

200/0874

ライソゾーム病の病態の解明及び治療法の
開発に関する研究

平成13年度厚生科学研究費補助金
(特定疾患対策研究事業)

研究報告書

平成14年3月

主任研究者 衛藤義勝

目次

はしがき	1
研究組織	2
総括研究報告	
*ライソゾーム病の病態解明及び治療法の開発に関する研究	衛藤 義勝 3
分担研究報告	
*ライソゾーム病の本邦における実態調査	大橋 十也 10 井田 博幸ほか
*治療可能なライソゾーム病の疫学に関する研究 -Gaucher病、Fabry病に関して-	大和田 操 12
*遺伝性ムコ多糖症患者のQOLに関する基礎検討	鈴木 康之ほか 15
*神経内科領域におけるライソゾーム病	辻 省次 16
*リソゾーム病のスクリーニング法の開発に関する研究	北川 照男ほか 18
*ライソゾーム病の病因、病態の解析、治療	田中 あけみ 24
*当科におけるゴーシェ病4例の酵素補充療法について	高柳 正樹 28
* Gaucher病患者に対する酵素ほ補充療法の治療効果に関する臨床的研究	芳野 信 30
*ライソゾーム病の遺伝子治療に関する研究	島田 隆 33
*ライソゾーム病の病態の解明及び治療法の開発に関する研究 -5型AAVベクターによるacid maltase ノックアウトマウスへの遺伝子導入の検討-	辻野 精一 38
*ライソゾーム病の新しい治療法に関する研究	鈴木 義之 40
*ライソゾーム病の病因、病態解析、治療	難波 栄二 42
*ライソゾーム病の神経障害に対する治療法の開発に関する研究	大野 耕策 44
*ファーバー病（酸性セラミダーゼ欠損症）の病態解明	乾 幸治 47
*GM2 ガングリオシドーシスO異型の構造生物学的研究	桜庭 均 49
*ライソゾーム病の病態の解明及び治療法の開発に関する研究 -ライソゾーム病の病因、治療、遺伝子治療-	高田 五郎 55
研究成果の刊行一覧	58

はしがき

平成 13 年度より厚生労働相の関係各位のご援助により特定疾患としてライソゾーム病 28 疾患が追加されライソゾーム病患者にとり大変な福音となりました。又同時に厚生科学研究費の助成を得てライソゾーム病患者の我国での実態調査並びに生活の QOL, 患者動態を明らかにすることにより今後のリソゾーム病患者の我国の診断指針の作成並びに治療への研究を進めていくことに本研究班は大変重要な役割を荷なうこととなります。

我が国ではリソゾーム患者の酵素補充療法が、ゴーシェ病、ファブリー病ですでに始まっておりますがその治療成果の現状、並びに今後の方向性に関して本研究班を通じて明らかにすると共に今後ハーラー症候群、ハンター症候群等の先天性ムコ多糖症への酵素補充療法、また早期に患者を治療する為のスクリーニング法の開発、神経障害等への治療法をあきらかにすることにより、更にライソゾーム病患者の QOL を上げる為に本研究班の研究成果を挙げることを期待いたしております。

初年度は我が国に於けるライソゾーム病患者の実態を明らかにし、又ゴーシェ病、ファブリー病の酵素補充療法の効果を明らかにすると同時に、これらの疾患のマススクリーニング法の開発、遺伝子治療法の開発等、様々な研究の成果もあがり研究と担当して頂いた班員の研究者の方々にも深謝いたし、次年度への益々の研究成果の発展をお願い致したく存じます。

主任研究者 衛藤 義勝

平成 13 年度特定疾患研究事業ライソゾーム病の病態解明及び
治療法の開発に関する研究組織

氏名	所属	職名	分担研究課題
主任研究者 衛藤 義勝	東京慈恵会医科大学 小児科 DNA 医学研究所	教授	総括
分担研究者 大橋 十也	東京慈恵会医科大学 小児科 DNA 医学研究所	助教授	ライソゾーム病の本邦における実態調査
井田 博幸	東京慈恵会医科大学小児科	講師	ライソゾーム病の本邦本邦における実態調査
鈴木 義之	国際医療福祉大学	教授	ライソゾーム病の新しい治療法の開発
芳野 信	久留米大学小児科	教授	ライソゾーム病の補充酵素療法を検討
田中あけみ	大阪市立大学小児科	助教授	ライソゾーム病のスクリーニング法の開発 ライソゾーム病の新しい治療法の開発
島田 隆	日本医科大学生化学第 2	教授	ライソゾーム病の新しい治療法の開発
乾 幸治	大阪大学小児科	助教授	ライソゾーム病の病態の解明
高田 五郎	秋田大学小児科	教授	ライソゾーム病の病態の解明
高柳 正樹	千葉こども病院	医長	ライソゾーム病の補充酵素療法を検討
大野 耕策	鳥取大学脳神経小児科	教授	ライソゾーム病の新しい治療法の開発
大和田 操	日本大学小児科	助教授	ライソゾーム病の本邦における実態調査
辻 省次	新潟大学脳研究所神経内科	教授	ライソゾーム病の本邦における実態調査
辻野 精一	国立精神神経センター 神経研究所	室長	ライソゾーム病患者の生活調査
難波 栄二	鳥取大学遺伝子実験施設	助教授	ライソゾーム病の新しい治療法の開発
鈴木 康之	岐阜大学医学部 医学教育開発センター	教授	ライソゾーム病の新しい治療法の開発 ライソゾーム病患者の生活調査
桜庭 均	東京都臨床医学総合研究所	部長	ライソゾーム病の病態の解明
北川 照男	東京都予防医学協会	理事長	ライソゾーム病のスクリーニング法の開発

平成13年度厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
「ライソゾーム病の病態の解明及び治療法の開発に関する研究」
総括研究報告書

主任研究者 衛藤義勝 東京慈恵会医科大学教授

研究要旨

本年度の本研究班の目的は（１）ライソゾーム病の本邦における実態調査（２）ライソゾーム病患者の生活調査（３）ライソゾーム病の診断指針の作成（４）ライソゾーム病のスクリーニング法の開発（５）ライソゾーム病の酵素補充療法の検討（６）ライソゾーム病の新しい治療法の開発（７）ライソゾーム病の病態の解明、である。それぞれの分担研究者によりテーマにそった研究が行われた。（１）に関しては井田、大橋らが全国の200床以上の病院にアンケートによる一次調査を実施し少なくとも516名のライソゾーム病患者がいることが明らかになった。大和田は特にゴーシェ病、ファブリー病に関しての全国調査を2度にわたって行い両調査の比較検討を行った。辻は当該施設における成人のライソゾーム病に関して詳しい臨床検討を加えた。（２）に関しては鈴木（康）辻野がムコ多糖症、Krabbe病、Pompe病、NCLを対象にパイロット的にWeeFIMによる患者ADLの検討を行い、その有用性を明らかにした。（３）に関しては、班員全員でそれぞれの疾患につき検討を加えFabry病、Danon病で現行の診断基準に問題点のあることを確認し訂正を次年度より加えてゆくことにした。（４）に関してはムコ多糖症のDABを用いた検討を田中がパイロット的に施設限定のスクリーニングを行った。ファブリー病に関しては北川が尿中の α -galactosidase AをELISA法で測定し、そのスクリーニング法を開発した。田中らは肥大型心筋症の患者さんを血清中 α -galactosidase A活性によりスクリーニングし未診断のファブリー病を発見した。（５）に関しては芳野、高柳らがゴーシェ病で現在酵素補充療を行っている患者さんに関して臨床的検討を加えた。（６）に関しは鈴木（義）大野、難波らがケミカルシャペロン法によるライソゾーム病の治療法の有効性を明らかにした。島田、辻野らはAAVベクターを用いてそれぞれファブリー病、酸性マルターゼ欠損症のモデルマウスに遺伝子治療を行い、その有効性を明らかにした。また田中はアデノウイルスベクターを用いてGM1gangliosidosisのモデルマウスに対して遺伝子治療を行いやはりその有効性を明らかにした。（７）に関しては桜庭はGM2gangliosidosisの遺伝子変異の蛋白分子構造にあたる影響を明らかにした。乾はファーバー病の新しい遺伝子変異を同定した。高田はニーマンピック病の患者細胞において放射線誘導アポトーシスを検討しA型とB型で反応が異なることを明らかにした。

