
厚生労働省 特定疾患対策研究事業

副腎白質ジストロフィーの治療法
開発のための臨床的及び基礎的研究班

平成12年度 研究報告書

ANNUAL REPORT OF RESEARCH PROJECT FOR
DEVELOPMENT OF THERAPEUTIC STRATEGIES FOR
ADRENOLEUKODYSTROPHY.

RESEARCH ON SPECIFIC DISEASES,
THE MINISTRY OF HEALTH AND WELFARE, JAPAN.

平成13年3月

班長 辻 省次

目 次

ご 挨拶

I. 総括研究報告	班長 辻 省次
II. 分担研究報告	7
III. 分担別報告	
1. 副腎白質ジストロフィー全国疫学調査結果について	13
鈴木康之, 竹本靖彦 岐阜大学医学部小児科	
2. 骨髄移植ALD例のMRI像のCentral Reviewにむけて	16
小野寺 理 ¹⁾ , 辻 省次 ¹⁾ , 岡本浩一郎 ¹⁾ 新潟大学脳研究所神経内科 ²⁾ 新潟大学医学部附属病院放射線科	
3. 副腎白質ジストロフィー症児への神経心理学的診断アプローチ —治療研究のための検査バッテリーの提案—	18
加我牧子 ¹⁾ , 堀口寿広 ¹⁾ , 中村雅子 ²⁾ , 稲垣真澄 ¹⁾ , 昆 かおり ¹⁾ , 白根聖子 ¹⁾ , 堀本れい子 ¹⁾ , 佐々木匡子 ¹⁾ , 佐田佳美 ¹⁾ ¹⁾ 国立精神・神経センター武蔵病院心理・指導部, 精神保健研究所知的障害部 ²⁾ 東京大学医学部耳鼻咽喉科	
4. 副腎白質ジストロフィー症に対する造血幹細胞移植施行時の前処理に関する検討	21
加藤剛二 ¹⁾ , 矢部普正 ²⁾ , 加藤俊一 ²⁾ ¹⁾ 名古屋第一赤十字病院小児血液腫瘍科 ²⁾ 東海大学医学部小児科	
5. 骨髄移植後長期に経過観察中の2例のALD患児における精神発達評価	24
加藤俊一 ¹⁾ , 尾中啓枝 ²⁾ , 松本正栄 ¹⁾ , 服部欽哉 ¹⁾ , 保田由喜治 ¹⁾ , 矢部普正 ¹⁾ ¹⁾ 東海大学医学部小児科 ²⁾ 東海大学医学部精神科心理室	
6. 3テスラ超高磁場磁気共鳴画像によるラムダチャート解析を用いた神経索機能解析 ～副腎白質ジストロフィーへの適用～	27
寺島健史 ¹⁾²⁾ , 松澤 等 ¹⁾ , 小野寺 理 ²⁾ , 辻 省次 ²⁾ , 中田 力 ¹⁾ ¹⁾ 新潟大学脳研究所脳機能解析学 ²⁾ 新潟大学脳研究所神経内科	

7. 培養細胞系を用いたALD代謝障害の治療.....	30
山田 猛, 新納信江, 古谷博和, 吉良潤一	
九州大学大学院医学系研究科脳神経病研究施設内科部門	
8. ALDPの機能解析ならびに大量発現の試み.....	32
今中常雄, 守田雅志	
富山医科薬科大学薬学部分子細胞機能学研究室	
9. ALDの発症における新規遺伝子リピドーシンの機能解析.....	35
橋本有弘	
三菱化学生命科学研究所筋分化グループ	
10. オリゴデンドロサイト特異的に発現するABC蛋白ABC 2 の単離.....	38
稲垣暢也 ¹⁾ , 塩田清二 ²⁾	
¹⁾ 秋田大学医学部生理学第一講座	
²⁾ 昭和大学医学部解剖学第一講座	
11. Therapeutic Approaches For X-drenoleukodystrophy.....	39
Inderjit Singh,	
Departments of Pediatrics, Biochemistry and Molecular Biology and	
Anatomy and Cell Biology, Medical University of South Carolina	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	43
V. 班構成員名簿.....	49

ご挨拶

昨年度「副腎白質ジストロフィーの治療法開発のための臨床的及び基礎的研究」班が発足し、本年度が2年目になります。昨年度の報告書で詳しく紹介させていただいていますが、本研究班が発足した背景を簡単にご紹介させていただきます。1998年米国 South Carolina 大学の Dr. Inderjit Singh が、lovastatin に副腎白質ジストロフィー (Adrenoleukodystrophy, ALD) 患者培養皮膚線維芽細胞の極長鎖脂肪酸を低下させる作用があることを見いだしました。引き続いて、彼らは、本症患者に lovastatin を投与したところ速やかに血中極長鎖脂肪酸が正常化したという発表を行いました (New Eng J Med 339:702-703, 1998)。極長鎖脂肪酸の増加と白質ジストロフィーの関係が明確でないこともあり、evidence-based medicine の立場に立って lovastatin が副腎白質ジストロフィーに対して臨床効果があるかどうかを検討することがぜひ必要であると考え、米国 Jonh Hopkins 大学の Dr. Moser と相談をし、ぜひとも国際協力の下に randomized controlled trial を実施すべきであるということになり、米国、日本でそれぞれ準備を始めることになりました。日本の方は、厚生省に迅速な対応をしていただき、平成11年度に本研究班を発足することができました。

本研究班を発足させるに当たり、次のようなミッションを設定しました。すなわち、ALD の治療法の治療法を確立することを目的として、1. ALD の疫学・自然歴に関する調査を行う、2. lovastatin などを用いた国際共同治験を実施する、3. ALD に対する造血幹細胞移植の有効性について検討する、4. ALD の病態機序の解析を行い、より合理的な治療法の開発を目指す、という4つのミッションを設定しました。いずれも ALD の治療法開発のために必須のものであります。

