

のグループに分類した⁽¹⁸⁾。

その他の症例も、臨床症状、家族歴、血漿または白血球の α -Gal A 活性値、或いは ELISAによる尿中 α -Gal A 蛋白測定値、必要な場合は遺伝子変異の解析を行って、Fabry病ヘミおよびヘテロ接合体を診断した。

正常成人 1,140 例 (平均年齢 36.2 \pm 9.6 歳、年齢範囲 19~65 歳、男女比 75 : 25) を研究対照とした。

(倫理面への配慮)

Fabry 病患者および対照の成人の尿の採取においては、研究目的を十分に説明し、了承を得てから行った。

C. 研究結果

(1) 健常者と Fabry 病ヘミおよびヘテロ接合体症例の尿 GL-3 値について

健常者と古典型 Fabry 病ヘミ接合体 23 例、ヘテロ接合体 15 例並びに心型異型 Fabry 病ヘミおよびヘテロ接合体の尿 GL-3 測定値は図 1 に示した。

対照群に比較して、症状のある Fabry 病男性は、 $Ccr \geq 30 \text{ mL/min}$ の Group A も $Ccr < 30 \text{ mL/min}$ の group B も、尿 GL-3 の平均値は有意 ($p < 0.001$) に高値であった。

また、 $Ccr \geq 30 \text{ mL/min}$ の Group A と $Ccr < 30 \text{ mL/min}$ の group B の尿 GL-3 の平均値を比較したところ、両群の間には有意差はみられなかった。ここで特に透析中の症例 (f)、(g)、(h) の尿 GL-3 値に注目したが、その他の腎機能が低い Fabry 病症例の値と差異はなく、透析例でも尿 GL-3 の値が Fabry 病の診断の参考になると思われた。

更に、無症状のヘミ接合体の 3 歳の症例 (d) と 12 歳の症例 (b) の尿 GL-3 値に注目したところ、その値はそれぞれ 4.35 $\mu\text{g/mg Cr.}$ 、および 1.12 $\mu\text{g/mg Cr.}$ であり、対照グループとの重なりはみられなかった。しかし、2 例中 1 例 (症例 b) は、ヘテロ接合体との鑑別が困難と思われた。

なお、症状のあるヘミ (group A) の尿 GL-3 の平均値に比較して、症状のあるヘテロ (group D) の尿 GL-3 の平均値は、有意差 ($p < 0.001$) をもって低値を示し、更に無症状の症例を含めたヘミ接合体 23 例 (group A,B,C) の尿 GL-3 の平均値に比較して、ヘテロ接合体 15 例 (group D と E) の尿 GL-3 の平均値は、前者と同様に有意差 ($p < 0.001$) を持って低値であった。しかし、個々の症例の測定値をみるとヘミ接合体 23 例中 4 例 (17.4%) がヘテロ接合体の尿 GL-3 値の範囲であった。

また、症状のあるヘテロ接合体 (group D) の尿 GL-3 の平均値は、対照群の平均値よりも有意 ($p < 0.001$) に高く、症状のないヘテロ (group E) の尿 GL-3 の平均値も $p < 0.05$ の有意差で対照群より高値であった。しかし、個々の測定値をみるとヘテロ接合体 15 例中 4 例 (26.7%) が正常範囲にあり、特に無症状のヘテロ接合体の 6 例中 3 例 (50%) の尿 GL-3 値が正常範囲であったので、尿 GL-3 値を測定してヘテロ接合体の診断をする場合には、注意が必要と思われた。

心型異型 Fabry 病の家系の無症状の男性 (14 歳、症例 i) の尿 GL-3 値は、0.07 $\mu\text{g/mg Cr.}$ で対照との鑑別は困難と思われた。蛋白尿が陽性の 37 歳の患児の母親 (症例 j) の尿 GL-3 は 0.32 $\mu\text{g/mg Cr.}$ で、正常

