

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

ライソゾーム病 (ファブリー病含む) に 関する調査研究

平成16年度 総括研究報告書

平成17(2005)年3月

主任研究者
衛 藤 義 勝

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

ライソゾーム病（ファブリー病含む）に
関する調査研究

平成 16 年度 総括研究報告書

主任研究者

衛 藤 義 勝

平成 17 (2005) 年 3 月

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(ファブリー病を含む)に関する調査研究	衛藤 義勝 3
分担研究報告	
*ライソゾーム病の調査研究、酵素補充療法の効果に関する研究、および新規治療法の開発に関する研究	大橋十也、井田博幸 8
* Tandem 質量分析計による Fabry 病患者の尿 GL-3 測定法の開発とその意義に関する研究	北川 照男ほか 15
* ニーマンピック病 B 型の心機能異常に関する検討	高田 五郎 23
* ライソゾーム病の病因、病態の解明、治療法に関する研究	難波 栄二 26
* ライソゾーム病における ADL および QOL 評価に関する研究	坪井 一哉 29
* ニーマン・ピック病 C 型の病態生理の研究	大野 耕策 37
* くも膜下出血を合併した、酵素補充療法後 Fabry 病の剖検例	辻 省次ほか 40
* ライソゾーム病の遺伝子治療に関する研究	島田 隆ほか 44
* ムコ多糖症の診断と治療の改良に関する研究	奥山 虎之 47
* ライソゾーム病患者の QOL 改善に向けた調査研究 : ムコ多糖症の呼吸障害について	桜川 宣男 49
* ライソゾーム病患者における血液中サイトカインなどの動態に関する研究、Gaucher 病患者の骨代謝マーカー、血液像とサイトカインの関連について	芳野 信ほか 52
* β -ガラクトシダーゼ欠損に対する新しい分子治療の効果予測	鈴木 義之 57
* ライソゾーム病 (ファブリー病含む) 調査研究	田中 あけみ 59
* レクチンを利用したシアリドーシス / ガラクトシアリドーシスにおける蓄積物質の検出とその治療評価への応用	桜庭 均 62
* クラッペ病の病態解析と自然歴調査	酒井 規夫 66

* ムコ多糖症の病態とADLに関する研究	鈴木 康之ほか……70
* ゴーシェ病における聴力とABRについて	高柳 正樹……72
研究成果の刊行に関する一覧表	……………75

はしがき

平成 16 年度は本研究班の初年度にあたります。班員および研究協力者のご努力で大きな成果をあげることができました。当研究班はライソゾーム病患者の QOL,ADL を改善するために多角的な検討を加える研究班です。今回は特に調査研究を行うことを主目的としております。それにより現在の患者様の ADL,QOL、現行の治療法の効果と副作用の実態を明らかにします。また、現在の実態を明らかにするばかりでなく、早期診断法の開発、新規治療の開発、そして病態の解明も同時に行います。

本研究がライソゾーム病患者様の ADL, QOL の改善に役立つことを切に願っております。

最後にご協力いただきました、研究者各位に厚く御礼申し上げます。

主任研究者 衛藤 義勝

平成 16 年度難治性疾患克服研究事業
ライソゾーム病（ファブリー病含む）に関する調査研究組織

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 小児科学・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 小児科学・DNA 医学研究所	助教授	新しい治療法の開発
井田 博幸	東京慈恵会医科大学 小児科学・DNA 医学研究所	助教授	骨髄移植療法の効果に関する研究
鈴木 義之	国際医療福祉大学 臨床医学研究センター	教授	新しい治療法の開発
芳野 信	久留米大学・医学部 小児科学	教授	病態に関する研究
田中あけみ	大阪市立大学・医学部 小児科学	助教授	自然歴に関する研究、骨髄移植療法の効果に関する研究
島田 隆	日本医科大学 生化学第二講座	教授	新しい治療法の開発
酒井 規夫	大阪大学・医学部 小児科学	助手	自然歴に関する研究、病態に関する研究、骨髄移植療法の効果に関する研究
高田 五郎	秋田大学・医学部 小児科学	教授	病態に関する研究
高柳 正樹	千葉県こども病院 小児救急総合診療科	部長	病態に関する研究
大野 耕策	鳥取大学・医学部 脳神経小児科学	教授	病態に関する研究
辻 省次	東京大学・医学部 神経内科学	教授	病態に関する研究
難波 栄二	鳥取大学・遺伝子実験施設	教授	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	ADL, QOL に関する研究
桜庭 均	東京都臨床医学総合研究所	部長	診断法の開発
北川 照男	東京都予防医学協会 臨床遺伝学研究部門	理事長	診断法の開発
桜川 宣男	東邦大学医学部 SRL 代謝病 再生医学寄付講座	教授	ADL, QOL に関する研究
奥山 虎之	国立成育医療センター 遺伝心療科	医長	病態に関する研究
坪井 一哉	JR 東海総合病院	医長	ADL, QOL に関する研究