ALD の疫学、自然歴については、次のような理由から必須であると考えました。すなわち、ALD の発症年齢、臨床経過が多様性があり、極長鎖脂肪酸レベルの測定や遺伝子診断をもってしても、予後や臨床病型に関する予測がつかないということがあります。このことは、治療研究を行っていく上で重要なポイントになります。このような背景からまず、ALD の疫学、自然歴についての基礎データが必要であると考えたわけです。

幸い、「酵素障害調査研究班」によって、1980-1990年の期間についてペルオキシソーム病に関する疫学調査がなされており、その調査を担当された鈴木泰之先生が本研究班の班員でもいらっしゃいますので、今回1990-2000年の調査を担当いただき、全体で20年間の貴重なデータが得られることになります。疫学調査は順調に進んでおり、平成13年度にその最終調査結果をまとめる予定です。

lovastatin などを用いた臨床治験については、しっかりした国際共同治験のフレームワークの整備が Johns Hopkins 大学を拠点に進んでおりますが、NIH からの funding が実現していないために、足踏み状態にあります。この間に、国際共同治験を進めていく上で、いくつかの問題点が浮かび上がりました。一つは、MRI 画像を central review により評価するシステムの構築、もう一つは小児神経心理学の評価方法を、どのようにして国際的に統一できるかという点であります。MRI 画像の central reveiew については、昨年度に DICOM format 化した MRI 画像をインターネットにより米国との間で転送する実験をすませしており、スムーズに転送できることを確認してあります。ただ、国内医療機関の MRI

装置のすべてが DICOM フォーマット化のためのソフトを整備していないために、DICOM フォーマット化された MRI 画像をどのようにして作成するかという点が課題となっています。この点は本研究班において平成 13 年度にさらに検討を行う予定です。MRI 画像の central review は日本国内においても、国際共同治験の際に用いる scoring と同等のものを実施できる体制が必要であるとの判断から、平成 12 年度に予備的検討を行い、多少の検討課題はあるものの、central review を実施できる体制を構築しました。

小児の神経心理学については、日本国内で神経心理学の評価拠点を構築する必要性があり、国立精神・神経センターの加我 牧子先生に班員に加わっていただき、造血肝細胞移植実施例について神経心理学の評価を行う体制を構築しました。さらに、日本と米国での小児神経の評価方法の統一に関しては、ミネソタ大学の Dr. Shapiro を平成 13 年度に招待し、詳細について検討する予定であります。

これまでに我が国で実施された ALD に対する造血幹細胞移植実施例について、その臨床効果を客観的に判断することを目的に、本研究班では、これまでに我が国で行われた造血幹細胞移植実施例のすべての症例について追跡調査を行い、その臨床効果についての評価が進行中であります。平成 13 年度は、これら造血肝細胞移植実施例について、小児神経心理学の追跡調査、MRI 画像の central review による検討を行い、その評価をまとめることができるものと考えています。

ALD の病態機序の解明は、もっともその成果が期待されるところであります。平成 12 年度には橋本 有弘班員を新たに加え、この分野の研究を強化することにいたしました。また、平成 12 年度は米国 South Carolina 大学の Dr. Indrjit Singh をお呼びし、lobastatin の作用機序を中心に討議を重ねました。

平成 12 年度の大きなニュースは、ALD が厚生省の特定疾患の一つに新たに加えられたことです。このことにより、ALD 患者さんの療養にお役に立つことができると期待されます。また、ALD の疫学調査がより充実したものとなり、治療法の研究にもはずみがつくものと期待されます。

以上、本研究班の発足の経緯、4つのミッション、活動状況についてご紹介させていただきましたが、設定した目標を達成するために着実に成果があがっているものと思います。平成 13 年度は、さらに研究を発展させていきたいと考えています。本研究班の発足、活動について、手厚いご支援をいただいております厚生労働省健康局疾病対策課の方々に対して改めて感謝の意を申し上げたいと思います。

平成 13 年 3 月

副腎白質ジストロフィーの治療法開発のための臨床的及び基礎的研究班

班 長 辻 省 次

I. 総括研究報告

副腎白質ジストロフィーの治療法開発のための臨床的及び基礎的研究

主任研究者 辻 省次
新潟大学脳研究所神経内科

研究要旨

副腎白質ジストロフィー (Adrenoleukodystrophy) に対する有効な治療法を確立することを目的として、1. ALDの疫学・自然歴に関する調査、2. lovastatinを用いた国際共同治験の実施に向けての準備、3. 骨髄移植の有効性についての評価、4. ALD 蛋白 の機能と病態機序の解析、についての検討を行った。ALDの疫学・自然歴に関する調査についての二次調査を実施した。lovastatinを用いた国際共同治験の実施についてはわが国で行う場合の問題点についての検討を行い、神経心理学的検査の整備、MRI画像所見のcentral reviewシステムについての検討を行った。ALDに対する造血幹細胞移植について、前処置に関連する問題点について検討を加えた。

I 研究の目的

副腎白質ジストロフィー (adrenoleukodystrophy, ALD) は進行性の脱髄と副腎皮質機能障害を主徴とするX染色体連鎖劣性遺伝性疾患で、白質ジストロフィーの中では最も頻度の高い疾患である。臨床的には、学童期の男児が学習障害・視力聴力障害などで発症し数年の経過で進行し植物状態に至る小児型、成人になってから発症し多彩な神経症状を示す成人型、副腎不全を主徴とするAddison病型、女性保因者、などの多彩な病像を呈する。ALDは白質ジストロフィーの中では最も頻度の高い遺伝性神経疾患であり、小児から成人にいたる幅広い年齢層で発病する予後不良の難病である。

ALDの生化学的異常については、1976年に極長鎖脂肪酸を有するコレステロールエステルの蓄積が、副腎皮質、大脳脱髄巣で発見され、引き続いて、血漿、赤血球、白血球などにおける極長鎖脂肪酸の増加が見いだされ、生化学的診断法も確立された。極長鎖脂肪酸の増加については、極長鎖脂肪酸に対するアシルCoA活性の低下が指摘されているものの、分子遺伝学的手法によって発見されたALD遺伝子は、ペルオキシソーム膜に存在し何らかの物質輸送に関わる分子であると予測されるが、その生理的機能は解明されていない。従って、ALDにおける病態機序、すなわち、極長鎖脂肪酸の増加の機序、脱髄の生じる病態機序については、未解明の部分が多く残されている。