分担研究者氏名・所属施設名及び所属施設における職名

井田博幸	東京慈恵会医科大学小児科	講師
大橋十也	東京慈恵会医科大学DNA 医学研究所	助教授
鈴木義之	国際医療福祉大学	教授
芳野信	久留米大学小児科	教授
田中あけみ	大阪市立大学小児科	助教授
島田隆	日本医科大学学生化学第2	教授
乾幸治	大阪大学小児科	助教授
高田五郎	秋田大学小児科	教授
高柳正樹	千葉こども病院	医長
大野耕策	鳥取大学脳神経小児科	教授
大和田操	日本大学小児科	助教授
辻省次	新潟大学脳研究所神経内科	教授
辻野精一	国立精神神経センター神経研究所	室長
難波栄二	鳥取大学遺伝子実験施設	助教授
鈴木康之	岐阜大学医学部医学教育開発 研究センター	教授
桜庭均	東京都臨床医学総合研究所	部長
北川照男	東京都予防医学協会	理事長

A 研究目的

ライソゾーム病は、細胞内小器官であるライソゾームに存在する酵素の遺伝的欠損により、当該酵素の其質が蓄積し様々な臨床症状を呈する疾患群である。ゴーシェ病、ムコ多糖症、ファブリー病などをはじめ約30種類の疾患が知られている。現在、疾患別の全国的な人数、その患者さんのADL、QOLは明らかでない。患者さんの実数および、現在の状況を把握することにより行政面での適切な対策が可能になると同時に医学的にも患者疾患の障害進行度などの自然歴を明らかにすることが可能となる。これは酵素補充療法、骨髄移植療法などの有効な治療法

の効果判定にも重要な基礎データとなる。ライソゾーム病は特定疾患としての承認を得て医療費が補助されているが、その診断基準は臨床的に不十分なものもある。それに検討を加え改訂を加えることは患者さんの経済的負担を軽減する意味で重要である。また近年は酵素補充療法、骨髄移植療法などライソゾーム病に有効な治療法が行われている。このような治療法の実践は早期発見、早期治療であるが、疾患の特殊性からかライソゾーム病で早期に発見される症例は珍しい。その意味においてマススクリーニング法の開発は患者予後を大きく改善する可能性があり非常に有用である。一方、現行の酵素補充療法がどれくらい臨床効果を挙げているかを明らかにすることも、今後の新しく開発されるであろう治療法と比較する意味でも重要である。また現行の治療法では全く効果の認められない予後不良のライソゾーム病も数多く存在しそれらに対する新しい治療法を開発することは患者さんの QOL を大幅に改善するとともに、人道的見地からも重要である。また遺伝子レベル、蛋白レベル、細胞レベルでのライソゾーム病の分子病理を検討することは今後、治療法の選択にも大きな情報を与えるものと思われる。

B 研究方法

(1) ライソゾーム病の本邦における実態調査：

29種類のライソゾーム病を対象に200床以上の病院の対象科、合計9845診療科に一次調査票を配布した。大和田らは厚生省心身障害研究小児慢性特定疾患研究班において1980~1982年に施行した先天性代謝性蓄積症の疫学に関する研究および厚生科学研究(オーファンドラッグ開発研究事業)ゴーシェ病治療薬の開発研究班で1992~1996年に施行した全国調査の結果よりゴーシェ病、ファブリー病に関する成績を抽出して両調査の比較を行った。辻は新潟大学脳研究所神経科学部門神経内科学分野における

1964年の開設以来現在まで当該施設で診療したライソゾーム病患者に臨床的検討を加えた。

(1) ライソゾーム病患者の生活調査：

ライソゾーム病患者の QOL を WeeFIM(小児用 Functional Independence Measure, ニューヨーク州立大)を用いてパイロット的に行い、その評価を行った。症例はムコ多糖症3名 Krabbe 病2名、NCL3名、Pompe 病1名であった。

(1) ライソゾーム病の診断指針の作成：

班員全員で現在の診断指針(神経変性疾患に関する研究班、特発性心筋症に関する研究班編)を検討しその問題点を明らかにした。

(1) ライソゾーム病のスクリーニング法の開発：

モノクローナル抗体を用いての ELISA 法にて尿中 α -galactosidase A 測定することによりファブリー病がスクリーニング可能かどうかを検討した。cut-off 値設定のため健常人(1500人)、ファブリー病患者(5人)の尿を対象としてスクリーニングを行った。またファブリー病のハイリスク群である肥大型心筋症の中でファブリー病が存在するか否かを検討する目的で16例の肥大型心筋症の患者さんのリンパ球中 α -galactosidase A の測定を行った。ムコ多糖症については DAB 法にて9,254の濾紙尿をスクリーニングした。

(5) ライソゾーム病の酵素補充療法の検討：

ゴーシェ病4例(I型4例、III型1例)を対象に酵素補充療法の有効性と問題点を検討した。

(6) ライソゾーム病の新しい治療法の開発：

(ア)ファブリー病の欠損酵素である、 α -galactosidase A と acid maltase 欠損症の欠損酵素である acid maltase を発現する

AAV ベクターを作成し、それぞれのモデルマウスに筋肉内投与した。投与後、様々な治療効果を検討した。

- (イ) GM1 ガングリオシドーシスの欠損酵素である β -galactosidase を発現するアデノウイルスベクターを作成した。それを経静脈的に生後1～2日のモデルマウスに投与し、治療効果を検討した。
 - (ウ) ケミカルシャペロンとなりうる新しい物質 GalX、GluX、1-デオキシガラクトノジリマイシン、N-(n-ブチル)-デオキシガラクトノジリマイシンを特定の遺伝子変異をもつ GM1 ガングリオシドーシス、モルキオ B 病、ゴーシェ病の培養皮膚線維芽細胞に添加し酵素活性の上昇を検討した。
- (7) ライソゾーム病の病態の解明：
- (ア) ファーバー病の遺伝子解析：日本人ファーバー病患者2例のセラミダーゼ活性を測定し診断を確実にし、その後常法に従い遺伝子変異を同定した。発現実験も行った。
 - (イ) ヘキササミニダーゼ β サブユニットの3次元構造をホモロジーモデリングで構築した。変異蛋白質におけるアミノ酸置換による構造的な影響は野生型蛋白質の構造と重ね合わせた後、対応する原始間の距離を測定することにより評価した。
 - (ウ) 正常およびニーマンピック病の患者細胞に UV-C、過酸化水素刺激でアポトーシスを誘導し acid sphingomyelinase のアポトーシスへの関与に検討を加えた。放射線刺激により異なるタイプのニーマンピック病でアポトーシスを誘導が異なるか否かも検討した。