範囲内であり、心型異型 Fabry 病ヘミ接合体とヘテロ接合体の診断は、本法では不可能と思われた。

(2) 古典型 Fabry 病ヘミ接合体の尿 GL-3 値に及ぼす酵素療法の影響

Ccr \geq 30mL/min 以上の古典型 Fabry 病 2 例(症例 k:19 歳、症例 l:40 歳)と Ccr<30mL/min の Fabry 病 2 例(症例 m;42 歳 Ccr 25mL/min および症例 n:62 歳 Ccr 11mL/min) にヒト α -Gal A を体重 1kg あたり 1mg を 2 週に 1 回静注する酵素療法を行い、来院毎に酵素療法実施前に尿を採取し、尿 GL-3 を測定し、治療効果との関係を検討した。

その成績は図 2 に示すように、腎機能が正常な 2 例中の 1 例(症例 k) は、治療前の尿 GL-3 値が 31 μ g/mg Cr.であったものが酵素療法 2 回目以降 10 回目位までは 10~20 μ g/mg Cr.の範囲となり、12 回目頃に一旦 2.5 μ g/mg Cr.にまで減少したものの、13 回目以後に漸増し、5~15 μ g/mg Cr.の値を維持しており、尿 GL-3 値は正常範囲にまで回復していない。

他方、症例 l は、治療前に尿 GL-3 値が 37.4 μ g/mg Cr.であったものが、酵素療法開始後順調に下降し、治療 9 回目頃には 0.3 μ g/mg Cr.の正常範囲になった。その後 11 回目頃に一旦 6 μ g/mg Cr.にまで上昇したが、13 回目以降は 0.8 μ g/mg Cr.以下の値を維持していた。

Ccr が 25mL/min に低下している 42 歳の Fabry 病患者では、治療前から治療 4 回目まで尿 GL-3 値は 1.5~3.8 μ g/mg Cr.の範囲にあったが、5 回目から 11 回目までは 0.4~2.0 μ g/mg Cr.に減少したものの、12 回目以降は 1.9~4.0 μ g/mg Cr.で治療初期

の値にまで上昇している。

これに対して、Ccr が 11mL/min に低下している 62 歳の患者では、治療前と治療 2 回目の尿 GL-3 値が 1.7~3.2 μ g/mg Cr.であったが、治療 3 回目に急速に低下し、その後は 0.3~1.0 μ g/mg Cr.の値を維持している。

D. 考察

尿中の GL-3 は尿沈渣に含まれていることが知られていた⁽¹⁰⁾。そこで尿沈渣を分離し、沈渣の脂質を抽出し、その中の糖脂質を分離してからいろいろな分析機器によって GL-3 を測定する方法⁽¹⁰⁻¹⁴⁾が最近まで用いられてきたが、操作が繁雑で尿 GL-3 は余り広く測定されていなかった。

2002 年に Mills ら⁽¹⁵⁾は、MS/MS を用いて血漿中の GL-3 を簡単に測定する方法を開発し、報告した。筆者らはこの方法を若干改変して、全尿中の GL-3 を簡単に測定する方法を開発して報告した^(16,17)。

本研究ではこの方法によって、Fabry 病を有効に診断できるか、本症の発症前診断が可能か、尿 GL-3 を治療中に経時的に測定して酵素療法の効果を評価できるか等を検討した。

尿 GL-3 は古典型 Fabry 病のヘミ接合体では腎機能の低下の有無とは無関係に尿 GL-3 は上昇しており、3 歳と 12 歳の発症前の症例でも高値であったので、発症前の症例を含めて尿 GL-3 を測定すればその診断は可能と思われた。

また、血液透析や CAPD による透析中の Fabry 患者でも、尿 GL-3 は上昇しており、これらの症例の診断にも使用できる可能性がある。しかし、これまでの報告のように、

心型異型 Fabry 病では、14 歳のヘミ接合体も、その母親の蛋白尿陽性のヘテロ接合体も尿 GL-3 は正常範囲にあったので、尿 GL-3 を測定して診断するのは困難と思われた。これまでの報告によると、尿 GL-3 の測定によって Fabry 病のヘテロ接合体の診断が可能という報告⁽¹³⁾もあるが、一部の症例の診断は困難であるという報告もある。今回の研究によると、約 10% 程度の見逃しはあるものの、症状のあるヘテロ接合体女性の大部分の尿 GL-3 は上昇しているので、診断の参考になると思われた。しかし、無症状のヘテロ接合体では、約半数の症例の尿 GL-3 は正常範囲にあり、その発症前の診断は困難と思われた。