平成 16 年度 厚生労働科学研究補助金（難治性疾患克服研究事業）

「ライソゾーム病（ファブリー病を含むに関する調査研究）

総括研究報告書

主任研究者 衛藤義勝

研究要旨

本年度はライソゾーム病(LSD)の(1)自然歴に関して(2)ALD, QOL に関して(3)酵素補充療法、骨髄移植療法の効果に関して(4)診断法および早期診断法の開発に関して(5)新規治療法の開発に関して(6)病態に関して、様々な角度より検討を加えた。(1)に関してはクラッペ病に関して自然歴を明らかにするための質問用紙を作成した。(2)に関しては FIM を用いてムコ多糖症 II 型の ADL を明らかにすると共に、ゴーシェ病、ファブリー病についても FIM を用いた調査を開始した。また SF-36 を用いての QOL の評価も、ゴーシェ病、ファブリー病を対象に開始した。また LSD の全国調査を、重症心身障害児施設を対象に行い、ムコ多糖症の呼吸障害を中心とした QOL を明らかにし Biped の本症の呼吸障害に対する有効性を明らかにした。(3)に関してはファブリー病酵素補充療法 2 7 例の腎機能、心機能の評価を行い早期治療開始の重要性を明らかにした。また副作用に関する調査用紙も作成した。またムコ多糖症 II 型の新規の臨床分類を作成するとともに、各グループ別に骨髄移植の有効性を明らかにした。クラッペ病についても骨髄移植の効果の検討を行い、若年型クラッペ病に対する骨髄移植の有効性を明らかにした。(4)に関してはファブリー病のタンデムマスによるスクリーング法の開発、およびレクチンを用いたシアリドーシスノガラクトシアリドーシスにおけるシアリル糖複合体の検出法を開発し、これが本症の治療効果のモニターに有用である事を明らかにした。(5)beta-galactosidase 欠損症の変異酵素の活性を上昇させる物質 NOEV が酵素活性を上昇させる患者由来細胞のスクリーニングを行ったところ 49 細胞中 17 の細胞で酵素活性が上昇することが明らかとなり、また NOEV が当該遺伝子変異をもつモデルマウス由来のアストロサイト、小脳顆粒細胞の酵素活性を上昇させ蓄積物質を減少させることも明らかにした。変異を細胞に導入し酵素活性還元作用を検討した結果、27 変異中 8 変異の酵素活性が上昇した。遺伝子治療法の研究として異染脳白質変性症の欠損遺伝子である arylsulfatase A 遺伝子と同時に Fromylglycine generating enzyme 遺伝子を細胞に導入することにより、より高い酵素活性が得られる事を *in vivo*、*in vitro* で明らかにした。またクラッペ病を対象として HIV ベクターを用いての遺伝子治療法の検討を開始した。(6)の病態に関する研究では(i)日本人ムコ多糖症 II 型の遺伝子変異を、明らかにすると共に、それにもとづく遺伝子診療システムを構築した。(ii)ニーマンピック病 B 型の剖検例で心筋内動脈壁の肥厚を観察し、これは低 HLD 血漿に伴うコレステロールの末梢より肝臓への転送障害の結果であることを明らかにした。(iii)嚢状動脈瘤の破裂による、くも膜下出血を併発したファブリー病の剖検を行い、本症ではくも膜下出血も重要な合併症であることを明らかにした。(iv)ゴーシェ病患者の血清サイトカインを測定し、特定のサイトカインと本症の骨病変、血液病変との関連を明らかにした。(v)クラッペ病の遺伝子解析を行いコモン変異を同定した。(vi)ニーマンピック病 C 型細胞では interferon stimulated response element driven gene の発現が亢進していること、STAT の蛋白レベルが高い事、炎症性サイトカインを恒常的に産生している事、LPS に対して高感受性を示す事、IL-6 を除くことによりモデルマウスのアストログリオシスが抑制され、寿命も延びる事を明らかにした。(vii)ゴーシェ病の聴力障害の原因を検索した。

分担研究者氏名	所属施設名及び所属施設における職名	職名
大橋十也	東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所	助教授
井田博幸	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
酒井規夫	大阪大学小児科	助手
高田五郎	秋田大学小児科	教授
高柳正樹	千葉こども病院	部長
大野耕策	鳥取大学脳神経小児科	教授
辻省次	東京大学神経内科	教授
難波栄二	鳥取大学生命機能研究センター	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
桜川宜男	東邦大学医学部 SRL 代謝病再生医学寄付講座	教授
奥山虎之	国立成育医療センター 遺伝心療科	医長
坪井一哉	JR 東海総合病院	医長

A. 研究目的

本研究の目的はライソゾーム病(LSD)患者の予後および ADL, QOL を改善させることである。その為には現在の本邦における、LSD 患者の自然歴、ADL, QOL の実態を把握し、また現行の治療法の効果および副作用などを明らかにする必要がある。そしてそれらの結果より現在の問題点を抽出し、今後の診断法、新規治療法開発に結びつけなければならない。また現在の治療法の改善し、新規治療法の開発をするには、より詳細に病態を把握する必要がある。

以上の様な流れで LSD に関して様々な方面より検討を加えた。

B. 研究方法

1) 自然歴に関してはクラッペ病につきアンケート調査用紙を作成し、親の会を通じて次年度調査を開始する事とした。

2) ADL, QOL に関してはムコ多糖症 II 型 29 例(3~39 歳)を対象に、Wee FIM, FIM による調査を行った。またファブリー病 11 例(1~65 歳)、ゴーシェ病 4 例(26~48 歳)を対象に FIM を用いて ADL の評価を、SF36 を用いて QOL の評価を行った。また疾患特異的 QOL

の評価方法を開発しゴーシェ病、ファブリー病に関して調査した。また全国重症心身障害施設を対象にムコ多糖症に関して特に本症の呼吸障害に特に着目し酸素療法、気管切開、気管食道分離術、人工呼吸器の使用そして重症度分類としての大島の分類を調査研究した。

3) 酵素補充療法の効果としては 27 例の酵素補充療法を受けているファブリー病患者の腎機能、心機能を血清クレアチニン値、心エコー、心電図にて酵素補充療法の評価を行った。副作用に関しても調査用紙を作成したので来年度に全国に配布予定である。また骨髄移植療法に関してはムコ多糖症 II 型、クラッペ病を対象として治療効果を評価した。ムコ多糖症 II 型では、まず治療効果の評価に先立ち中枢神経障害を主要な評価項目とした臨床的分類を 22 家系、24 症例を対象に試みた。そして、それに基づく骨髄移植療法の効果評価を、7 例を対象に行った。また 2 例の若年型クラッペ病に骨髄移植を行い、治療効果を検討した。

4) 診断法の確立に関してはファブリー病、シアリドーシス/ガラクトシアリドーシスを対象に行った。ファブリー病に関しては尿中の GL3(ceramide trihexoside)をタンデムマスにて測定した。対象は古典型、亜型ファブリー病 40 例である。尿中の GL3 濃度と腎機能、臨床型などの臨床パラメーターとの比較を行った。シアリドーシス/ガラクトシアリドーシスの蓄積物質の同定に関しては、ビオチン化したレクチン(Maackia amurensis, MAM)を用いてそれぞれの疾患の培養皮膚線維芽細胞を試料として細胞染色、ウェスタンブロットを行った。またガラクトシアリドーシス細胞に、その欠損蛋白であるライソゾーム性保護蛋白/カテプシン A 前駆体を加え MAM を用いてのウェスタンブロットを行い蓄積物質の除去を検討した。

5) 新規治療法の開発は、ケミカルシャペロン法および遺伝子治療法に関する検討を行った。ケミカルシャペロン法は新しく有機合成された物質、NOEV(N-octyl-4-epi-beta-valienamine)を正常細胞に加え阻害活性を検討したあと、47 症例の beta-galactosidase 欠損症由来の培養皮膚線維芽細胞に NOEV を加え活性還元効果を検討した。また特定の遺伝子変異をもつモデルマウスより採取した培養アストロサイト、小脳顆粒細胞に NOEV を加え、蓄積物質である GM1 が減少するか否か