ALDの治療については、1998年に、Singhらによって、lovastatinが培養皮膚線維芽細胞で、極長鎖脂肪酸を速やかに低下させることが発見された。引き続いて7例のALD発症者、発症前ALD男児、あるいは女性キャリアーに投与され、投与後1ヶ月

以内に極長鎖脂肪酸が正常化することが報告された。

一方、1990年にAubourgらにより、骨髄移植が発症早期のALD男児に対して行われ、臨床効果があったという報告がされて以来、骨髄移植が試みられてきており、発症早期実施において有効性が示唆されているものの、ALDに対する骨髄移植の治療効果についても未だに確立されたといえる段階にはない。

このような背景から、本研究班においては、難治性疾患であるALDについて、ベストと考えられる治療法をevidence-based medicineの立場から明らかにすることにある。最近になり、極長鎖飽和脂肪酸の代謝を改善しうる薬物 (lovastatin) が提案されたこと、骨髄移植が治療法で有用とする経験が蓄積しつつあることなどの状況から、本研究においては、ALDに対する有効な治療法を確立することを目的として次の課題を設定して研究を行った。

すなわち、1.ALDの疫学・自然歴に関する調査を行う、2.lovastatinを用いた国際共同治験を実施する、3.骨髄移植の有効性についての評価を行う、4.ALD 蛋白の機能と病態機序の解析を行う、というものである。

II 研究方法

ALDの自然歴に関する研究

全国の医療機関(内科、神経内科、小児科、精神科など4802診療科)に対して、一次調査、二次調査を実施した。

ALD例のMRI画像のcentral reviewについての研究

ALD症例の治療効果を客観的に判定するために、MRI画像のcentral reviewが必須である。ALD

のMRI画像の客観的評価法としてLoes scoreが提唱されており、このLoesを用いてcentral reviewを実施する上での問題点を検討した。具体的には、独立した2人のreviewerによる評価を実施し、その問題点を検討した。

3テスラ磁気共鳴画像による神経軸索機能解析 拡散強調画像における拡散不等方性の定量的解析を行い、軸索機能の解析を行った。

ALD例の神経心理学的評価に関する研究

ALD症例の治療効果を客観的に判定するために、神経心理学的評価が必須である。神経心理学的評価方法について、国際的にも共通性、普遍性が高く、かつ、本邦において実施可能であるような神経心理学的評価方法についての検討を行った。

ALDに対する造血幹細胞移植における前処置に関する検討

ALDでは、造血幹細胞移植が有効な治療法と考えられているが、前処置中に急速な神経症状の悪化や生着不全などの重大な問題点を包含しており、どのような前処置が有効であるかについての検討を行った。

ALDにおける極長鎖脂肪酸代謝障害の研究

ALD細胞とミクログリアの混合培養を行い、極長鎖脂肪酸代謝についての検討を行った。ALD患者線維芽細胞を用いて、lovastatin存在下に極長鎖脂肪酸の変化についての検討を行った。ALD遺伝子産物(ALD protein, ALDP)の過剰発現系、単離精製により、ALDPの機能について検討を加えた。極長鎖脂肪酸代謝に関与する可能性のある新規長鎖脂肪酸アシルCoA合成酵素を同定し、その機能について検討を加えた。またオリゴデンドロサイト特異的に発現する新しいABC蛋白について秋田大学の稲垣暢也教授を招聘しご講演をいただいた。

ワークショップ「Therapeutic Approaches For X-adrenoleukodystrophy」の開催

lovastatinによる極長鎖脂肪酸低下作用を発見したDr. Inderjit Singhを招聘してワークショップを行い、lovastatinの作用機序、ALDの病態機序についての検討を行った。

III 結果と考察

ALDの自然歴に関する研究

全国の医療機関(内科、神経内科、小児科、精神科など4802診療科)に対して、一次調査、二次調査を実施した。その結果、1990-1999年のALD患者数は286名、99年1年間では113名で、推定患者数は185名であった。二次調査において143名の患者が把握され、小児型41名、成人大脳型34名、AMN 27名、思春期型14名、小脳脳幹型8名、発症前男児8名で、患者頻度は男子3-4万人に1名と推定された。また、従来の調査に比べて小児より成人患者が多いことが判明した。

ALD例のMRI画像のCentral review についての研究

Loes scoreを用いてcentral reviewを実施する上での問題点を検討した。具体的には、独立した2人のreviewerによる評価を実施し、その問題点を検討した。その結果、判定にばらつきのでやすい箇所はvisual pathway、pyramidal system、atrophyの判定であることが判明した。また、Meyer's loop、trapezoid body、anterior thalamusの判定において問題点が見いだされた。これらの問題点は、海外で同法を用いている施設と連携して、標準化を図る必要がある。次年度は、造血幹細胞移植実施例について、MRI画像のcentral reviewを実施する予定である。

3テスラ磁気共鳴画像による神経軸索機能解析

拡散強調画像における拡散不等方性の定量的解析を行い、軸索機能の解析を行った。正常群、ALD群4例(Adrenomyeloneuropathy 2例、成人大脳型1例、小児型1例)について拡散強調画像を撮像し、内包後脚部・脳梁膨大部を関心領域として拡散テンソルの楕円体表記およびラムダチャート解析を行った。成人大脳型ALD患者の内包後脚部および小児型ALD患者の大脳膨大部において正常群で認められる不等方性が失われ、ラムダチャート上ではisotrache lineに沿って、isotropic lineに近づく方向への変移が認められた。一方、AMN患者では2例とも変移は認められず、ALDの神経軸索機能異常を視覚的かつ定量的に把握できることが示された。