C 研究結果

(1) ライソゾーム病の全国調査では2933の回答が得られた。回収率は29.8%であった。患者がいたと答えた施設は247施設で回答を得られた施設の8.2%であった。患者総数は516例であり、一番多い疾患はハンター病で100例、2番目はファブリー病で91例あった。大和田が行った両調査の比較で、新しい調査ではゴーシェ病では2型がへり1型が増え、ファブリー病は患者数が増しており30～40歳代になると腎症状、心症状が明らかになることが確認された。辻の成人例の検討では当該施設において38年間に14例(全症例の0.2%)のライソゾーム病症例を経験した。疾患の内訳はgalactosialidosisが3家系4例、Gaucher病が2家系2例(内1名は疑い例)、metachromatic leukodystrophy(MLD)が3家系3例(内1名は疑い例)、Krabbe病が2家系2例、GM2 gangliosidosisが1家系1例、mucopolysaccharidosisはScheie症候群が1家系1例、Hunter症候群が1家系1例であった。

(2) WeeFIM による QOL の評価は6症例でおこなった。2歳4ヶ月のハンター病は総得点57点、5歳のハンター病は80点、2歳2ヶ月時に骨髄移植を行ったハーラーシャイエ病の6歳男児では満点の126点であった。Krabbe病、NCL、Pompe病は最低点であった。

(3) ライソゾーム病の診断指針の作成は現在検討中であり、当該年度は問題点を明らかにしたのみであった。ファブリー病、Acid maltase 欠損症の診断基準に問題点が指摘された。今後訂正を加える予定である。

(4) ライソゾーム病のスクリーニングではファブリー病を対象として行った。まず尿中の α -galactosidase A の安定性につき検討を加えた。摂氏4度の保存で2日間は安定であることが判明した。健常人では尿中の α -galactosidase A 活性と蛋白量は相関した。尿中、血中の酵素

量および活性は相関していた。Cut-off 値を酵素蛋白量として 3.0ng/ml としたところ敏感度 100%、特異度 96.3%であった。肥大型心筋症の患者さんにおけるスクリーニングでは1例の患者さんが発見された。ムコ多糖症の DAB を用いたスクリーニングでは今回患者は発見されなかった。

(5) ゴーシェ病における酵素補充療法の臨床効果の検討では I 型に対する効果は顕著であった。すなわち貧血の改善、血小板数の増加、肝脾腫の軽減、血中酸フォスファターゼ値、アンジオテンシン II 転換酵素活性値の改善が認められた。ただ骨に対する効果は軽微であった。また III 型において神経症状は全く改善されず、むしろ治療中にも進行した。また酵素補充療法に関係があるか否か不明であるが軽度の高尿酸血症を認めた例があった。

(6) リソゾーム蓄積症の新しい治療法の開発では大きく分けて2つのアプローチを行った。一つは遺伝子治療でありもう一つは低分子物質を用いてのケミカルシャペロン法である。AAV を用いての遺伝子治療の検討ではファブリー病と acid-maltase 欠損症を対象としてモデルマウスを用いての検討を行った。ファブリー病モデルマウスではベクターを筋肉内投与後、血清中の酵素活性は上昇し 3 2 週まで活性の上昇を維持した。各臓器においても酵素活性の上昇を認め 2 5 週間活性は維持された。蓄積物質(Gb3)に対するモノクローナル抗体を用いた検討では治療群では全く臓器に蓄積は認められなかった。これは電子顕微鏡における検討でも同様の結果であった。心エコーによる検討でも心肥大は治療群では著名に抑制された。acid-maltase 欠損症における検討では2種類の AAV ベクターを検討した。一つは 2 型由来のベクターであり、もう一つは 5 型由来のベクターである。5 型由来の AAV ベクターを用いた場合は筋肉における酵素活性は上昇し筋肉内のグリコーゲンも著名に低下

した。この効果はある程度時間的に漸減するものの 9 週後まで認められた。一方ケミカルシャペロン法の検討では 1-デオキシガラクトノジリマイシン、N-(n-ブチル)-デオキシガラクトノジリマイシン、GalX (新しい化合物) を GM1 ガングリオシド-シス、モルキオ B 病の細胞に投与したところ、特に R201C、I51T、R201H、R457Q などの若年型 G_{M1}-ガングリオシド-シスを引き起こす遺伝子異常をもつ細胞で、残存酵素活性の有意な上昇が確認できた。また GlcX(新しい化合物)でも F213I 変異をもつゴーシェ病細胞で活性の上昇を認めた。

(7) ライソゾーム病の病態解析では日本人ファバー病の酸性セラミダーゼ遺伝子変異を検索した。1例は F97E/G235R でありもう一例は ΔV96/ΔV96 であった。それぞれの変異につき Cos-1 細胞における発現実験を行い酵素活性の上昇がないことを確認した。これらの変異は mRNA の量的変化は起こさなかった。つぎに GM2 ガングリオシド-シス 0 異型の遺伝子変異(C534Y と R505Q)の蛋白質立体構造に対する影響の検討では、C543Y 変異では C534 と C551 の間のジスルフィド結合の形成が障害された。C534 はドメイン II の extra helix 上に位置し、ドメイン I に近接する。C534Y 変異により、2 つのドメインを安定化する extra helix の構造に大きな変化が起こると予想された。その結果、患者細胞においては成熟型β-サブユニットの量が著明に減少した。これにより、ヘキササミニダーゼ A および B の活性がほぼ欠損し、患者細胞内には大量の GM2 ガングリオシドが蓄積した。一方、成人型 GM2 ガングリオシド-シス 0 異型の原因となる R505Q 変異は、活性部位に影響を及ぼさないが、β-サブユニット分子の表面構造に変化を来たした。その結果、成熟型β-サブユニットの量は減少したが、少量が残存した。これにより、両酵素活性は低下したが、軽度の残存活性が認められた。患者細胞内の GM2 ガ

ングリオシド蓄積は中等度であった。ニーマンピック細胞における細胞外ストレスによるアポトーシスへの効果に関する検討では UV-C、過酸化水素による刺激では正常細胞に比べニーマンピック病細胞ではアポトーシスの誘導が抑制されていた。また放射線によるアポトーシス誘導は A 型の細胞では著名に抑制されていたが B 型細胞では正常と変わりがなかった。

D 考察

今回の一次調査よりライソゾーム病患者の数が明らかになった。現在も回答はまだ送られてきておきもう少し回収率は改善すると思う。しかしながら最終的な回収率は 30%台前半になると思われる。小児科医が勤務していない施設よりの回収率が悪いので、それらの施設を重点的に再度依頼する予定である。今回の調査で大まかな数は判明したので、次年度は 2 次調査を行う予定である。2 次調査では診断が確実であること、現在の患者さんの QOL、ADL を中心に質問をし、現在のライソゾーム病の患者さんの生活実態を明らかにし、今後なにを中心に医療を展開すればよいかの指針を作る。大和田が行ったゴーシェ病とファブリー病の 2 度にわたる全国調査の結果では 2 型ゴーシェ病が最近の調査で減っていた。これは出生前診断が積極的に行われたためであると思われた。ファブリー病は症例数が増しておりこれは近々中に本邦に酵素補充療法が導入されるため診断率が向上しているためと思われた。神経内科領域では酵素活性の低下レベルが軽度な成人期発症例の経験が多いが、GM2 gangliosidosis のように臨床像が非典型的な場合もあり、代謝性疾患を疑った場合には積極的にライソゾーム酵素活性を測定することが必要であると思われた。しかしながらこれら症例の内小児期に発症している例があり小児科医へのライソゾーム病の啓蒙が必要であると想われた。WeeFIM による QOL の評価はムコ多糖

