロール細胞の FAO フラックスを 100%とした場合 (結果省略) 軽症型 GA2 の FAO フラックスは 54%であったが、100  $\mu\text{M}$  のベザフィブラートを添加すると 80%に改善し、800  $\mu\text{M}$  のベザフィブラートでは 22%に低下している。また、重症型 GA2 ではベザフィブラートの有無、濃度に関わらず FAO フラックスは 0~1%程度で改善は認められなかった。

本研究で用いた軽症型 GA2 の細胞を採取された患者は、実際にベザフィブラート投与で劇的に臨床症状が改善した事を過去に報告しており (Yamaguchi S, et al. Molecular Genetics and Metabolism, 2012)、IVP アッセイ、FAO フラックスでもベザフィブラートの有効性を示す事が出来た。一方で、重症型 GA2 では IVP アッセイでベザフィブラートが有効と判定されたが FAO フラックスでは無効であった。実際には、本被験者はベザフィブラートを投与されていないが、本被験者とほぼ同等の重症度を示す別患者においてベザフィブラートが無効であったことから、IVP アッセイよりも FAO フラックスの方が実際の臨床的有效性を予測できると考えられる。さらに IVP アッセイでは高濃度 (800  $\mu\text{M}$ ) ベザフィブラートが 100  $\mu\text{M}$  よりも有効という判定になったが、FAO フラックスではむしろ低下する事が分かった。実際の患者に超高濃度のベザフィブラートを投与することは出来ないが、高濃度ベザフィブラートは臨床的には無効または症状を増悪させる可能性が高い事が分かった。

さらに本研究の一環として、IVP アッセイの精度向上を探索したところ、基質となる脂質はステアリン酸 (C18、炭素数 18 の飽和脂肪酸) よりも、オレイン酸 (C18:1、炭素数 18 の一価不飽和脂肪酸) の方が高精度に VLCAD 欠損症を診断できる事が分かった。下図 (Fig2) に示す通りで中等症の VLCAD 欠損症患者由来の細胞にステアリン酸とオレイン酸を等量に加えて培養したところ、オレイン酸由来の C14:1 の方がステアリン酸由来の C14 よりも有意に蓄積していた。これ

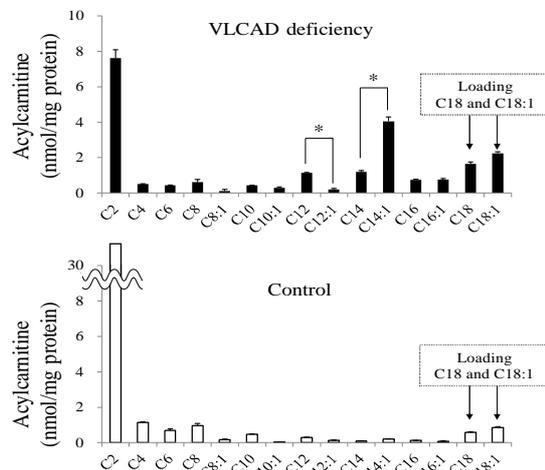


Fig 2. The profiles of *in vitro* probe assays in a VLCAD patient and control subjects

は VLCAD 欠損症患者では飽和脂肪酸よりも不飽和脂肪酸の方が蓄積しやすい事を示しており、IVP アッセイにおいては不飽和脂肪酸を基質とした方が、より軽症の患者を同定出来ると考えられた。

「2. 研究の方法」でも述べたように本研究は、当初 iPS 細胞を分化させて脂肪酸代謝の主戦場とも言える肝臓や筋肉といった組織を利用する方針であった。このアイデアは今後も重要な検討課題と考えられるが、本研究の目的であった「ベザフィブラートの有効性を予測する実験系を開発すること」については、FAO フラックスを利用することで達成できた。

#### < 引用文献 >

1. Diekman, E. F., et al. (2015). "Fatty acid oxidation flux predicts the clinical severity of VLCAD deficiency." *Genetics in Medicine* 17(12): 989-994.
2. Moon A, Rhead WJ. Complementation analysis of fatty acid oxidation disorders. *J Clin Invest.* 1987;79(1):59-64.
3. Yamada K, et al. Efficacy of bezafibrate on fibroblasts of glutaric acidemia type II patients evaluated using an in vitro probe acylcarnitine assay. *Brain Dev.* 2017 Jan;39(1):48-57.
4. Yamaguchi S, et al: Bezafibrate can be a new treatment option for mitochondrial fatty acid oxidation disorders: Evaluation by in vitro probe acylcarnitine assay. *Molecular Genetics and Metabolism* 107: 87-91, 2012