ALD例の神経心理学的評価に関する研究

Moserらの提案を参考にして、小児神経心理学の検査バッテリーを考案した。このバッテリーを用いて、骨髄移植実施例2例について、実施可能性と有用性、妥当性について検討を行った。臨床場面では時間の制約や、被検者の疲労など問題点に配慮しながら工夫を重ね、多項目の検査を実施することができた。2症例は、中枢性聴覚障害など特徴的な検査結果を示し、神経生理学的指標、画像診断学的指標との照合も重要であると考えられた。小児が対象であること、疾患の性質上、長期的・継続的な観察が必須であり、適切に実施できる小児神経心理学・生理検査システムの早急な確率が必要であると考えられた。

ALDに対する造血幹細胞移植における前処置に関する検討

ALDに対する造血幹細胞移植における前処置について検討を行い、無症状期の血縁者間移植時はBusulfan (BU) + CY (cyclophosphamide) + ATG、非血縁者間移植時は上記に加えて TLI (total lymphoid irradiation) またはTAI (thoraco-abdominal irradiation) を、神経症状発症後の血縁者間移植では CY + L-PAM (melphalan) / Fludarabine/Thiotepa + ATG + TLI/TAI、非血

縁者間移植ではL-PAN/Fludarabine/Thiotepa + ATG +TBI (Brainsparing) を実施することが望ましいと考えられた。

ALDにおける極長鎖脂肪酸代謝障害の研究

ALD細胞とミクログリアの混合培養を行ったところ、極長鎖脂肪酸の減少が認められた。この効果の発現には、細胞同士の直接接触が必要であった。混合培養後のALD細胞ではALDタンパクの発現や、極長鎖脂肪酸の β 酸化活性の上昇も認められず、正常細胞による極長鎖脂肪酸の除去あるいはALD細胞における極長鎖脂肪酸の合成抑制の可能性が考えられた。ALD患者線維芽細胞を用いて、lovastatin存在下(5 μ M)に極長鎖脂肪酸の変化についての検討を行ったところ、極長鎖脂肪酸の低下は観察されなかった。lovastatinの作用機序についてはさらに検討が必要である。ALD遺伝子産物(ALD protein, ALDP)の過剰発現系を確立した。野生型ALDP過剰発現細胞では極長鎖脂肪酸 β 酸化が亢進したが、EAA-like motifに変異を持つ過剰発現細胞ではその β 酸化が抑制された、一方C末端にHis-tagを付加したALDPを単離精製し、ALDPがATPase活性を持つことを明らかにした。極長鎖脂肪酸代謝に関与する可能性のある新規長鎖脂肪酸アシルCoA合成酵素 (lipidosin, Lpd)を同定し、その機能について検討を加えた。LpdはヒトおよびマウスにおいてALD標的器官特異的な発現パターンを示すことが明らかになった。ショウジョウバエにおけるLpdホモログの欠損は神経変性および極長鎖脂肪酸の蓄積というALDに類似した表現型を示すことが報告されており、LpdはALDにおける、組織特異的障害発症機序に関わる介在因子である可能性が示された。また特別講演いただいた秋田大学の稲垣先生のオリゴデンドロサイト特異的な新しいABC蛋白は、本症の発症機序を考えるうえで、新たな可能性を示唆するものとして注目された。

ワークショップ「Therapeutic Approaches For X-adrenoleukodystrophy」の開催

lovastatinによる極長鎖脂肪酸低下作用を発見したDr. Inderjit Singhを招聘してワークショップを行い、lovastatinの作用機序、ALDの病態機序についての検討を行った。lovastatinの体内動態、脳への移行などに問題点があることが指摘された。また、lovastatinの持つ抗炎症作用なども治療効果発現の上で重要ではないかと指摘された。

IV 結論

ALDの自然歴については、二次調査が実施され、143名のALD症例を把握することができた。平成13年度にさらに詳細な検討を加え、ALDの自然歴に関する詳細な解析を行う予定である。ALDの国際共同治験(Multicenter Therapeutic Trials of X-linked Adrenoleukodystrophy) 実施に向けて

の問題点についての検討を行った。今年度はその中でも、神経心理学的検査、MRI画像のcentral reviewについて検討を行った。その結果、小児神経心理学のバッテリーが作成され、十分に実施可能であること、ALDに特徴的な中枢性聴覚障害の存在が見いだされた。MRI画像のcentral reviewについては、評価の標準化の上で問題点の存在が指摘されたが、これらの問題点についての標準化作業を行うことにより実施可能であることが示された。平成13年度は、このcentral reviewのシステムを用いて、これまでに行われた造血幹細胞移植実施例についてのMRI画像のcentral review を実施する予定である。ALDにおける極長鎖脂肪酸代謝異常について、詳細な生化学的検討を行い、ALDPの生理機能についての重要な知見が得られた。lovastatinの作用機序については、極長鎖脂肪酸の代謝改善作用についてはさらに検討を加える必要性が指摘され、平成13年度にさらに検討を加える予定である。

II. 分担研究報告

副腎白質ジストロフィー全国疫学調査結果について

鈴木康之

岐阜大学医学部小児科

本邦における副腎白質ジストロフィー (ALD) の全国疫学調査を実施し、頻度、臨床経過 (自然歴) を解析した。全国の 200 床以上の医療機関 (内科、小児科、精神科など 4802 診療科) における 1990-1999 年の ALD 患者数は 286 名、99 年 1 年間では 113 名で、推計患者数は 185 名であった。二次調査の回答患者数は 143 名で、小児型 41 名、成人大脳型 34 名、AMN27 名、思春期型 14 名、小脳脳幹型 8 名、発病前男児 8 名で、従来考えられていたよりも ALD 患者数は多く、患者頻度は男子 3-4 万人に 1 名と推計された。また従来の調査に比べ小児より成人患者が多く、欧米の報告に類似した結果となった。これらのデータは ALD の新たな治療法を評価する際に有用と期待される。