を検討した。また、特定の遺伝子変異をノックアウトマウス由来の細胞に導入し NOEV による酵素活性還元効果を検討した。遺伝子治療に関しては異染性脳白質変性症の欠損酵素である、Arylsulfatase A (ASA) 遺伝子とその活性化因子である Formylglycine generating enzyme (FEG) を HeLa, COS, 293 などの細胞にトランスフェクションし酵素活性、抗 ASA 抗体を用いた、ウェスタンブロット、ノーザンブロット法を行い、ASA の発現増強効果を検討した。また *in vivo* における検討として、ASA を発現するプラスミドと FEG を発現するプラスミドを hydrodynamics 法でマウスに投与し血清、および各臓器における ASA の発現を *in vitro* の時と同様の方法で検討した。クラッペ病の HIV ベクターを用いた遺伝子治療法の開発は欠損酵素である、galactocerebrosidase を発現するベクターを作成した。

6) 病態に関しては以下の6つの項目につき検討を加えた。(i) ムコ多糖症 II 型の遺伝子診断法確立するために、偽遺伝子を増幅しない PCR 法により9つのエクソンを増幅し塩基配列を決定した。またムコ多糖症親の会に遺伝子解析可能である旨、連絡し同意が得られた家族の遺伝子解析ならびに告知を行った。(ii) 著名な心不全症状を呈するニーマンピック B 型の剖検を行い心不全の原因につき考察を加えた。(iii) くも膜下出血で死亡したファブリー病患者の剖検を行い、その原因につき考察を加えた。(iv) 8名の酵素補充療法を受けているゴーシェ病患者の様々なサイトカインを測定し病態との関連を考察した。(v) クラッペ病の遺伝子解析を行いその遺伝子型と臨床型の関連につき考察した。(vi) ニーマンピック病 C 型の病態の解析に関しては、まず本症および正常人より得た mRNA より cDNA を作成、これをプローブとして cDNA マイクロアレイを用いて発現パターンを比較した。本症モデルマウスにおける STAT の発現量を検討した。本症の細胞と正常細胞を共培養および、おのおのの細胞上清による刺激実験を行った。本症モデルマウスと IL-6 欠損マウスを作成し IL-6 の本症の病態における役割を検討した。本症の細胞の LPS に対する反応性を IL-6 を指標として解析した。(vii) 5例のゴーシェ病患者の ABR などの聴力検査を行った。

C. 研究結果

1) クラッペ病に関しては自然歴を明らかにする調査用紙を作成し、親の会を通して配布予定である。

2) ムコ多糖症 II 型の FIM を用いた ADL の検討では、小児軽症例では 10 歳以降では満点で完全自立していた。重症例では 5~6 歳で既に特に認知面で低下が認められ、その後は進行性に低下した。成人軽症例(18 歳以上)では ADL の低下が認められた。成人ゴーシェ病、ファブリー病の FIM を用いた検討では ADL は全例完全自立であった。SF36 による QOL に関してはいくつかの項目で低値であったが現在解析中であり、次年度に詳細を報告できると思う。重症心身障害施設を対象にして行ったムコ多糖症の呼吸障害を中心にした調査では 21 例のムコ多糖症のうち酸素療法 7 例、気管切開 4 例、人工呼吸器装着例 2 例であった。また 1 例であるが BiPAP の有効な例もあった。

3) ファブリー病における酵素補充療法の効果の検討は 32 例について行った。中には酵素補充療法を行っていても腎機能悪化が進行する例が認められた。その様な例は当初より腎機能悪く、早期治療法の重要性が示唆された。心機能に関しては心筋肥厚、弁異常が改善される例が散見された。ムコ多糖症の重症度分類は軽症 6 家系、重症 16 家系に分類した。軽症、重症より合計 7 例の骨髄移植が施行され、すべての症例において臨床効果が認められた。とくに重症例の 1 例で失われた言語が再獲得された。クラッペ病に関しては、2 例の若年型に骨髄移植を行い、1 例では移植前に歩行不能だったものが歩行できるようになったなど神経学的な改善を認め、もう 1 例では神経障害の進行の停止が認められた。

4) 診断法に関してはファブリー病、シアリドーシス/ガラクトシアリドーシスにつき検討を加えた。ファブリー病の尿中 GL3 の測定による診断法の開発では、ヘミ接合は腎機能障害の有無、症状発現の有無にかかわらず、GL3 は正常より高値であった。しかし一部のヘミ接合ではヘテロ接合の値と変わらない例も存在した。ヘテロ接合の GL3 はヘミ接合より低値であったが、正常より有意に高値であった。しかし正常範囲に入る症例も 26.7% 存在した。心型は正常範囲であり、本法では診断が出来なかった。最後に酵素補充療法による尿中 GL3 の変化も検討したが、低下する例、一旦低下して、再度上昇する例などがあり、評価は難しく今後は蓄尿などで測定するなど

が必要と思われた。つぎにシアリドーシス／ガラクトシアリドーシスのレクチンを用いた蓄積物質の検討であるが、細胞を用いたレクチン染色、ウェスタンブロットを用いたレクチン染色で蓄積物質の同定が可能であった。またガラクトシアリドーシス細胞に欠損蛋白である、ライソゾーム性保護蛋白／カテプシン A を加えると蓄積物質の減少がレクチン染色により確認できた。よって本法は治療効果の確認および診断の一助に応用できると思われた。

5) 新規治療法に関しては、ケミカルシャペロン法では NOEV により beta-galactosidase 欠損症細胞 49 のうち 17 で有意な活性上昇効果が認められた。特に R201C、R457Q 変異をもつものが、その効果が著しかった。また R201C、I51T をもつ培養小脳顆粒細胞およびアストロサイトで酵素活性を上昇させ、蓄積物質である、GM1 を減少させた。またヒトの遺伝子変異を細胞に導入しての NOEV による酵素活性上昇作用では試した 27 変異中 8 変異で酵素活性の上昇が確認された。異染性脳白変性症に対する遺伝子治療の検討では ASA 遺伝子、FGE 遺伝子を同時に Hela, COS, 293 細胞に同時にトランスフェクションしたところ ASA 活性は多いものでは、ASA 遺伝子単独に比べ 20 倍の酵素活性上昇が認められた。しかし ASA mRNA は FGE による影響は認められなかった。そして発現した ASA はマンノース 6 燐酸依存的に細胞に取り込まれた。マウスに両遺伝子を同時に hydrodynamics 法で投与したところ血清、肝臓で発現上昇が認められ、肝臓では ASA 蛋白自体も増加しており、保護蛋白的な働きを FGE がしている可能性も示唆された。クラッペ病の HIV ベクターを用いた遺伝子治療法の開発では、欠損酵素である galactocerebrosidase を発現する HIV ベクターを作成した。293 細胞に感染させたところ 8 倍の活性上昇が認められた。次年度はモデルマウスに投与する予定である。