症の場合は非常に有用と思われた。ただ今回調査した NCL、Krabbe 病、Pompe 病のように症状が進行して寝たきりになっているような症例ではすべて最低点となってしまう有効性が確認できなかった。まだある程度自立した日常生活が出来る患者さんで骨髄移植、酵素補充療法などの治療法の有効性の評価には適した方法であると思われた。ライソゾーム病の診断基準の検討ではファブリー病、acid-malate 欠損症に問題点が指摘された。次年度は改定案を作成する予定である。スクリーニング法の開発はムコ多糖症とファブリー病を対象に行った。ムコ多糖症の DAB を用いてのスクリーニングでは今回の検討では患者さんの発見には至らなかった。しかし以前同様の検討を岐阜大学のグループが行っており患者さんの発見にいたっており有用なスクリーニング法と思われる。しかしながら DAB によるスクリーニングは擬陽性、擬陰性のある程度の発生は免れずより効果的なスクリーニング法の開発が必要であると思われた。ファブリー病に関しては 2 つのアプローチを行った。一つは特定の疾患群に限定してスクリーニングを行うものでありもう一つは全てのヒトを対象として行うものである。まず特定の疾患に限ったものでは肥大型心筋症をスクリーニングし患者の発見に至った。これは直接血清の α -galactosidase A 活性を測定するものであり診断法としては確立されたものである。今後は肥大型心筋症ばかりでなく腎不全症例などもスクリーニングしてゆく予定である。一方全人口を対象としてスクリーニングする方法はまだ確立されたものはない。今回尿中 galactosidase A を ELISA 法でその酵素蛋白自体をスクリーニングする方法を検討した。本法は Cut-off 値を適切に設定することにより敏感度、特異度とも満足の行く結果であり有用と思われた。我が国では 3 歳児の健康診断の際に集団検尿が行われておりこの尿を用いてのスクリーニングが可能と思われた。ゴーシ

エ病は現在唯一ライソゾーム病で酵素補充量法が行われている疾患である。神経症状を呈しない I 型患者での治療効果は著名であったがやはり神経症状を呈する患者さん、すなわち III 型の患者さんの神経障害への効果は認められなかった。神経型の患者さんの適切な治療法の開発が必要であると思われた。AAV を用いてのファブリー病、Acid-maltase 欠損症の治療はモデルマウスに効果を認め期待できる治療法であることが判明した。今後はヒトへの応用をも視野にいれ安全性の面も含め検討を加えてゆく予定である。またケミカルシャペロン法は *in vitro* では、ある特定の遺伝子変異に関しては効果が認められた。低分子物質による治療法であるので BBB を通過することも予測されライソゾーム病の中枢神経障害を治療できるかもしれない。現在特定の遺伝子変異をもったモデルマウスの作成も進行しており、これらのマウスを用いて本法の中枢神経障害への効果を検討する予定である。病態のライソゾーム病の病態の解明であるが、遺伝子レベル、蛋白レベル、細胞レベルにおける検討がおこなわれた。一つのライソゾーム病といっても病態は異なる場合が多くその病態を明らかにすることは治療法の選択にも大きな影響をあたえる可能性があり今後も検討を加えてゆく予定である。

E 結論

ライソゾーム病の全国調査を行い、ある程度本邦における実態が明らかとなった。問題点は回収率が低かった点である。2 次調査を行うことにより患者さんの QOL を明にしてゆく予定である。この目的に今回検討した WeeFIM は有効であると思われこれを利用した調査を次年度行う。診断指針に関しては問題点が抽出されたので改訂をしてゆく。スクリーニング法は重要な課題であり今回の研究である程度有効な方法も開発された。一般人口すべてを対象とするものは重要であるが肥大型心筋症、腎不全などある程

度ハイリスク群を対象にしてゆくものも積極的に押し進める必要があると思われた。酵素補充療法に関しては今回はゴーシェ病に限ったが今後あらたに他のライソゾーム病に対しても行われる予定であり、他の治療法と比較する意味でも現時点での効果と問題点を、データとして蓄積することは重要と思われた。新しい治療法の開発ではそれぞれ遺伝子治療法、ケミカルシャペロン法と有効な治療法がマウスレベル、細胞レベルで証明された。ヒトへの応用に向けて積極的に研究を展開する予定である。最後に病態に関する様々な検討が行われ、様々な疾患の遺伝子レベル、蛋白レベル、細胞レベルでの異常が明らかとなった。

F 健康危険情報
特になし。

G 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ida H, Rennert OM, Kobayashi M and Eto Y: Effects of enzyme replacement therapy in 13 Japanese pediatric patients with Gaucher disease. *Eur J Pediatr* (2001) 160:21-25
- 2) Inui K, Yanagihara K, Otani K, Suzuki Y, Akagi M, Nakayama M, Ida H and Okada S: A new variant neuronopathic type of Gaucher's disease characterized by hydrocephalus, corneal opacities, deformed toes, and fibrous thickening of spleen and liver capsules. (2001) 138:137-9
- 3) Watabe K, Sakamoto T, Ohashi T, Kawazoe Y, Oyanagi K, Takeshima T, Inoue K, Eto Y, Kim SU. Adenoviral gene transfer of glial cell line-derived neurotrophic factor to injured adult motoneurons. *Hum Cell*. 2001 Mar;14(1):7-15.
- 4) Yokoo T, Ohashi T, Utsunomiya Y, Shen JS, Hisada Y, Eto Y, Kawamura T, Hosoya T. Genetically modified bone marrow

continuously supplies anti-inflammatory cells and suppresses renal injury in mouse Goodpasture syndrome. *Blood*. 2001 Jul 1;98(1):57-64.

- 5) Yokoo T, Ohashi T, Utsunomiya Y, Shiba H, Shen JS, Hisada Y, Eto Y, Kawamura T, Hosoya T.

Inflamed glomeruli-specific gene activation that uses recombinant adenovirus with the Cre/loxP system. *J Am Soc Nephrol*. 2001 Nov;12(11):2330-7.

- 6) Shen JS, Watabe K, Ohashi T, Eto Y. Intraventricular administration of recombinant adenovirus to neonatal twitcher mouse leads to clinicopathological improvements. *Gene Ther*. 2001 Jul;8(14):1081-7.

2.学会発表

- 1) Shen J, et al. Intraventricular administration of recombinant adenovirus to neonatal twitcher mouse leads to significant clinicopathological improvement. The 7th annual meeting of the Japanese Society of Gene Therapy, 2001
- 2) Kimura T, et al. Anti-tumor immunity induced by ex vivo retrovirus vector-mediated expression of CD40 ligand against bladder cancer. The 7th annual meeting of the Japanese Society of Gene Therapy, 2001
- 3) Shiba H, et al. Efficient cancer-selective gene transfer to hepatocellular carcinoma in a rat model using adenovirus vector with tumor embolic agents. The 7th annual meeting of the Japanese Society of Gene Therapy, 2001
- 4) Kobayashi H, et al. Successful transduction of mammalian astrocytes and oligodendrocytes using "Pseudotype" baculovirus vector. The 7th annual meeting of the Japanese Society of Gene Therapy, 2001
- 5) Yamasaki K, et al. Cell therapy for diabetes with genetically

engineered preadipocytes. The 7th annual meeting of the Japanese Society of Gene Therapy, 2001