骨髄移植 ALD 例の MRI 像の Central Review にむけて

辻 省次

新潟大学脳研究所神経内科

Loes score を用いた ALD の MRI の治療判定を目的として、Loes score の実際と問題点を明らかとする目的で、独立した 2 reviewer により判定を行った。Reviewer 間で判定にばらつきの出やすい箇所は Visual pathway, Pyramidal system, atrophy の判定であることが明らかとなった。また、Myers's loop, trapezoid body, anterior thalamus の判定に於いて問題点が見出された。今回明らかとなった問題点につき同法を用いている施設と連絡をとり共通した判定基準を設立する。来年度は本班会議を中心として本邦に於ける BMT 症例において MRI を送付していただき Central Review を行い本治療の有効性を判定することで同意を得た。

副腎白質ジストロフィー症児への神経心理学的診断アプローチ —治療研究のための検査バッテリーの提案—

加我牧子

国立精神・神経センター部長

堀口寿広¹⁾、中村雅子²⁾、稲垣真澄¹⁾、白根聖子¹⁾

堀本れい子¹⁾、佐田佳美¹⁾、佐々木匡子¹⁾、昆かおり¹⁾

¹⁾国立精神・神経センター

²⁾東京大学医学部耳鼻咽喉科

小児副腎白質ジストロフィー症 (ALD) の発症や治療効果の判定に神経心理学的評価が有用で、全般的知能、言語機能、視覚認知、聴覚認知、構成能力、記銘・記憶力、注意実行機能など項目別に評価する必要があるとされる。我々は本邦において実施可能で有用な検査項目を確立するため Moser らの提案を参考に検査バッテリーを立案した。このバッテリーを東海大学で骨髄移植療法を受けた 2 症例に応用し、実施可能性と有用性・妥当性を検討した。臨床場面では時間の制約があったが、多くの専門スタッフが対象児の意欲や疲労状態をみながら工夫を重ね、多項目の検査を進めることができた。2 症例は中枢性視聴覚障害など特徴的な検査結果を示し、神経生理学的指標、画像診断学的指標との照合も重要と考えられた。小児が対象であること、疾患の性質上、長期的・継続的な観察が必須であり、適切に実施するための神経心理・生理検査システムを早急に確立していく必要がある。

副腎白質ジストロフィー症に対する造血幹細胞移植の際の前処置に関する検討

加藤剛二

名古屋第一赤十字病院小児血液腫瘍科

副腎白質ジストロフィー症では造血幹細胞移植が現時点での唯一有効な治療法とされているがその施行時には前処置中の神経症状の急速な悪化や生着不全等の重大な問題点を包含している。これらの問題点を解決し安全で有効な造血幹細胞移植を施行するためにはその前処置薬剤として Busulfan を避けかつ L-PAM、Fludarabine、Thiotepa 等の薬剤を使用する事が望ましいと考えられる。具体的には無症状期の血縁者間移植時は Busulfan(BU)+CY(cyclophosphamide)+ATG、非血縁者間移植時は上記に加えて TLI(total lymphoid irradiation)又は TAI(thoraco-abdominal irradiation)を、神経症状発症後の血縁者間移植では CY + L-PAM(melphalan)/Fludarabine/Thiotepa + ATG+TLI/TAI、非血縁者間移植では L-PAM/Fludarabine/Thiotepa + ATG + TBI(Brainsparing)を施行する事が望ましいと考えられる。

骨髄移植後長期に経過観察中の2例の ALD 患児における精神発達評価

加藤俊一

東海大学小児科

副腎白質ジストロフィー(ALD)に対して骨髄移植を行い長期間にわたって経過を観察している2例において、精神発達の評価を繰り返し行い骨髄移植の効果について判定をした。精神発達の評価には鈴木・Binet 式知能検査を用い、知能因子毎にサブカテゴリー化することによって Wechsler 法に準じた評価を試みた。症例1においては移植前と移植後合計7回、症例2においては3回の検査を実施し、Wechsler 法と同等の評価が可能であり、MRIの所見とも関連していた。Binet 法は短時間で行える簡便な検査法であり、全身状態の不良な時期や、遠方からの外来受診時でも行える利点がある一方で、Wechsler 法のような緻密な評価は困難である。今後 Wechsler 法を同時に実施しながら両者を比較検討したい。

3 テスラ超高磁場磁気共鳴画像によるラムダチャート解析を用いた神経索機能解析

～副腎白質ジストロフィーへの適用～

寺島健史^{1,2}, 松澤 等¹, 小野寺理²

辻 省次², 中田 力¹

1 新潟大学脳研究所脳機能解析学

2 新潟大学脳研究所神経内科

拡散強調画像による拡散不等方性の定量的解析法であるラムダチャート解析を用いて、副腎白質ジストロフィー(ALD)での神経索機能解析を試みた。正常群およびALD群4例(Adrenomyeloneuropathy2例、成人大脳型1例、小児1例)、および筋萎縮性側索硬化症などそのほかの患者群について拡散強調画像を撮像し、内包後脚部・脳梁膨大部を関心領域として拡散テンソルの楕円体表記およびラムダチャート解析を行った。成人大脳型ALD患者の内包後脚部および小児ALD患者の脳梁膨大部において正常群で認められる不等方性拡散が失われ、ラムダチャート上では isotrace line に沿って isotropic line に近づく方向への変移が認められた。AMNでは2例とも変移は認められず不等方性拡散は保たれていた。ラムダチャート解析により、ALDでの神経索機能異常を視覚的かつ定量的に把握できることが確認できた。

培養細胞系を用いたALD代謝障害の治療

山田 猛

九州大学神経内科

副腎白質ジストロフィー(ALD)の治療法として有用性が示されている骨髄移植の治療効果の発現機構を明らかにするために、正常細胞がALD細胞の代謝障害を是正するかどうかを調べた。Lovastatinの極長鎖脂肪酸(VLCFA)の蓄積改善効果の追試験を行った。ALD細胞とミクログリア様細胞N9との混合培養により、ALD細胞のVLCFAが減少した。この効果発現には細胞同士の直接接触が必要であった。混合培養後のALD細胞中にはALD蛋白は検出されず、VLCFAのβ酸化活性の上昇もみられなかったことから、VLCFAの減少効果は正常細胞によるVLCFAの除去あるいはALD細胞におけるVLCFAの合成抑制が考えられた。ALD患者線維芽細胞に5μM lovastatinを添加して培養しても、VLCFA蓄積の改善効果は確認できなかった。Lovastatinの臨床応用についてはさらに検証を進める必要がある。