6) 病態に関する検討は以下の様な結果であった。

6-i) ムコ多糖症 II 型 7 家系 13 名の遺伝子解析を行い、5 家系で遺伝子変異を明らかにした。そのデータをもとに遺伝カウンセリングを行ったが、保因者検索は全ての家系で希望されなかった。

6-ii) これまで報告のない左心機能障害を呈したニーマンピック B の剖検を行ったところ平滑筋腫大による心筋内動脈壁の肥厚を認め

た。この腫大の原因はニーマンピック細胞の浸潤ではなく低 HDL コレステロール血症によるコレステロールの末梢より肝臓への転送障害によると思われた。

6-iii) くも膜下出血で死亡したファブリー病の剖検を行い、この原因は囊状動脈瘤の破裂であった。元来本症では血管閉塞性疾患が多いとされていたが、血管壁の障害による囊状動脈瘤も本症では気を付けなければならない合併症と思われた。

6-iv) 酵素補充中のゴーシェ病 1、3 型 8 例のサイトカイン等の血中濃度の検討で IL-18, TGF-beta の上昇を認め、これは骨吸収亢進、造血空間大きさなどを反映しているものと思われた。

6-v) 20 例の本邦クラッペ病の遺伝子解析を行い全変異の 50% を占めるコモン変異の存在を明らかにした。

6-vi) ニーマンピック C の病態解析では以下のことを明らかにした。本症では interferon stimulated response element によってドライブされる遺伝子の発現が高いこと。本症では JAK/STAT シグナル伝達系が恒常的に活性化されていること。本症の細胞では IL-6, 8, interferon-beta などの炎症性サイトカインが恒常的に産生されていること。本症マウスを IL-6 欠損マウスと掛け合わせるとアストログリオーシスが抑制され、寿命ものびること。本症の細胞は LPS に対する感受性が高いこと。以上より NPC 細胞は炎症性サイトカインを恒常的に産生しており、これらのサイトカインによりアストログリオーシスがおきる事が本症の病態にかかわっていることが推察された。(vii) 2 型、3 型ゴーシェ病では全て、聴力異常を認めた。成人型 3 例中 2 例に聴力障害を認めた。

D. 考察

自然歴、ADL、QOL に関する研究はまだ開始されたばかりであり、初年度である今年度はまだ十分な結果は出そろわなかった。来年度には詳細に報告できると思う。酵素補充療法に関しては現在、症例を蓄積している最中であるが、一応の結果もでた。現時点で言える事は早期治療開始の重要性であり、不可逆的な臓器障害が起きてからでは治療は遅い可能性が高い。症例を蓄積しより詳細な効果を明らかにしてゆく予定である。骨髄移植に関しても症例を増し検討してゆく予定である。診断法に関しては実用に耐えうるものが開発さ

れたと思う。今後はサンプル数を増やし、その妥当性の検討を行いたい。新規治療法に関してはヒト細胞、マウスレベルでは非常に期待のもてる結果であった。いかにヒトへの応用をするかのトランスレーショナルリサーチを進めてゆく。病態は様々な検討が行われ成果も挙げた。今後はそれぞれの研究テーマにそって研究を推進させてゆく予定である。

に-ガラクトシダーゼ遺伝子の変異に起因する糖脂質代謝異常症の治療剤

E. 結論

LSD 患者さんの QOL,ADL を改善するために様々な検討を行った。自然歴の調査、FIM, WeeFIM を用いた ADL の調査、SF-36 を用いての QOL の調査を行ったり、重症心身障害施設における LSD の呼吸障害の実態を全国調査により明らかにしたりした。また現行の治療である酵素補充療法、骨髄移植療法の効果の判定なども行った。診断法に関しても、タンデムマスやレクチンを用いての新規の治療法の開発も行った。新規の治療法に関しては、遺伝子治療法、ケミカルシャペロン法の開発を行った。病態に関しては、ニーマンピック病 B、C 型、ゴーシェ病、クラッペ病、ファブリー病などの病態を明らかにし、これらは新規治療法の開発のための重要な基礎データとなりうると思われた。まだ初年度であるが、それぞれの項目を時年度はさらに発展することが期待できた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

各分担研究者の報告書を参照

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

1) 構造特許：カルバ糖アミン誘導体

出願日：平成 13 年（2001）9 月 7 日

発明者：小川 誠一郎、鈴木 義之

要約：-ガラクトシダーゼ阻害活性を有する擬似糖

2) 用途特許：糖脂質代謝異常症治療剤

出願日：平成 13 年（2001）9 月 7 日

発明者：鈴木 義之、難波 栄二

2. 要約：糖脂質代謝異常症治療剤、特

平成 16 年度 厚生労働科学研究補助金（難治性疾患克服研究事業）

「ライソゾーム病（ファブリー病を含むに関する調査研究）

分担研究報告書

ライソゾーム病の調査研究、酵素補充療法の効果に関する研究、および新規治療法の開発に関する研究

分担研究者 大橋十也、井田博幸

研究要旨

我々は3つの項目に関する検討を加えた。検討を加えた項目は（1）ファブリー病酵素補充療法の副作用に関する調査研究、（2）ファブリー病の酵素補充療法の効果に関する研究、（3）新規治療法の開発として krabbe 病遺伝子治療法の開発、である。（1）に関しては、ファブリー病酵素補充療法の副作用のなかでもアレルギー反応に関する調査用紙を作成した。これは平成16年度中に全国のファブリー病患者に酵素補充療法を行っている主治医向けに発送予定である。（2）に関しては当院で酵素補充療法を行った、または現在もおこなっているファブリー病患者に関して腎機能、心機能に関して検討を加え、早期治療の重要性を明らかにした。（3）に関してはHIVベクターを用いた、Krabbe 病の遺伝子治療法の開発を行った。