- 6) Eto Y, et al. Adenovirus-mediated gene therapy of neonatal twitcher mice. The 4th annual meeting of the American Society of Gene Therapy, 2001

7) 沈勁松他：組換えアデノウイルスの脳室内投与による新生仔 twitcher mouse の遺伝子治療. 第43回日本小児神経学会 2001

8) 小林博司他：パキエウロウイルスを用いた哺乳類神経細胞への遺伝子導入-Sly 病遺伝子治療へ向けて. 第44回日本先天代謝異常学会 2001

9) 田嶋朝子他：ゴーシェ病の遺伝子変異について. 第44回日本先天代謝異常学会 2001

10) 沈勁松他：アデノウイルスの筋肉内投与および神経内投与による末梢神経脱髄の遺伝子治療の試み. 第44回日本先天代謝異常学会 2001

11) 湯坐有希他：同種骨髄移植を施行した遅幼児型神経性セロイドリポフスチン症の1例 第44回日本先天代謝異常学会 2001

12) 小林正久他：日本人 Fabry 病における臨床症状、遺伝子変異に関する研究 第44回日本先天代謝異常学会 2001

13) 津田隆他：ELISA システムを用いた Fabry 病のスクリーニング 第44回日本先天代謝異常学会 2001

14) 孟興麗他：ヒト由来神経幹細胞をもちいたライソゾーム蓄積症の遺伝子治療の試み 第44回日本先天代謝異常学会 2001

F 知的財産権の出願・登録状況
なし

平成13年度厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
「ライソゾーム病の病態の解明及び治療法の開発に関する研究」
分担研究者報告書

ライソゾーム病の実態調査

分担研究者 衛藤義勝 東京慈恵会医科大学小児科・DNA医学研究所
大橋十也 東京慈恵会医科大学DNA医学研究所
井田博幸 東京慈恵会医科大学小児科

研究要旨

本邦におけるライソゾーム病患者の実態を明らかにするため、全国調査を行った。まず患者数を明らかにするため一次調査を行った。対象は29種類のライソゾーム病で全国9,845の診療科に一次調査用紙を配布した。返答数は2,933であり、回収率は29.8%であった。患者ありと答えた施設は247施設で返答があったものの8.2%であった。患者数は516例であり疾患別ではハンター病が最も多く100例、ついでファブリー病の91例、ゴーシェ病の52例であった。認められない疾患はアスバラチルグルコサミン尿症、ウォルマン病であった。次年度は診断の確実性と患者のQOL、ADLを明らかにするため2次調査を行う予定である。

A. 研究目的

ライソゾーム蓄積症は非常に希な疾患であり本邦では多くの施設が少数の患者を診療しているのが実態である。そのため大きな集団におけるライソゾーム病患者の実態は不明な点が多い。特に現時点での患者さんのQOL、ADLを明らかにした報告は少ない。本研究ではライソゾーム病患者生活状態の実態調査を行う。

B. 研究方法

対象は29種類のライソゾーム病である（表1）。ライソゾーム病の全国での数を知るため全国200床以上の病院の対象診療科、合計9845診療科に一次調査表を配布した。

C. 結果

平成5年2月5日現在、2933の回答が得られた。全体としての回収率は29.8%であった。診療科別では小児科よりの回収率が最もよく49.2%であった。次に肢体不自由施設が良く42.1%であった（表1）。全体で患者がいたと答えた施設は247施設で回答を得られた施設の8.2%であった。患者総数は516例であり、やはり一施設あたり平均2人程度を診療している計算になり多くの施設が少数の患者を診療していることが確認された。疾患別の数を表2に示す。一番多い疾患はハンター病で100例、2番目はファブリー病で91例あった。上位2つの疾患はX連鎖性の疾患であり世代をまたいで発症するためと思われた。認められなかった疾患はアスバラチルグルコサミン尿症、ウォルマン病であった

D. 考察

今回の一次調査よりライソゾーム病患者の数が明らかになった。現在も回答はまだ送られてきておきもう少し回収率は改善すると思う。しかし

ながら最終的な回収率は30%台前半になると思われる。小児科医が勤務していない施設よりの回収率が悪いので、それらの施設を重点的に再度依頼する予定である。今回の調査で大まかな数は判明したので、次年度は2次調査を行う予定である。2次調査では診断が確実であること、現在の患者さんのQOL、ADLを中心に質問をし、現在のライソゾーム病の患者さんの生活実態を明らかにし、今後なにを中心に医療を展開すればよいかの指針を作る。

E. 結論

全国規模のライソゾーム病患者の一次調査を行った。合計516名の患者がいた。ハンター病、ファブリー病などが多かった。認められない疾患は2種類であった。

F. 健康危機情報

なし。

G. 研究発表

現段階では本研究に関する論文、学会発表はない。次年度行う予定である。

表1

診療科別 平成14年2月5日現在

診療科	診療科数	発送数	返答数	患者有	回収率
1 内科		1,901	427	24	22.5%
2 循環器科		1,173	247	4	21.1%
3 小児科		1,387	682	125	49.2%
4 神経内科		785	304	50	38.7%
5 血液内科		110	38	1	34.5%
6 代謝内分泌科		18	7	1	38.9%
7 整形外科		1,665	391	8	23.5%
8 皮膚科		1,321	426	14	32.2%
9 眼科		1,378	373	10	27.1%
10 腎臓内科		3	1	1	33.3%
11 肢体不自由施設入所		19	8	3	42.1%
12 肢体不自由施設通園		80	28	5	35.0%
13 入所+通園		5	1	1	20.0%
		9,845	2,933		

その他の回答診療科

腎代謝内科	1
消化器内科	1
小児神経科	3
その他(不明等)	11
	263

発送総数	9,845	診療科
返答数	2,933	診療科
回収率	29.8%	

表2

疾患別

No.	疾患名	報告患者数
1	ゴーシェ	52
2	ニーマンピックAB	2
3	ニーマンピックC	12
4	GM1ガングリオシトーシス	15
5	GM2ガングリオシトーシス	15
6	クラッペ	15
7	異染色性白質ジストロフィー	16
8	Multiple sulfatase欠損症	2
9	ファーバー	1
10	ハーラー/シャイエ	33
11	ハンター	100
12	マンフィッポ	15
13	モルキオ	28
14	マルトミー症候群	4
15	スライ	2
16	シアリトーシス	10
17	ガラクトシアリトーシス	16
18	I-cell病ムコリトーシスⅢ型	21
19	α-マンノシトーシス	6
20	β-マンノシトーシス	1
21	フコシトーシス	2
22	アスパルチルグルコサミン尿症	0
23	シトラー/神崎病	1
24	ボンベ	29
25	ウルマン	0
26	ダン	4
27	遠隔シアル酸蓄積症	2
28	セロトリボスチノーシス	21
29	フアブリー	91
		516

その他

Pycnodystosis(短アジチ欠損症)	7
Adrenoleukodystrophy	1

8

治療可能なライソゾーム病の疫学に関する研究

— Gaucher 病、Fabry 病に関して —

分担研究者 大和田操 駿河台日本大学病院小児科

【研究要旨】

我が国におけるライソゾーム病の現況を把握するために行われた2回の全国調査結果をもとにして、各症例の臨床像についての詳しい検討を Gaucher 病および Fabry 病に対して行った。1980年代までは、日本人 Gaucher 病患者の約半数は2型、即ち acute neuronopathic form であったが、1990年代の調査では2型の著しい減少と1型 (chronic non-neuronopathic form) の増加が認められた。その要因の1つとして、2型 Gaucher 病の発生予防のために行われてきた出生前診断の関与が挙げられる。一方、Fabry 病の報告は近年やや増加傾向にあるが、これには、本症に対する知識並びに診断手技の普及がかかわっているものと思われる。また、今回 Fabry 病患者の臨床経過についても調査した結果、本症の多くでは30歳以後に腎症状、40歳以後に心症状が明らかになることが確認された。