ALDP の機能解析ならびに大量発現の試み

今中 常雄
富山医科薬科大学・薬学部

ALD の原因となるペルオキシソーム ABC タンパク質 ALDP の機能解析を目的として、ALDP 安定過剰発現 CHO 細胞の作製ならびに昆虫細胞での大量発現を試みた。野生型 ALDP 過剰発現細胞では極長鎖脂肪酸 β 酸化が亢進したが、EAA-like motif に変異をもつ過剰発現細胞ではその β 酸化が抑制された。一方、C 末端に His-tag を付加した ALD 遺伝子を導入したウイルスを作製し、昆虫細胞に感染させることにより、ALDP を大量に発現させることが可能になった。可溶化後、ALDP は単一タンパク質として精製された。また ALDP は ATPase 活性を有することが明らかになった。ALDP は極長鎖脂肪酸 β 酸化を制御し、EAA-like モチーフ、ATP 結合とその加水分解に関与する Walker A、B モチーフが機能上重要であることが示唆された。今後プロテオリポソーム系を用い、ALDP の詳細な機能解析が望まれる。

ALD の発症における新規遺伝子リポドーシンの機能解析

橋本 有弘
三菱化学生命科学研究所

ヒト副腎白質ジストロフィー(X-ALD)の原因遺伝子 ALDP は広範な組織で発現しており、X-ALD における組織特異的障害の発症には未知の介在因子の関与が想定されている。私達は長鎖脂肪酸アシル Co シンターゼ活性を有する新規遺伝子リポドーシン (lipidosin, Lpd) を単離・同定した。Lpd は構造上、既知の長鎖脂肪酸アシル CoA シンターゼとは異なる新しいタンパク質ファミリーに属するものと考えられ、ヒトおよびマウスにおいて ALD 標的器官特異的な発現パターンを示すことが明らかになった。ショウジョウバエにおける Lpd ホモログの欠損は、神経変性および超長鎖脂肪酸の蓄積というヒト ALD に類似した表現型を示すことが報告されており、Lpd は ALD における組織特異的障害発症機序に関わる介在因子の有力な候補分子であると考えられる。

Ⅲ. 分担別報告

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

副腎白質ジストロフィーの全国疫学調査結果について

分担研究者 鈴木康之（岐阜大学医学部小児科）
研究協力者 下澤伸行（岐阜大学医学部小児科）
竹本靖彦（岐阜大学医学部小児科）
玉腰暁子（名古屋大学大学院医学研究科社会生命科学）

研究要旨

本邦における副腎白質ジストロフィー（ALD）の全国疫学調査を実施し、頻度、臨床経過（自然歴）を解析した。全国の200床以上の医療機関（内科、小児科、精神科など4802診療科）における1990-1999年のALD患者数は286名、99年1年間では113名で、推計患者数は185名であった。二次調査の回答患者数は143名で、小児型41名、成人大脳型34名、AMN27名、思春期型14名、小脳脳幹型8名、発病前男児8名で、従来考えられていたよりもALD患者数は多く、患者頻度は男子3-4万人に1名と推計された。また従来調査に比べ小児より成人患者が多く、欧米の報告に類似した結果となった。これらのデータはALDの新たな治療法を評価する際に有用と期待される。

A. 研究目的

副腎白質ジストロフィー（ALD）は学童期に中枢神経系の脱髄と副腎機能低下をきたす予後不良のX染色体連鎖劣性遺伝病であるが、治療法は確立されておらず、臨床経過（自然歴）についても詳細な検討は未だなされていない。今年度、我々は本邦におけるALDの全国疫学調査を実施し、頻度、臨床経過（自然歴）を明らかにしたので報告する。

B. 研究方法

一次調査は全国の200床以上の医療機関の内科、神経内科、小児科、小児神経科、精神科、特殊病院（合計4802診療科）を対象に、過去10年間（1990-1999）のALD患者数を調査した。

二次調査は患者ありと回答のあった施設に二次調査票を送り、病型、家族歴、既往歴、臨床所見、検査所見、治療などについて記入を依頼した。

（倫理面での配慮）

二次調査では個人名が特定できないように充分配慮した。

C. 研究結果

1) 一次調査結果（表1）：回収率53.6%で10年間の受療患者数合計は286名、99年1年間では113名であった。推計患者数185名（95%信頼区間155-215名）であった。
2) 二次調査結果：一次調査で患者ありと回答のあった161施設に対して二次調査を行い、109施設から143名の回答を得た。病型別患者数（表2）では小児ALDが最も多かったが、全体に占める割合は過去の調査に比べ低下していた。成人大脳型は従来データに比し増加が著しく、AMNは3位の頻度であった。小脳脳幹型も8例認められた。発病から診断までの期間は小児型で平均約1年、成人の各病型はかなりの長期間を要していた（表3）。病型別の初発症状は表4に示すとおりである。地域別患者数は北海道4名、東北14名、関東28名、中部38名、関西18名、中国・四国7名、九州26名であった。年度毎の患者発生数は約20名と推測され、患者頻度は男子3-4万人に1名と推計された。

D. 考察

1980-1989年の疫学調査における一次調査のALD患者数は131名で、二次調査回答数は59名であった。この10年間にALDの診断と認知が進んだことが推測された。また予想よりも成人患者が多い事が明らかになったが、これは欧米の報告と一致し、患者頻度の推計値もほぼ欧米のデータに一致した。