A. 研究目的

ライソゾーム病では、酵素補充療法が開発され治療可能になった疾患もある。本邦においても本年度ゴーシェ病に引き続きファブリー病も酵素補充療法が保険適応となった。しかし投与に際し、副作用を起こす患者さんも存在する。今回の研究の第1の目的はファブリー病の酵素補充療法で副作用、とくに酵素製剤に対するアレルギー反応出現の実態を調査研究することである。次にファブリー病に関しては、酵素補充療法が開始されたばかりであり、効果に関して、まだ不明な点も多い。我々の施設では2000年の本邦での治験開始時より多くのファブリー

病患者さんに酵素補充療法を行っている。今回はそれらの患者さんを対象に酵素補充療法の効果を腎機能、心機能につき検討を加えた。最後に、新規治療法の開発も行った。現在、ライソゾーム病では治療法があっても中枢神経障害に対する効果はきわめて不十分である。今回は Krabbe 病を対象に中枢神経障害に対する遺伝子治療法の開発を行った。

B. 研究方法

（1）ファブリー病酵素補充療法の副作用に関する研究：アンケートの内容は副作用出現の有無、出現時期と時間、回数、症状、出現時の対応、次の投与

よりの予防方法などである。実際のアンケート用紙を表1にしめす。現在、全国のファブリー病患者主治医に発送中である。

(2) ファブリー病酵素補充療法の治療効果に関する研究：対象は当院にて酵素補充療法を行ったファブリー病32例(男27、女5)である。腎機能の評価としては血清クレアチニン値、心機能の評価としては心エコー、心電図を行った。腎機能の評価は全員に、心機能の評価は21名につき行った。観察期間は2ヶ月より4年であった。

(3) 新規の治療法の開発：我々の研究室に今年度途中より所属した研究員はムコ多糖症I型のモデルマウスの新生児期に欠損酵素であるiduronidaseを発現するHIVベクターを静脈内投与することにより中枢神経病変を治癒させることが可能なことを明らかにしてきた。今回は同様のアプローチでKrabbbe病のモデルマウスであるTwitcherマウスを治療することが可能に検討を加えるべく、まず欠損酵素であるgalactocerebrosidaseを発現するHIVベクターの構築を開始した。HIVベクターの構造としては、galactocerebrosidase遺伝子はCAGプロモーターでドライブさせ、また導入細胞を追跡しやすくするためにIRESにてEGFPをつないだ。また宿主細胞域を広げるためエンベロープとしてVSV-Gを用いた。安全性を高めるためパッケージングプラスミド、エンベローププラスミド、ベクタープラスミドの3つのプラスミドを293細胞にトランスフェクションし、培養上清より組換えウイルスを濃縮した。

C. 研究結果

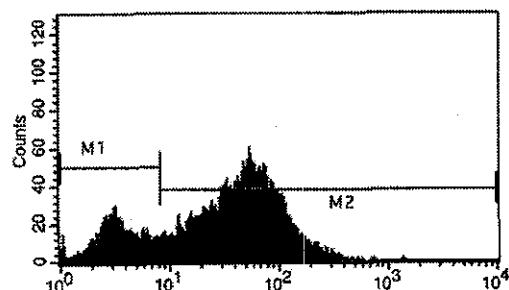
(1) ファブリー病酵素補充療法の副

作用に関する研究：調査開始にあたり、学内の倫理委員会が本研究を審査した。いくつかの問題点が指摘されたが、ようやく承認され、現在、全国の主治医にむけて発送中である。

(2) ファブリー病酵素補充療法の治療効果に関する研究：経過中の血清クレアチニン値の変動を表2に示す。ヘミ接合23人中16例(70%)がベースライン値を維持した。しかし4例(17%)で軽度上昇、3例(13%)で著名に上昇し透析導入となった。女性のヘテロ接合では5人中4例(80%)がベースライン値を維持し1例(20%)のみ軽度上昇を認めたが透析に至った例は存在しなかった。血清クレアチニンが治療中上昇した例は全例ベースラインより1.7mg/dl以上であり、血清クレアチニンがベースライン時正常のものは全例、観察期間中ベースライン値を保っていた。ベースライン値を保った症例の投与開始時平均年齢は 28.2 ± 8.08 歳、透析まで至った症例では 33.0 ± 2.64 歳で、やはり後方で年齢が高い傾向にあったが、統計学的有意差はなかった($p=0.33$)。心臓に関する評価では心エコーによる評価を表3に示す。心機能の評価は20回以上の投与を行った21例に関して行った。僧房弁逆流をベースライン時に有していた患者17例中2例が進行、4例(23%)で改善、11例で不変であった。認めなかったもの4例では1例が逆流が経過中に出現したが残り3例では出現しなかった。大動脈弁逆流はベースラインで5例に認め1例悪化、1例改善3例不変であった。ベースライン時認めなかったものは21例で1例経過中に出現したが、20例では出現しなかった。中隔壁および左室後壁の肥厚をベースライン時それぞれ10例、6例に認めた。進行はそれぞれ2例、1例、改

善7例(70%)、5例(83%)、不変1例、0例であった。壁肥厚をベースライン時認めなかった症例で、中隔壁、左室後壁の肥厚の進行を見たものはそれぞれ11例中1例、15例中1例であった。心電図変化を表4に示す。心電図変化としては1度および2度の房室ブロック、心房細動、QT延長、ST、T変化、左室肥大などの所見を認めた。房室ブロック、心房細動、QT延長などの改善は認められず、いずれも不変、または悪化であった。しかしST、T変化、左室肥大はそれぞれ16%、18%の改善が認められた。血漿中の蓄積物質であるceramidetrihesosideは、測定を行ったヘミ接合9例では全例改善した。4例のヘテロ接合でも測定を行ったがベースライン時より高値ではなく経過中も正常値を保った(data not shown)。

(3) **新規の治療法の開発**：作成したHIVベクターを293A細胞に感染させ3日後にEGFP陽性細胞をフローサイトメトリーにて測定することにより組換えウイルスの力価を測定した。フローサイトメトリーの結果を示す。



EGFP陽性細胞数に基づき力価を測定すると 2.05×10^8 TU/mlであった。現在in vitroの系でgalactocerebrosidaseの活性測定を行っている。もし十分な活性の発現が得られたらTwitcherマウスへの静脈内投与を行う予定である。