A. 研究目的

従来、治療法がなく予後不良とされていたライソゾーム病の中に、骨髄移植あるいは精製酵素の輸注などの治療法が開発されるようになったため、その対象となる疾患の早期診断法を検討するとともに、我が国における発生頻度を明らかにすることが必要となってきた。我々は、これまでライソゾーム病の診断および疫学調査にかかわってきたので、本年度は、治療法が開発された疾患の中から Gaucher 病と Fabry 病を選び、日本におけるその実態を明らかにする目的で以下の研究を行った。

B. 研究方法

1. 疫学調査

厚生省心身障研究、小児慢性疾患 (代謝、内分泌、血液系) 研究班において1980~1982年に施行した先天性代謝性蓄積症の疫学に関する研究および、厚生科学研究 (オーファンドラッグ開発研究事業)、ゴーシェ病治療薬の開発研究班で1992~1996年に施行した全国調査結果の中から Gaucher 病および Fabry 病に関する成績を抽出して両調査の比較を行った。また、これらの調査票の原本から、研究報告書には記載されていない各例の臨床的特徴を詳しく検討した。

2. 羊水診断を行った症例との比較

我々が 1974～1995 年の間に行った Gaucher 病 21 家系、25 回の胎児診断成績と、Gaucher 病患者の実態調査成績とを比較し、病型の比較を行った。

3. Fabry 病 2 次調査の分析

オーファンドラッグ開発研究班における Fabry 病の 1 次調査で症例ありとの回答を得た施設により詳しい 2 次調査を行って、本症と確定しえた男子例 39 例の特徴を検討した。また、これらに対して 2001 年度に再々調査を施行した。

C. 研究結果

1. Gaucher 病について

1982 年 (調査 1)、1995 年 (調査 2) の 2 回の調査で報告された Gaucher 病の症例数と病型を表 1 に示す。

表 1 Gaucher 病の報告例

調査時期		1982 年	1995 年
症例数		38 例	54 例
病 型	1 型	15	41
	2 型	18	2
	3 型	2	10
	不明	3	1

両調査における最大の相違点は II 型 (acute neuronopathic form) の減少であり、調査 1 で 18 例を占めていた II 型は、13 年度の調査では 2 例すぎなかった。調査 2 においても神経症状を認めた例は 12 例存在したが、そのうち 10 例は慢性の経過を辿り、5 歳以後も生存し

ていたため、従来の教科書の分類に従って 3 型とした (調査 1 における 2 型の死時期は 1 歳までが 7 例、2 歳までが 4 例、3 歳までが 2 例である)。また、1 型 (chronic non-neuronopathic form) と判定された症例の年齢分布は表 2 のようであり、調査 1 では 30 歳以上の症例はみられなかったが、調査 2 では 41 例中 9 例が 30 歳以上であった。

表 2 Gaucher 病 1 型の年齢分布

年齢 (歳)	1982 年(15 例)	1995 年(41 例)
2～5	3	8
5～10	4	7
10～15	4	7
15～20	3	5
20～30	1	5
30～40	0	4
40 以上	0	5

2. Fabry 病

調査 1 (1982 年) では 23 例、調査 2 (1996 年) では 39 例の Fabry 病が報告された。なお、調査 2 を施行した時期には、Fabry 病の亜型である cardiac variant が病型として認められており、我が国の特定の地域から多数例が報告されたが、これについては除外した報告数である。両調査で報告された臨床症状は表 3 のようであり、殆ど差はみられなかった。

表 3 Fabry 病調査時にみられた特徴

	1982 年(23 例)	1996 年(39 例)
四 肢 痛	21	32
皮 疹	19	25
眼 症 状	17	8
酵素欠損	23	39

調査2の1次調査で Fabry 病症例ありと報告された施設に対して、更に詳しい2次調査を行ったが、そのうち腎および心症状の出現時期についての設問では表4のような回答が得られた。それによると、明らかな腎および心症状が出現する時期は30歳代以降であることが確認された。これらの症例を対象として施行した3次調査では、現在までの回答率が約50%にとどまっているため、その解析結果は次年度に報告する。

表4 Fabry病2次調査

調査時年齢	20歳以下	21～30歳	31～40歳	41～50歳	50歳以上
症例数	9	14	8	5	3
蛋白尿あり	0	3	1	5	1
心不全症状	0	0	1	3	2
透析	0	0	3	1	1

D. 考察

10年余の間隔をおいて行った Gaucher 病の2回の全国調査における最も顕著な差は2型の著しい減少である。その理由を明確にするのは難しいが、その一つの要因として我が国で行われてきた本症の出生前診断の関与があるものと推測される。我々の教室でも、1974年から Gaucher 病の羊水診断を行い、現在までに21家系25回の診断を行った。その病型の内訳は2型14家系、1型6家系、3型1家系であり、2型が有意に多かった。そして、患児の発生を予防したことが、13年後の調査における2型症例の減少に関与しているものと思われる。また、調査2で30歳以上の1型が多くみられた原因の一つには、調査1で報告されていた20歳以上の症例が再び報告されたためと考

えられる。

一方、Fabry病の2度の調査では、その臨床像に殆ど差を認めなかった。3次調査は、1996年の報告例を対象として施行したため、Fabry病の自然経過を明らかにするための有用な情報を与えてくれるものと考えている。

E. 結論

我が国で行った上記2回のライソゾーム病疫学調査は hospital base の調査であり、我が国の新生児マス・スクリーニングで得られたような population base の発生頻度を得ることは困難である。しかし、調査の規模および診断基準の設定条件を考えると、これらの成績は我が国における両疾患の凡その発生頻度を示しているものと結論される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 大和田 操 ほか：わが国における Gaucher 病の実態。日児誌 104 (7): 717～722, 2000.
- 2) 大和田 操 ほか：胎児の異常と奇形——先天性代謝異常症と胎児医療の関わり。産婦人科の世界 53 (8) 749～753, 2001.
- 3) 大和田 操、北川照男：リソゾーム蓄積症 (リソゾーム病)。日本臨牀 増刊、本邦臨牀統計集 (2): 317～327, 2001.