E. 結論

ALD各病型の頻度と自然歴について明らかにする事ができた。現在、各病型毎に症状の進行経過など、より詳細な自然歴を解析しており、来年度には報告する予定である。これらはALDの新たな治療法を評価する際に必須のデータになると期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Suzuki Y, Isogai K, Teramoto T, Tashita H, Shimozawa N, Nishimura M, Asano T, Oda M, Kamei A, Ishiguro H, Kato S, Ohashi T, Kobayashi H, Eto Y, Kondo N: Bone marrow transplantation for the treatment of X-linked adrenoleukodystrophy. *J Inherit Metab Dis* 23:453-458, 2000
- 2) Zhang Z, Suzuki Y, Shimozawa N, Kondo N: Rapid diagnosis of peroxisome biogenesis disorders by means of immunofluorescence staining of buccal smears. *Ann Neurol* 47:836-837, 2000
- 3) Imamura A, Shimozawa N, Suzuki Y, Zhang Z, Tsukamoto T, Fujiki Y, Orii T, Osumi T, Wanders RJA, Kondo N: Temperature-sensitive mutation of PEX6 in peroxisome biogenesis disorders in complementation group C (CG-C): comparative study of PEX6 and PEX1. *Pediatr Res* 48:541-545, 2000
- 4) Imanaka T, Aihara K, Suzuki Y, Yokota S, Osumi T: The 70kDa peroxisomal membrane protein (PMP70), an ATP-binding cassette transporter. *Cell Biochem Biophys* 32:

131-138, 2000

- 5) Suzuki Y, Imamura A, Shimozawa N, Kondo N: The clinical course of childhood and adolescent adrenoleukodystrophy before and after Lorenzo's oil. *Brain & Development* (in press)
- 6) Suzuki Y, Shimozawa N, Imamura A, Fukuda S, Zhang Z, Orii T, Kondo N: Clinical, biochemical, genetic aspects and neuronal migration in peroxisome biogenesis disorders. *J Inherit Metab Dis* (in press)

2. 学会発表

- 1) 鈴木康之：本邦におけるAdrenoleukodystrophyの骨髄移植の現状。第42回日本小児神経学会総会、2000年6月、大阪
- 2) 今村淳、下澤伸行、鈴木康之、近藤直実：ペルオキシソーム欠損症軽症型患者細胞における温度依存的可逆性と新しい温度感受性変異の同定。第42回日本小児神経学会総会、2000年6月、大阪
- 3) Suzuki Y: Clinical, biochemical, genetic aspects and neuronal migration in peroxisome biogenesis disorders. 8th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, 2000.9. Cambridge, UK
- 4) Suzuki Y, Zhang Z, Shimozawa N, Nakano K, Osawa M, Itoh M, Kondo N: D-bifunctional protein deficiency with a missense mutation in the dehydrogenase domain. 8th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, 2000.9. Cambridge, UK
- 5) 鈴木康之、張 忠義、下澤伸行、伊藤雅之、中野和俊、宇根瑞穂、近藤直実：胎児腹水と羊水過多を認めたD-Bifunctional Protein 欠損症の分子病態。第43回日本先天代謝異常学会、2000年10月、東京
- 6) 竹本靖彦、鈴木康之、堀部亮子、今村淳、下澤伸行、近藤直実：ペルオキシソーム病の新スクリーニングシステム：極長鎖脂肪酸、プラスマローゲン、フィタン酸、高度不飽和脂肪酸の一斉分析。第43回日本先天代謝異常学会、2000年10月、東京

G. 知的所有権の取得状況

なし

表 1

ALD疫学一次調査：集計結果

	調査数	回収率	報告患者数		
			'90-'99	'99	
内科・ 神経内科	200床規模 300床規模 400床規模 500床規模 大学（内科） 大学（神経内科） 小計	652 497 211 255 279 49 2143	41.7% 46.1 52.1 53.7 67.0 81.6 49.4	12 9 8 32 24 69 154	5 7 4 18 8 16 58
小児科・ 小児神経科	200床規模 300床規模 400床規模 500床規模 大学 小計	545 39 185 222 121 1471	59.3 68.1 71.9 65.3 79.3 65.9	16 12 4 21 47 100	7 7 1 10 18 43
精神神経科 特別病院	1111 77	44.9 82.3	21 11	7 5	
総計	4802	53.6	286	113	

表 2

ALD 二次調査：病型別患者数

病型	患者数	発病年齢		前回調査時の患者数 (1980 - 1989)
		平均 (範囲)		
小児ALD	41名	7.3 (2-10才)		32名
成人大脳型	34	36.8 (22-58)		8
AMN	19	30.5 (14-44)		8
思春期型	14	14.8 (11-22)		7
小脳脳幹型	8	37.0 (17-48)		4
AMN + 成人型	8	30.6 (18-52)		
発病前男児	8			
合計	132名			59名

表 3

ALD 二次調査：発病～診断までの期間

病型	発病～診断までの期間		
	1年未満	1年以上	平均
小児ALD	15例	22例	1.0年
成人大脳型	2	30	4.2
AMN	2	14	6.0
思春期型	3	9	2.6
小脳脳幹型	1	7	3.2
AMN + 成人型	1	6	8.7

表 4

ALD 二次調査：初発症状

病型	小児	思春期	成人	AMN	小脳脳幹
記憶力低下	7		6		1
学習障害	11	1	1	(1)	
精神症状	3	2	17		1
視力低下	8	6	2	(1)	
聴力低下	3	2			
歩行障害	3	5	16	26	6
失調	1				1
感覚障害		2	1	2	1
膀胱障害			2		
痙攣発作	4	1			
副腎不全	1	1	1		1
斜視	3				

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

骨髄移植 ALD 例の MRI 像の Central Review にむけて

分担研究者 辻 省次 新潟大学脳研究所神経内科
研究協力者 小野寺 理¹⁾ 岡本 浩一郎²⁾
¹⁾ 新潟大学脳研究所神経内科
²⁾ 新潟大学医学部附属病院放射線科

研究要旨

Loes score を用いた ALD の MRI の治療判定を目的として、Loes score の実際と問題点を明らかとする目的で、独立した 2 reviewer により判定を行った。Reviewer 間で判定にばらつきの出やすい箇所は Visual pathway, Pyramidal system, atrophy の判定であることが明らかとなった。また Myers's loop, trapezoid body, anterior thalamus の判定に於いて問題点が見出された。今回明らかとなった問題点につき同法を用いている施設と連絡をとり共通した判定基準を設立する。