D. 考察

ファブリー病の酵素補充療法ではア

レルギー反応が軽微とはいえ多く認められコンプライアンスの低下に結びついている場合も多い。特に男性ヘミ接合患者の場合の頻度は高い。我々の経験でも27例のヘミ接合患者において12例(44%)に悪寒、発熱、発疹などの副作用が認められた。現時点では酵素製剤の投与量または速度の減弱、抗ヒスタミン剤、ステロイド剤の投与などを行っている施設が多い。しかしながら、その実態は明らかではない。よってより安全で適切な投与を行うためにも現状を把握することは重要であると考え調査研究を企画した。来年度は今年度作成したアンケート調査用紙をもとにアンケートを実際に行い、本邦におけるファブリー病酵素補充療法のアレルギー反応の出現状況、対処方法の実態を明らかにしてゆく。つぎに効果であるが、既に本酵素製剤は販売済みであるためプラセボなどを使用して効果を明にするなどエビデンスレベルの高い臨床研究は特に本邦においては不可能である。今回は血清クレアチニン値で腎機能の評価を行った。少なくとも投与開始時に血清クレアチニンが異常であるような症例では、酵素補充療法を行っても腎機能が悪化する例が存在し早期投与開始の重要性が示唆された。心機能に関しては酵素補充により弁の機能異常や心筋壁の肥厚が改善する例が認められた。しかしながら房室ブロック、心房細動などは、改善例はなく、より長期の投与が必要なのもかもしれない。最後に新規治療法の開発であるが、今回はHIVベクターを使用した。HIVベクターは新生児期に投与することにより、非常に効率よく中枢神経系の細胞に感染することが示されており(Kohayashi H, Kohn DB et al. Molecular Therapy in press) Twitcherマ

ウスでの検討を積極的に進めてゆく予定である。

E. 結論

(1) ファブリー病酵素補充療法の副作用のアンケート調査の準備を行った。2) ファブリー病の治療効果の評価を行い早期治療開始の重要性を明らかにした。3) Krabbe 病の遺伝子治療の開発をめざして HIV ベクターの構築を行った。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

論文発表

- 1) Meng XL, Shen JS, Watabe K, Ohashi T, Eto Y. GALC transduction leads to morphological improvement of the twitcher oligodendrocytes in vivo. *Mol Genet Metab.* 2004. in press.
- 2) Shen JS, Meng XL, Yokoo T, Sakurai K, Watabe K, Ohashi T, Eto Y. Widespread and highly persistent gene transfer to the CNS by retrovirus vector in utero: Implication for gene therapy to Krabbe disease. *J Gene Med.* 2004. in press.
- 3) Shen JS, Meng XL, Maeda H, Ohashi T, Eto Y. Widespread gene transduction to the central nervous system by adenovirus in utero: Implication for prenatal gene therapy to brain involvement of lysosomal storage disease. *J Gene Med.* 2004 Nov;6(11):1206-1215.
- 4) Sakurai K, Iizuka S, Shen JS, Meng XL, Mori T, Umezawa A, Ohashi T, Eto Y. Brain transplantation of genetically modified bone marrow stromal cells corrects CNS pathology and cognitive function in MPS VII mice. *Gene Ther.* 2004 Oct;11(19):1475-81.
- 5) Eto Y, Shen JS, Meng XL, Ohashi T. Treatment of lysosomal storage disorders: Cell therapy and gene therapy. *J Inherit Metab Dis.* 2004;27(3):411-415.
- 6) Lin H, Sugimoto Y, Ohsaki Y, Ninomiya H, Oka A, Taniguchi M, Ida H, Eto Y, Ogawa S, Matsuzaki Y, Sawa M, Inoue T, Higaki K, Nanba E, Ohno K, Suzuki Y. N-octyl-beta-valienamine up-regulates activity of F213I mutant beta-glucosidase in cultured cells: a potential chemical chaperone therapy for Gaucher disease. *Biochim Biophys Acta.* 2004 Aug 4;1689(3):219-28.
- 7) Hamanoue M, Yoshioka A, Ohashi T, Eto Y, Takamatsu K. NF-kappaB prevents TNF-alpha-induced apoptosis in an oligodendrocyte cell line. *Neurochem Res.* 2004 Aug;29(8):1571-6.
- 8) 衛藤義勝、井田博幸：ファブリー病について、ファブリー病、ブレーン出版(株)2004：3-10
- 9) 衛藤義勝：先天性代謝異常症 疾患モデル動物、別冊医学のあゆみ、医歯薬出版(株)、2004：73-75、
- 10) 大橋十也：ファブリー病の治療、酵素補充療法、ファブリー病—基礎から臨床までの最近の知見—、総監修 衛藤義勝、ブレーン出版、2004：144—55
- 11) 大橋十也：ファブリー病の治療、遺伝子治療、ファブリー病—基礎から臨床までの最近の知見—、総監修 衛藤義勝、ブレーン出版、2004：156—62
- 12) 大橋十也：ファブリー病の診断、リソソーム病の医療費等助成認定基準 (ファブリー病を中心に)、ファブリ

一病—基礎から臨床までの最近の知見— 総監修 衛藤義勝 プレーン出版. 2004 : 98-107

- 13) 井田博幸 : 酵素補充療法, 小児科診療, 2004 ; 67 (増刊号) : 533-7
- 14) 井田博幸 : リピド—シススクリーニング, 小児科, 2004 ; 45 (増刊号) : 2034-40
- 15) 井田博幸 : ケトン性低血糖症, 今日の治療と看護 (南江堂). 2004 : 1426-1427
- 16) 井田博幸 : ファブリー病について, ファブリー病, 基礎から臨床までの最近の知見 (プレーン出版). 2004 : 3-10
- 17) 井田博幸 : ファブリー病の臨床診断, ファブリー病, 基礎から臨床までの最近の知見 (プレーン出版). 2004 : 75-76
- 18) 井田博幸 : 関連学会, 患者団体の活動, ファブリー病, 基礎から臨床までの最近の知見 (プレーン出版). 2004 : 165-172

学会発表

- 1) 衛藤義勝 : Fabry 病の酵素治療, 第 2 回広島先天代謝異常研究会. 広島市. 2004. 2
- 2) 衛藤義勝 : リソゾーム病の酵素補充療法, 第 1 回熊本先天代謝異常学会. 熊本市. 2004. 5
- 3) 衛藤義勝 : 遺伝性疾患の最近の進歩, ゲノム医療九州大学小児科 100 周年記念大会. 福岡市. 2004. 6
- 4) 衛藤義勝 : Fabry 病の酵素補充療法, 日本小児腎臓病学会熊本市. 2004. 6
- 5) 衛藤義勝 : MPS—1 Clinical Trial, Japanese case, MPS International Workshop Amsterdam. 2004. 9
- 6) 衛藤義勝 : Urinary Screening of Fabry disease and Clinical

trial Phase III enzyme therapy in Japan, International workshop of Fabry disease, Paris, 2004. 10