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

遺伝性ムコ多糖症患者の QOL に関する基礎検討

分担研究者 鈴木康之（岐阜大学医学部医学教育開発研究センター）
研究協力者 祐川和子（岐阜大学医学部小児科）
近藤直実（岐阜大学医学部小児科）
折居忠夫（中部学院大学）

研究要旨

ムコ多糖症患者の QOL を評価する 1 つの方法として WeeFIM を用いて検討を行った。本法は幼児期以降の患者 QOL の評価に応用可能で、評価も比較的容易であった。また WeeFIM は従来から行われている発達指数・IQ とともに患者の運動・知的障害の評価の一助となると考えられた。

A. 研究目的

遺伝性ムコ多糖症は骨関節障害、中枢神経障害、心臓障害、聴力障害、燕下呼吸障害などをきたす遺伝性であるが、治療法は未だ確立されておらず、患者 QOL についても詳細な検討は行われていない。我々は WeeFIM（こどものための FIM: functional independence measure、ニューヨーク州立大学）を用い、ムコ多糖症の QOL に関するパイロットスタディを行った。

B. 研究方法

岐阜大学病院に通院中の 3 名のムコ多糖症患者（Hurler-Scheie 病 1 名、Hunter 病 2 名）について主治医が評価を行った。質問は運動面（A 食事、B 整容、C 清拭、D-E 更衣、F トイレ動作、G 排尿、H 排便、I-K 移乗、L 移動、M 階段）、認知面（N 理解、O 表出、P 社会的交流、Q 問題解決、R 記憶）にわかれ、各項目、完全自立 7 点、修正自立 6 点、家庭内自立 5 点、最小介助 4 点、中等介助 3 点、最大介助 2 点、全介助 1 点で評価した（最高 126 点、最低 18 点）。

C. 研究結果

症例 1（Hunter 病、2 歳 4 か月男児）：生後 9 か月にムコ多糖症マス・スクリーニングのパイロットスタディで発見された児。総得点 57 点（運動 42 点、認知 15 点）で、同年齢健常児と差を認めなかった。移動は高得点であったが、更衣・トイレ・入浴などは最大介助が必要であった。

症例 2（Hunter 病、5 歳男児）：3 歳すぎに酵素診断され、経過観察中の児。総得点 80 点（運動 61 点、認知 19 点）で、同年齢健常児の平均 118 点（運動 85 点、認知 33 点）に比べ、認知全般・清拭・整容・食事・トイレで得点が低かった。

症例 3（Hurler-Scheie 病、6 歳 10 か月男児）：2 歳時に酵素診断され、2 歳 2 か月で骨髄移植を行った。総得点 126 点（運動 91 点、認知 35 点）で、

健常児と全く差を認めなかった。

D. 考察

WeeFIM の質問項目は日常生活を良く反映しており、QOL を評価するのに適した手段と考えられた。しかし評価者によって結果に差が出る可能性や、保護者の主観が入る可能性もあり、今後さらに検討する必要があると考えられた。特に認知面の質問は評価しにくい面があり、補足的な解説が必要と考えられた。

E. 結論

ムコ多糖症患者の QOL を評価する手段として WeeFIM が応用可能と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 乾 幸治、今泉益栄、鈴木康之、高橋利幸：代謝性神経疾患の骨髄移植治療。脳と発達 33(3):25-9, 2001

2) 鈴木康之、近藤直実：異染性白質変性症、クラッペ病。看護のための最新医学講座（中山書店）1:520-521, 2002。

3) 鈴木康之：ムコ多糖症、ムコリピドーシス。今日の小児治療指針第 13 版、医学書院（印刷中）

2. 学会発表

1) 竹本靖彦、鈴木康之ほか：濾紙血、血漿、赤血球の脂質一斉分析の比較検討。第 44 回日本先天代謝異常学会 2001.11.8-10 久留米

2) 竹本靖彦、鈴木康之ほか：GC/MS を用いた髄液中脂肪酸分析の臨床応用について - 対照と脱髄性疾患における検討 -。第 44 回日本先天代謝異常学会 2001.11.8-10 久留米

G. 知的所有権の取得状況 なし

神経内科領域におけるライソゾーム病

分担研究者：辻 省次 新潟大学脳研究所臨床神経科学部門神経内科学分野教授

研究要旨：神経内科領域ではライソゾーム病は遭遇することの少ない稀な疾患群であり、当科では開設以来の 38 年間に 14 例（0.2%）の症例を経験した。疾患の内訳は galactosialidosis が 3 家系 4 例、Gaucher 病が 2 家系 2 例（内 1 名は疑い例）、metachromatic leukodystrophy(MLD)が 3 家系 3 例（内 1 名は疑い例）、Krabbe 病が 2 家系 2 例、GM2 gangliosidosis が 1 家系 1 例、mucopolysaccharidosis は Scheie 症候群が 1 家系 1 例、Hunter 症候群が 1 家系 1 例であった。神経内科領域では酵素活性の低下レベルが軽度な成人期発症例の経験が多いが、GM2 gangliosidosis のように臨床像が非典型的な場合もあり、代謝性疾患を疑った場合には積極的にライソゾーム酵素活性を測定することが必要である。

研究協力者：中野亮一
新潟大学脳研究所臨床神経科学部門
神経内科学分野

A. 研究目的

主に成人を対象にしている神経内科領域では、ライソゾーム病は遭遇する頻度の低い、稀な疾患群である。当科は 1964 年に開設されて以来、7300 名以上の入院患者を診療してきたが、ライソゾーム病は疑い例を含めても 14 例（0.2%）に過ぎない。本研究では当科での経験例に基づいて、神経内科領域におけるライソゾーム病の疫学、臨床的特徴、自然歴を明らかにしていくことを目的とする。

B. 研究方法

1964年の開設以来、38年間に当科で経験したライソゾーム病患者の臨床記録を解析する。

C. 研究結果

38 年間で入院したライソゾーム病患者は 14 例（0.2%）であった。1964 年から 1977 年まではライソゾーム病と診断された症例はなく、10 例は生化学的解析が十分に可能になった 1980 年代以降の患者であった。疾患の内訳は galactosialidosis が 3 家系 4 例、Gaucher 病が 2 家系 2 例（内 1 名は疑い例）、metachromatic leukodystrophy(MLD)が 3 家系 3 例（内 1 名は疑い例）、Krabbe 病が 2 家系 2 例、GM2 gangliosidosis が 1 家系 1 例、mucopolysaccharidosis は Scheie 症候群が 1 家系 1 例、Hunter 症候群が 1 家系 1 例であった。

1) Galactosialidosis：症例 1：死亡時 13 歳男児

（新大神内 3364）。満期産だったが、処女歩行は 2 歳と遅れ、5 歳時に痙性対麻痺と診断された。7 歳時に知能低下を指摘された。入院時（9 歳）、顔貌は軽度ガーゴイル様で、知能低下（IQ56）、視神経萎縮、痙性対麻痺を認めた。リンパ球の空胞化を認め、白血球ライソゾーム中の β -galactosidase が 21.8nmol/mg protein/hr(対照 116.2 \pm 33.8)と低下、sialidase が 0.44nmol/mg protein/hr(対照 1.09 \pm 0.39)と低下しており、尿中オリゴ糖排泄が正常の約 3 倍に増加していた。その後、体幹失調、動作時ミオクロームス、全身痙攣発作、ジストニア肢位が加わり、13 歳 8 か月で気道内出血のため死亡した。症例 2：40 歳女性（新大神内 3488）。16 歳頃より視力低下、35 歳頃より歩行障害出現。入院時、短頸、腰椎変形、口唇等に angiokeratoma、cherry-red spots、すり足歩行、下肢失調を認め、リンパ球の空胞化、白血球ライソゾーム中の β -galactosidase 23.1nmol/mg protein/hr(対照 170-180)と低下、sialidase 0.33nmol/mg protein/hr(対照 2.0 \pm 0.5)と低下していた。症例 3：41 歳男性（新大神内 4732）。症例の 2 の弟。幼少時より angiokeratoma、16 歳頃より視力低下 28 歳頃より構語障害 33 歳頃より歩行障害出現。当科入院時、ガーゴイル様顔貌、短頸、angiokeratoma、視力低下、ミオクロームス、失調性歩行、腱反射亢進を認め、白血球ライソゾーム中の β -galactosidase 12.1nmol/mg protein/hr(対照 119.0 \pm 32.3)と低下、sialidase 0.342nmol/mg protein/hr(対照 1.31 \pm 0.42)と低下していた。症例 4：44 歳男性（新大神内 2467）。12 歳頃より視力低下、15 歳頃より運動機能の低下あり。入院時、angiokeratoma、IQ79、