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Watanabe Kenji, Yamada Kenji, Sameshima Koji, Yamaguchi Seiji	4. 巻 15
2. 論文標題 Two siblings with very long-chain acyl-CoA dehydrogenase (VLCAD) deficiency suffered from rhabdomyolysis after L-carnitine supplementation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Genetics and Metabolism Reports	6. 最初と最後の頁 121 ~ 123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymgmr.2018.03.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kaku Noriyuki, Ihara Kenji, Hirata Yuichiro, Yamada Kenji, Lee Sooyoung, Kanemasa Hikaru, Motomura Yoshitomo, Baba Haruhisa, Tanaka Tamami, Sakai Yasunari, Maehara Yoshihiko, Ohga Shouichi	4. 巻 71
2. 論文標題 Diagnostic potential of stored dried blood spots for inborn errors of metabolism: a metabolic autopsy of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Pathology	6. 最初と最後の頁 885 ~ 889
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/jclinpath-2017-204962	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Shibata Naoaki, Hasegawa Yuki, Yamada Kenji, Kobayashi Hironori, Purevsuren Jamiyan, Yang Yanling, Dung Vu Chi, Khanh Nguyen Ngoc, Verma Ishwar C., Bijarnia-Mahay Sunita, Lee Dong Hwan, Niu Dau-Ming, Hoffmann Georg F., Shigematsu Yosuke, Fukao Toshiyuki, Fukuda Seiji, Taketani Takeshi, Yamaguchi Seiji	4. 巻 16
2. 論文標題 Diversity in the incidence and spectrum of organic acidemias, fatty acid oxidation disorders, and amino acid disorders in Asian countries: Selective screening vs. expanded newborn screening	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Genetics and Metabolism Reports	6. 最初と最後の頁 5 ~ 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymgmr.2018.05.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Yamada Kenji, Taketani Takeshi	4. 巻 64
2. 論文標題 Management and diagnosis of mitochondrial fatty acid oxidation disorders: focus on very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 73 ~ 85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s10038-018-0527-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 李知子、山本和宏、起塚庸、山田健治、小林弘典、湯浅光織、重松陽介、原圭一、但馬剛、竹島泰弘。	4. 巻 28
2. 論文標題 新生児スクリーニングで異常を認めず、横紋筋融解症を機にカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ2 (CPT) 2欠損症と診断された幼児例	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本マススクリーニング学会誌	6. 最初と最後の頁 64-70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamada K, Bo R, Kobayashi H, Hasegawa Y, Ago M, Fukuda S, Yamaguchi S, Taketani T	4. 巻 11
2. 論文標題 A newborn case with carnitine palmitoyltransferase II deficiency initially judged as unaffected by acylcarnitine analysis soon after birth	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Molecular Genetics and Metabolism Reports	6. 最初と最後の頁 59-61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymgmr.2017.04.008.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Bo R, Yamada K, Kobayashi H, Jamiyan P, Hasegawa Y, Taketani T, Fukuda S, Hata I, Niida Y, Shigematsu Y, Iijima K, Yamaguchi S.	4. 巻 62
2. 論文標題 Clinical and molecular investigation of 14 Japanese patients with complete TFP deficiency: a comparison with Caucasian cases	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 809-814
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/jhg.2017.52.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tajima G, Hara K, Tsumura M, Kagawa R, Okada S, Sakura N, Maruyama S, Noguchi A, Awaya T, Ishige M, Ishige N, Musha I, Ajihara S, Ohtake A, Naito E, Hamada Y, Kono T, Asada T, Sasai H, Fukao T, Fujiki R, Ohara O, Bo R, Yamada K, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Takayanagi M, Hata I, Shigematsu Y, Kobayashi M	4. 巻 122
2. 論文標題 Newborn screening for carnitine palmitoyltransferase II deficiency using (C16+C18:1)/C2: Evaluation of additional indices for adequate sensitivity and lower false-positivity	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Molecular Genetics and Metabolism	6. 最初と最後の頁 67-75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymgme.2017.07.011.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamada K, Shiraiishi H, Oki E, Ishige M, Fukao T, Hamada Y, Sakai N, Ochi F, Watanabe A, Kawakami S, Kuzume K, Watanabe K, Sameshima K, Nakamagoe K, Tamaoka A, Asahina N, Yokoshiki S, Miyakoshi T, Ono K, Oba K, Isoe T, Hayashi H, Yamaguchi S, Sato N	4. 巻 15