A. 研究目的

昨年度本班会議において本邦に於る ALD18 例（発症者 14 例、未発症者 4 例）の造血幹細胞移植例の詳細が発表された。ALD の造血幹細胞移植例はまだ例数は少なく、かつ重症例がおおいが、本治療法は本邦に於いても ADL 小児例に対して期待される治療法と考えられた。しかし、その治療効果の判定は各施設間でばらつきがあり、できるだけ統一された治療効果判定基準の設立が望まれた。治療効果を判定基準としては、神経心理学検査、画像による検索が重要と考えられる。画像の判定

は検者による判断のばらつきを防ぐために Central Review により判断されることが望ましいとされる。本邦に於る造血幹細胞移植の治療成績を判定するために、造血幹細胞移植を施行された ALD 例の MRI 像の Central Review にむけてそのインフラを整備し、Central Review を実現させることを目的とする。

B. 研究方法

本学にて診断された ALD 5 例に於いてその MRI 像を 2 名が各々独立して判定する。判定には Loes の方法を用い

る。判定の一致性、Loes 法の問題点につき検討を加える。

(倫理面での配慮)

本研究で対象となった患者情報に関しては研究過程及び研究成果発表の段階に於いて厳密に守られた。

C. 研究結果

Reviewer 間での相違は 1.75/34 であった。各 reviewer 間で異なっていた代表的な箇所は Visual pathway, Pyramidal system であった。Visual pathway では特に Lateral geniculate body の判定が問題となった。加えて Meyer's loop と Optic radiations の判別も困難と考えられた。Pyramidal system では internal capsule の判定に混乱があった。さらに実際の判断上 trapezoid body、anterior thalamus の捉え方が問題となった。また atrophy の判定に関しては reviewer 間の

consensus が必要であり、Central review の必要性が強調された。

D. 考察

Loes 法は国際的に ALD の判定に用いられてつつある方法であり、現在本学会議で進行中の国際共同治験を推進する上でもこの方法による治療効果判定の標準化が重要である。今回、判定上問題となった箇所に関しては Loes に実際に問い合わせることにより判定基準の統一化を図り、本邦に於いても Loes score による治療判定を可能にする。来年度は本学会議を中心として本邦に於る BMT 症例において MRI を送付していただき Central Review を行い本治療の有効性を判定することで同意を得た。

Loes DJ, *et al.* Adrenoleukodystrophy: A Scoring Method for Brain MR Observations. *AJNR* 15:1761-1766, Oct 1994

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

副腎白質ジストロフィーの治療法開発のための臨床的及び基礎的研究
副腎白質ジストロフィー症児への神経心理学的診断アプローチ
—治療研究のための検査バッテリーの提案—

分担研究者 加我牧子 国立精神・神経センター部長

研究協力者堀口寿広¹⁾、中村雅子²⁾、稲垣真澄¹⁾、白根聖子¹⁾、堀本れい子¹⁾

佐田佳美¹⁾、佐々木匡子¹⁾、昆かおり¹⁾、加藤俊一³⁾

1) 国立精神・神経センター、2) 東京大学医学部耳鼻咽喉科

3) 東海大学医学部小児科

研究要旨 小児副腎白質ジストロフィー症（ALD）の発症や治療効果の判定に神経心理学的評価が有用で、全般的知能、言語機能、視覚認知、聴覚認知、構成能力、記憶・記憶力、注意実行機能など項目別に評価する必要があるとされる。我々は本邦において実施可能で有用な検査項目を確立するため Moser らの提案を参考に検査バッテリーを立案した。

このバッテリーを東海大学で骨髄移植療法を受けた2症例に応用し、実施可能性と有用性・妥当性を検討した。臨床場面では時間の制約があったが、多くの専門スタッフが対象児の意欲や疲労状態をみながら工夫を重ね、多項目の検査を進めることができた。

2症例は中枢性視聴覚障害など特徴的な検査結果を示し、神経生理学的指標、画像診断学的指標との照合も重要と考えられた。小児が対象であることと、疾患の性質上、長期的・継続的な観察が必須であり、適切に実施するための神経心理・生理検査システムを早急に確立していく必要がある。

A. 研究目的

小児の副腎白質ジストロフィー（ALD）に対する治療時期決定の補助診断と治療効果判定には神経心理学的検査が有効であり、全般的知能、言語機能、視覚認知、聴覚認知、構成能力、記憶・記憶力、注意実行機能など項目別に評価する必要があるとされている。私たちは本邦で実施可能かつ有用な小児の神経心理学的検査バッテリーを確立することを目的として研究を行った。

B. 研究方法

国際比較を可能にするために、Moser らの提案したテストバッテリーをもとに項目を立案した。すなわち 1) 欧米で広く使用されている検査を選択すること、2) 進行性・退行性疾患を有する小児に対する検査であるため患児の協力が得られなくとも他覚的に評価できる方法を取り入れることを前提とした。また対象は東海大学で骨髄移植治療を受け、ほぼ確実にドナー骨髄の生着が確認されている小児を加藤俊一分担研究者より紹介して頂き、我々の提案した検

査項目を応用した。複数の検査項目につきその実施の可能性と有用性・妥当性を検討するとともに2例の神経心理学的病態の把握を行うことにした。

（倫理面での配慮）一連の検査の実施に際しては、検査の目的と内容の説明を十分行い、保護者ならびに本人の了解を得た。

C. 研究結果

（1）検査バッテリーの提案

1. 神経心理学的検査

神経心理学的検査プロフィールとして全般的知能、言語機能、視聴覚認知、視聴覚空間認知、視覚運動・構成能力、視覚性記憶・記憶力、言語・聴覚性記憶・記憶力、注意実行機能検査等の項目を選択した。

1) 全般的な知能

Wechsler 式の知能検査(WPPSI, WISC-III, WAIS-R)を施行する。

2) 言語機能

発語の流暢性として、語の列挙を検査する。一定時間内に動物と食べ物の名前をできるだけ