- 7) 大橋十也 ; 本邦におけるファブリー病—酵素補充療法の比較—. 第 18 回小児成長障害研究会, 東京. 2004. 10
- 8) 大橋十也 ; ファブリー病の新しい治療法—酵素補充療法—. 第 1 回ファブリー病セミナー, 東京. 2004. 10
- 9) Ohashi T; Fabry Disease Phase IV study. 7th Annual Asia LSD Symposium, Hong Kong. 2004. 9.
- 10) Ida H : Current status of management for Gaucher disease in Japan, 13th International Conference of Gaucher Disease Group Meeting. Washington D. C. USA. 2004. 5
- 11) Ida H : Lysosomal storage disease in Japan, 1st Annual Meeting of Hong Kong Society of Inborn Errors of Metabolism. Hong Kong. 2004. 9
- 12) 井田博幸 : 遺伝子診断 臨床応用と倫理的問題. 藤沢小児科医会. 藤沢. 2004. 9
- 13) 井田博幸 : 酵素補充療法の現状と未来. 第 47 回日本先天代謝異常学会. 宇都宮. 2004. 11

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表1 ファブリー病酵素補充療法副作用に関するアンケート用紙

1. 患者さんについて

患者イニシャル	氏 () 名 ()	生年 月日	西暦 () 年 () 月 満 () 才
性別	<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女		
アレルギー歴	<input type="checkbox"/> なし		
	<input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> アトピー性皮膚炎 <input type="checkbox"/> 喘息 <input type="checkbox"/> アレルギー性鼻炎 <input type="checkbox"/> 蕁麻疹 <input type="checkbox"/> その他 ()	
酵素補充療法開始日	西暦 () 年 () 月 () 日		
現在までに酵素補充療法を行った回数	() 回		

2. これまでにどのような Adverse Event がありましたか？ それはいつからですか？

<input type="checkbox"/> なし					
<input type="checkbox"/> 有り	発症時期	() 回目の投与より			
		投与開始	<input type="checkbox"/> 1時間以内に発症	<input type="checkbox"/> 1時間以降に発症	
	再発の有無	<input type="checkbox"/> なし			
		<input type="checkbox"/> 有り	() 回目	() 回目	() 回目
			() 回目	() 回目	() 回目
			() 回目	() 回目	() 回目
() 回目			() 回目	() 回目	
() 回目	() 回目		() 回目		
症状	<input type="checkbox"/> 発熱 <input type="checkbox"/> 悪寒 <input type="checkbox"/> 流涙 <input type="checkbox"/> 鼻汁、鼻閉 <input type="checkbox"/> 呼吸困難 <input type="checkbox"/> 血圧低下 <input type="checkbox"/> 発疹 <input type="checkbox"/> その他 ()	発症したものについては全てにチェックして下さい。			

3. Adverse Event 発現時、どのように対処していますか？

投与速度の変更	<input type="checkbox"/> 投与中止。		
	<input type="checkbox"/> 投与速度を下げる。	() mg/min	→ () mg/min
薬物療法	<input type="checkbox"/> ステロイド剤	薬剤名 ()	<input type="checkbox"/> 内服 <input type="checkbox"/> 静注
	<input type="checkbox"/> 抗ヒスタミン剤	薬剤名 ()	<input type="checkbox"/> 内服 <input type="checkbox"/> 静注
	<input type="checkbox"/> 解熱剤	薬剤名 ()	
	<input type="checkbox"/> エピネフリン	<input type="checkbox"/> 吸入 <input type="checkbox"/> 皮下注射	
	<input type="checkbox"/> その他 ()		

*行ったことのあるもの全てにチェックして下さい。

4. Adverse Event が発現したとき、次回の投与方法を変更しますか？ また、その効果についてお答え下さい。

投与速度の変更	<input type="checkbox"/> 投与速度を下げる。	() mg/min	→ () mg/min	<input type="checkbox"/> 有効 <input type="checkbox"/> 無効
投与量の変更	<input type="checkbox"/> 投与量を変更する。	() mg/kg	→ () mg/kg	<input type="checkbox"/> 有効 <input type="checkbox"/> 無効
薬物療法 (前投薬)	<input type="checkbox"/> ステロイド剤	薬剤名 ()	<input type="checkbox"/> 内服 <input type="checkbox"/> 静注	<input type="checkbox"/> 有効 <input type="checkbox"/> 無効
	<input type="checkbox"/> 抗ヒスタミン剤	薬剤名 ()	<input type="checkbox"/> 内服 <input type="checkbox"/> 静注	<input type="checkbox"/> 有効 <input type="checkbox"/> 無効
	<input type="checkbox"/> 解熱剤	薬剤名 ()		<input type="checkbox"/> 有効 <input type="checkbox"/> 無効
	<input type="checkbox"/> その他 ()			<input type="checkbox"/> 有効 <input type="checkbox"/> 無効

*行ったことのあるもの全てにチェックして下さい。

表 2 腎機能の推移

	症例数	ベースラインを維持	軽度上昇	高度上昇末期腎不全
ヘミ接合	23	16 (70%)	4 (17%)	3 (13%)
ヘテロ接合	5	4 (80%)	1 (20%)	0 (0%)

表 3 心エコー所見の推移

Echo finding	base line	n	progress	improve	no change
MR	+	17	2	4 (23%)	11
	-	4	1	0	3
	total	21	3	4	14
AR	+	5	1	1 (20%)	3
	-	16	1	0	15
	total	21	2	1	18
IVS hypertrophy	+	10	2	7 (70%)	1
	-	11	1	0	10
	total	21	3	7	11
PW hypertrophy	+	6	1	5 (83%)	0
	-	15	1	0	14
	total	21	2	5	14

MR: 僧房弁閉鎖不全、AR: 大動脈弁閉鎖不全、

IVS: 心室中隔、PW: 左後壁。Hypertrophy: 肥大

表 4 心電図所見の推移

ECG finding	base line	n	progress	improve	no change
AVB (I)	+	1	1	0	0
	-	20	0	0	20
	total	21	1	0	20
AVB (II)	+	1	0	0	1
	-	20	0	0	20
	total	21	0	0	21
Af	+	3	0	0	3
	-	18	0	0	18
	total	21	0	0	21
Long QT	+	1	0	0	1
	-	20	0	0	20
	total	21	0	0	20
ST-T change	+	12	0	2	10
	-	9	2	0	7
	total	21	2	2	17
LVH	+	11	0	2	9
	-	10	0	0	10
	total	21	0	2	19