視力低下、構語障害、ミオクローヌス、体幹失調、下肢の失調、腱反射亢進を認め、リンパ球空胞化、白血球ライソゾーム中の β -galactosidase活性の低下を認めた。

2) Gaucher病：症例：1歳3か月女児（新大神内5264）。満期産だったが微熱、肝障害、肝脾腫、筋緊張亢進あり、4か月時に骨髄穿刺にてGaucher細胞陽性。 β -glucosidase活性低下を認め、2型Gaucher病と診断された。生後10か月より酵素補充療法を行い、肝脾腫、凡血球減少、肝機能障害の明らかな改善と筋緊張亢進の軽度改善を認めたが、腹腔内出血により1歳3か月で死亡した。

3) Metachromatic leukodystrophy(MLD)：症例1：30歳女性（新大神内5444）。24歳頃より家事がうまくできなくなり、徐々に痴呆が明らかとなった。入院時、高度の痴呆、前頭葉徴候、上肢腱反射低下、病的反射、失禁を認め、末梢神経伝導速度の低下、脳CTで白質の低吸収域を認めた。白血球ライソゾーム中のarylsulfatase Aが対照の14.5%に低下していた。症例2：42歳女性（新大神内5184）。39歳頃より身なりに気を遣わなくなり、落ち着きがなくなった。入院時、長谷川式16点、病識欠除、下肢腱反射亢進を認め、末梢神経伝導速度の著明な低下と脳MRIで白質のT2高信号域を認めた。白血球ライソゾーム中のarylsulfatase A活性は13.2nmol/mg protein/hr（対照50-100）と低下していた。

4) Krabbe病：症例1：38歳男性（新大神内5444）。17歳頃より歩行障害、25歳頃より上肢振戦、37歳頃より構語障害出現。入院時、痙性対麻痺、四肢の失調、左上肢の振戦、構語障害を認め、末梢神経伝導速度の著明な低下と脳MRI上、大脳白質に広範な脱髄病変を認め、白血球ライソゾーム中のgalactocerebrosidase活性が0.33nmol/mg protein/hr（対照1.93-5.58）と低下していた。症例2：40歳女性（新大神内6898）。小学生頃から手の振戦あり、32歳頃より四肢筋力低下が明らかとなった。入院時、四肢遠位筋の萎縮と筋力低下、両下肢の痙性、腱反射亢進、病的反射陽性、振戦を認め、脳MRIでは両側錐体路に沿ってT2高信号病変、脳梁の著明な萎縮を認めた。末梢神経伝導速度は著明に低下しており、白血球ライソゾームのgalactocerebrosidase活性は0.053nmol/mg protein/hr（対照1.93-5.58）と低下していた。

5) GM2 gangliosidosis：症例39歳男性（新大神内4250）。満期産だったが、頸定7か月、話し始めも遅かった。7歳頃より右大腿部の皮膚萎縮右下肢全体の萎縮に気づかれた。入院時、精

神発達遅滞（IQ44）、後頸部、腰部に色素沈着を伴う皮膚の萎縮と陥凹、右下肢全体の萎縮を認め、local panatrophyと診断。白血球ライソゾームのhexosaminidase A, Bとも著明な活性低下を認め、直腸粘膜生検では神経細胞内にmembranous cytoplasmic bodiesを認め、Sandhoff病と診断した。

6) Mucopolysaccharidosis：症例1(Scheie病)：33歳男性（新大神内5072）。満期産であったが、8歳頃より視力低下、全身の関節部肥厚、可動域制限、33歳時に急激な視力低下出現。入院時、軽度のガーゴイル顔貌、関節肥厚と制限、肝腫大、白内障、網膜色素変性、下肢腱反射低下を認め、尿中ムコ多糖が45-54mg/日と著増していた。症例2(Hunter病)：5歳男児（新大神内2308）。生後より手がグローブ様で、腹部が大きいことに気づかれ、4歳より四肢関節の軽度の拘縮出現。入院時、知能正常、肝脾腫大、手の変形、四肢関節の軽度拘縮を認め、尿中の酸性ムコ多糖が75.4mg/日と著増していた。

D. 考察

神経内科領域においてはライソゾーム病は頻度の低い疾患であるが、成人期発症の症例があることに留意することが必要である。成人発症例は酵素活性の低下レベルが比較的軽度な例と思われ、遺伝子変異や酵素の構造変化との関連を今後明らかにしていく必要がある。ライソゾーム病の診断にあたっては、典型例では診断もあまり困難はないが、GM2 gangliosidosisのように臨床スペクトラムが広い疾患では非典型例も多く、代謝性疾患を疑った場合には積極的にライソゾーム酵素活性の測定を行う必要がある。

E. 健康危険情報 なし

F. 研究発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

平成 13 年度厚生科学研究補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

リソゾーム病のスクリーニング法の開発に関する研究

分担研究者	北川照男	東京都予防医学協会	理事長
協力者	大和田操	駿河台日本大学病院	小児科助教授
	鈴木健	東京都予防医学協会	次長
	大橋十也	東京慈恵会医科大学	小児科助教授
	衛藤義勝	東京慈恵会医科大学	小児科教授

研究要旨

抗ヒト α ガラクトシダーゼ A (α GalA) モノクローナル抗体を用いた ELISA 法によって尿中の α GalA 蛋白を測定して、Fabry 病のスクリーニング検査が可能か否かの研究を行った。まづ尿中 α GalA の安定性について研究し、尿を 4℃で保存すれば少なくとも 2 日間はその活性値も酵素蛋白値も低下しないのを認めた。また健常人では尿中の α GalA 活性と酵素蛋白値とがよく相関することを明らかにした。更に健常人と Fabry 病患者の血液と尿の α GalA 蛋白値を同時に測定したところ、両者の間にも正の相関関係があり、尿の α GalA 値は血清 α GalA 値を反映していた。そこで、約 1,500 例の健常人と 8 例の Fabry 病患者について、尿 α GalA 3.0 ng/ml を cut-off 値として Fabry 病のスクリーニングを行ったところ、感度 100%、特異度 96.3%で、本法は広く使用できる方法と思われた。

A. 研究目的

日本における Fabry 病の疫学調査成績によると、20 歳を過ぎると約 30%に蛋白尿を認め、30 歳を過ぎると約 40%が腎不全に陥り、40 歳を過ぎると約 75%が心不全をきたす予後不良な疾患である。しかし、最近遺伝子組み換えの方法によりヒトの α GalA が工業的に生産されるようになり、本症に対する酵素療法が可能となり、予後の改善が望めるようになった。しかし、本症は一部の症例を除いて腎機能や心機能が低下し、重篤な症状を呈してから発見されており、酵素療法によって本症の予後を改善するには、早期診断、早期治療の方法を開

発することが大切である。即ち、本症の予後を改善するには、幼少児期に診断して治療を開始する必要がある。幼少児は一般に採血を嫌うので、無侵襲のマス・スクリーニング法を開発する必要があるが、幸いわが国では 3 歳児の健康診断の際に尿蛋白と尿潜血検査を行うことが義務づけられている。従って、尿検査によって Fabry 病のスクリーニング検査を行う事ができれば、3 歳児検尿の尿を使用して、本症の早期発見を実施することができると思われる。以上のようにわれわれは、ヒト α -ガラクトシダーゼ (α GalA) モノクローナル抗体を使用した ELISA 法によって尿 α GalA を測定