2. 論文標題 Open-label clinical trial of bezafibrate treatment in patients with fatty acid oxidation disorders in Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Genetics and Metabolism Reports	6. 最初と最後の頁 55-63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymgmr.2018.02.003.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada K, Kobayashi H, Bo R, Purevsuren J, Mushimoto Y, Takahashi T, Hasegawa Y, Taketani T, Fukuda S, Yamaguchi	4. 巻 39
2. 論文標題 Efficacy of bezafibrate on fibroblasts of glutaric acidemia type II patients evaluated using an in vitro probe acylcarnitine assay.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Brain and Development	6. 最初と最後の頁 48-27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.braindev.2016.08.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shima A, Yasuno T, Yamada K, Yamaguchi M, Kohno R, Yamaguchi S, Kido H, Fukuda H.	4. 巻 55
2. 論文標題 First Japanese Case of Carnitine Palmitoyltransferase II Deficiency with the Homozygous Point Mutation S113L	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 2659-2661
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.55.6288	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto F, Nakamagoe K, Yamada K, Ishii A, Furuta J, Yamaguchi S, Tamaoka A	4. 巻 368
2. 論文標題 A case of very-long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency with novel compound heterozygous mutations	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of the Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 165-167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jns.2016.07.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi H, Fukuda S, Yamada K, Hasegawa Y, Takahashi T, Purevsuren J, Yamaguchi S.	4. 巻 173
2. 論文標題 Clinical Features of Carnitine Deficiency Secondary to Pivalate-Conjugated Antibiotic Therapy.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Pediatrics	6. 最初と最後の頁 183-187
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpeds.2016.02.080	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 山田健治、坊亮輔、小林弘典、長谷川有紀、山口清次	4. 巻 52
2. 論文標題 CPT-2欠損症の同胞例、出生直後のアシルカルニチン分析で診断出来なかった1例	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 特殊ミルク情報	6. 最初と最後の頁 52-55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 山田健治、小林弘典、長谷川有紀、山口清次、竹谷健
2. 発表標題 出生直後のアシルカルニチン分析で診断できなかったCPT2欠損症の一例
3. 学会等名 第45回日本マススクリーニング学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林弘典、山田健治、長谷川有紀、梶谷晴香、山田健治、城下友義、大山直子、井手野晃、竹谷健
2. 発表標題 精度管理が可能な新規血清アシルカルニチン分析法の開発と旧来法との比較検討
3. 学会等名 第45回日本マススクリーニング学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 李知子、山本和宏、山田健治、小林弘典、湯浅光織、重松陽介、但馬剛、竹島泰弘
2. 発表標題 新生児タンデムマススクリーニングで異常指摘されず、横紋筋融解症を機にCPT2欠損症と診断された幼児例
3. 学会等名 第45回日本マススクリーニング学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田健治、伊藤道徳、小林弘典、長谷川有紀、山口清次、竹谷健
2. 発表標題 新生児マススクリーニングを契機に発見されたFLAD1変異によるグルタル酸血症2型の一例
3. 学会等名 第60回日本先天代謝異常学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田健治
2. 発表標題 脂肪酸代謝異常症の診断と治療（VLCAD欠損症とGA2を中心に）
3. 学会等名 九州先天代謝異常症診療ネットワーク会議2018（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田健治、青木菊麿、横山和紀、新宅治夫、上家和子、山口清次
2. 発表標題 成人フェニルケトン尿症患者の生活状況調査：新生児マススクリーニングの効果の検討
3. 学会等名 第44回日本マススクリーニング学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田健治, 白石秀明, 朝比奈直子, 横式沙紀, 宮腰崇, 大野浩太, 磯江敏幸, 林宏至, 山口清次, 佐藤典宏
2. 発表標題 脂肪酸代謝異常症に対するベザフィブラートのオープンラベル臨床治験結果
3. 学会等名 第59回日本先天代謝異常学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 高橋明雄, 新宅治夫, 笹井英雄, 深尾敏幸, 山口清次, 竹谷健
2. 発表標題 新生児マススクリーニングで発見された日本人グルタル酸血症2型5例のまとめ
3. 学会等名 第59回日本先天代謝異常学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田健治, 坊亮輔, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次, 竹谷健
2. 発表標題 突然死を予防するために頻回の入院管理を行っているCPT-2欠損症の3歳女児例
3. 学会等名 第69回中国四国小児科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yamada K, Aoki K, Yokoyama K, Kobayashi H, Hasegawa Y, Tajima G, Shintaku H, Taketani T, Yamaguchi S
2. 発表標題 Neurological outcome of adult PKU patients detected by NBS in JAPAN
3. 学会等名 10th ISNS-ASIA PACIFIC REGIONAL MEETING 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kenji Yamada, Hironori Kobayashi, Yuki Hasegawa, Seiji Yamaguchi
2. 発表標題 The effect of riboflavin is limited in Japanese patients with glutaric acidemia type II
3. 学会等名 Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 山田健治、坊亮輔、小林弘典、長谷川有紀、山口清次
2. 発表標題 CPT-2欠損症による突然死の予防 ~拡大スクリーニング後にCPT-2欠損症と診断された1例を通して~
3. 学会等名 日本SIDS・乳幼児突然死予防学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田健治、坊 亮輔、小林弘典、長谷川有紀、山口清次、竹谷健
2. 発表標題 RIトレーサー法による 酸化能評価とin vitro probeアッセイの比較：ベザフィブラートの反応性について
3. 学会等名 日本先天代謝異常学会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----