AVB (I): 1度房室ブロック、AVB (II): 2度房室ブロック、
Af: 心房細動、LVH: 左室肥大

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告者

Tandem質量分析計による Fabry 病患者の尿 GL-3 測定法の開発とその意義に関する研究

分担研究者 北川照男（財）東京都予防医学協会理事長

研究協力者 鈴木 健（財）東京都予防医学協会部長

石毛信之（財）東京都予防医学協会主査

大和田操（女子栄養大学教授）

大橋十也（東京慈恵会医科大学小児科助教授）

小林正久（東京慈恵会医科大学小児科助手）

衛藤義勝（東京慈恵会医科大学小児科教授）

田中あけみ（大阪市立大学医学研究科助教授）

研究要旨: MillsらのTandem質量分析計による血漿GL-3測定法を改変して全尿中GL-3定量法を開発したが、本法は採血せずに尿で簡単に古典型Fabry病を診断できるので、有用な本症のスクリーニング法である。しかし、尿GL-3が陰性の心型Fabry病の診断はできなかった。Fabry病の酵素療法の効果のモニタリングにも使用できるが、一部の症例では臨床効果と尿GL-3の変動とが一致せず、今後の検討が必要であった。

A. 研究目的

Fabry病は、 α -galactosidase A (α -Gal A) の欠損により各種の臓器に globotriaosylceramide (GL-3) が蓄積し、放置すると成人になってから腎不全、心不全および脳血管障害などを来す予後不良の伴性遺伝性疾患である⁽¹⁾。

最近になってリコンビナントヒト α -Gal A が工業的に生産されるようになり、Fabry病に対する酵素療法が可能となった。そして、不可逆性の組織障害を生ずる前にヒト α -Gal A を患者に投与すると、一部の組織では蓄積した GL-3 が減少し、臨床症状が軽快するのが認められている⁽²⁻⁸⁾。

しかし、本症は稀な疾患であり、不可逆的な組織障害を生じてから診断される例が多

いのが現状である^(5,9)。これまで尿 GL-3 は沈渣中に分布するとされ⁽¹⁰⁾、これを分離し、GL-3 を抽出し、糖脂質分画を分離して後に GL-3 をいろいろな方法で測定することが行われてきた⁽¹⁰⁻¹⁴⁾ が、操作が繁雑であり、本症をスクリーニングする方法として適していなかった。2002年に Millsら⁽¹⁵⁾ は、C17-GL-3 または [D4]C16-GL-3 を内部標準物質として Fabry 病の血漿 GL-3 を Tandem 質量分析計 (MS/MS) で測定する方法を報告した。筆者らはこの方法を若干改変して尿 GL-3 を簡単に測定することに成功した。更に最近、筆者ら^(16,17) は Fabry 病の尿の GL-3 は沈渣に約 80%、上清に約 20% 分布し、15,000G 以上で尿を遠心すれば各症例ともその比率はほぼ一定であって、尿沈渣と上

清の何れも Fabry 病では増加しているのを認めた。

従って、尿沈渣ではなく全尿の GL-3 を測定しても、尿沈渣の GL-3 の測定と同様に、Fabry 病の診断と治療の評価の何れにも使用できると思われたので、尿 GL-3 測定の意義について検討したので報告する。

B. 研究方法および対象

(1) 研究方法

5-20mL の新鮮尿を Fabry 病ヘミ接合体、ヘテロ接合体の症例および正常対照者から得て、Kitagawa ら⁽¹⁷⁾ が報告した方法で、全尿中の GL-3 を測定した。その測定は、2002 年に Mills らが報告した triple quadrupole Quattro micro tandem mass spectrometer (MS/MS) Micromass, Altrincham, UK を用いる方法を若干修正して実施した。

GL-3 の外部標準物質としては、ヒト赤血球 GL-3 (Sigma 東京) を、内部標準物質としては C17-GL-3 (Genzyme Co Cambridge, MA USA) をそれぞれ使用した。

尿は市販の尿試験紙で蛋白の定性試験を行い陰性の場合、2mL の尿に 2 μ g の C17-GL-3 を加え、30 秒間ソニケイトし、20 μ L の尿試料を直接 MS/MS に注入して全尿中の GL-3 を測定した (直接法)。

他方尿蛋白陽性の場合、50 μ L の尿に 50ng の C17-GL-3 を含む 1mL の chloroform-methanol (2:1) を加え、30 分間攪拌しつつ GL-3 を抽出し、抽出液を 20 micron flit を有する 1mL のカラムに通し、20 μ L の溶出液を MS/MS に注入して GL-3 を測定した (抽出法)。

(2) 研究対象

研究対象とした Fabry 病ヘミおよびヘテロ接合体 40 例は、表 1 のように、古典型と心型異型症の 2 群に分類し、古典型はヘミおよびヘテロ接合体の症例に分類すると共に、Fabry 病の臨床症状を認めるグループと認めないグループとに分類し、更にヘミ接合体で症状を認めるグループについては、 $Ccr \geq 30.0 \text{ mL/min}$ と $Ccr < 30.0 \text{ mL/min}$ の 2 群に分類した。各群の症例数、蛋白陽性の頻度、平均年齢は表 1 のようであり、古典型 Fabry 病のヘミ接合体における発症前の症例の平均年齢は、発症後の症例の平均年齢よりも低く、発症後のグループの中の腎機能が著しく低下したグループは、腎機能があまり低下していないグループに比較して平均年齢が高い傾向がみられた。また、ヘテロ接合体においても、症状を認めるグループは、認めないグループに比較して、平均年齢が高い傾向がみられた。

なお、古典型 Fabry 病家系 (母親: 症例 c、15 歳兄: 症例 a) の無症状の 12 歳の症例 b は、生化学的検査でヘミ接合体と診断された症例である。また、無症状の 3 歳男児 (症例 d) と四肢痛を訴えている 5 歳の姉 (症例 e) には、古典型 Fabry 病によくみられる L403S 変異が同定されている。

古典型 Fabry 病ヘミ接合体の症例 k、l、m、n は酵素療法中に経時的に尿 GL-3 を測定し、その効果を検討した症例である。

$Ccr < 30.0 \text{ mL/min}$ 以下の 36 歳男性 (症例 f) は CAPD で、52 歳の症例 g と 42 歳の症例 h は血液透析で、それぞれ治療されている。

無症状の 14 歳男児 (症例 i) と蛋白尿が陽性の 43 歳の母親には、心型異型 Fabry 病にみられる M296I 変異が証明されており、こ