以上の成績から一般人口集団の尿 GL-3 を測定すれば、古典型 Fabry 病ヘミ接合体のスクリーニングは可能と思われ、また、本法は蛋白尿陽性の人口集団等についての Fabry 病スクリーニングにも有効に使用できると思われた。

次に Fabry 病に対する酵素療法等の治療効果をモニタリングするのに尿 GL-3 の測定が使用できるか否かを検討したところ、これまで使用できるとした報告^(2,3,19)があるものの、有効な方法ではないとした報告⁽²⁰⁾もみられていた。

今回の研究では Mills⁽²⁰⁾らの報告と同様に、治療効果を評価できる症例はみられたが、必ずしも治療経過と一致せず、尿 GL-3 値に大きな変動がみられたので、その原因等について今後十分に検討する必要があると思われた。

E. 結論

(1) 全尿中の GL-3 を測定して Fabry 病を

診断する方法として本法は、採血せずに尿で簡単に診断できるので、小児においても広く使用できる方法と思われた。

(2) しかし、心型異型 Fabry 病の尿 GL-3 は正常範囲であり、本法では診断することは不可能であった。従って、古典型および腎型 Fabry 病の診断、特に発症前診断に有効であり、透析患者の Fabry 病の診断にも使用できるのでスクリーニング法として有用と思われた。

(3) Fabry 病の酵素療法の効果をモニタリングするのに有効か否かを検討したところ、一部の症例では有効と思われる成績が得られたが、尿 GL-3 値には多くの因子が関与するものと思われ、成績が必ずしも一定でなく、今後の検討が必要と思われた。

REFERENCES

- [1] R.J. Desnick, Y.A. Ioannou, C.M. Eng, α -Galactosidase A deficiency: Fabry disease. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. McGraw-Hill, New York, 8th ed. Vol. 3. (2001) 3733-3774.
- [2] R. Schiffmann, G.J. Murray, D. Treco, P. Daniel, M. Sellos-Moura, M. Myers, J.M. Quirk, G.C. Zirzow, M. Borowski, K. Loveday, T. Anderson, F. Gillespie, K.L. Oliver, N.O. Jeffris, E. Doo, T.J. Liang, C. Kreps, K. Gunter, K. Frei, K. Crutchfield, R.F. Selden, R.O. Brady, Infusion of α -galactosidase A reduces tissue globotriaosyl-ceramide storage in patients with Fabry disease, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 97 (2000) 365-370.
- [3] R. Schiffmann, J.B. Kopp, H.A. Austin III, S. Sabnis, D.F. Moore, T. Weibel, J.E. Balow, R.O. Brady, Enzyme replacement therapy in Fabry disease: a randomized controlled trial, J. Am. Med. Assoc. 285

(2001) 2743-2749.

[4] C.M. Eng, N. Guffon, W.R. Wilcox, D.P. Germain, P. Lee, S. Waldek, L. Caplan, G.E. Linthorst, R.J. Desnick, Safety and efficacy of recombinant human alpha-galactosidase A replacement therapy in Fabry's disease, *N. Engl. J. Med.* 345 (2001) 9-16.

[5] R.J. Desnick, R. Brady, J. Barranger, A.J. Collins, D.P. Germain, M. Goldman, G. Grabowski, S. Packman, W.R. Wilcox, Fabry disease, an under-recognized multisystemic disorder: Expert recommendations for diagnosis, management, and enzyme replacement therapy, *Ann. Intern. Med.* 138 (2003) 338-346.

[6] W.R. Wilcox, M. Banikazemi, N. Guffon, S. Waldek, P. Lee, G.E. Linthorst, R.J. Desnick, and D.P. Germain, for the International Fabry Disease Study Group, Long-term safety and efficacy of enzyme replacement therapy for Fabry disease, *Am. J. Hum. Genet.* 75 (2004) 65-74.

[7] G.D. Schoenmakere, D. Chauveau, J.-P. Grünfeld, Enzyme replacement therapy in Anderson-Fabry's disease: beneficial clinical effect on vital organ function, *Nephrol. Dial. Transplant* 18 (2003) 33-35.

[8] B.M. Brenner, J.-P. Grünfeld, Renoprotection by enzyme replacement therapy, *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 13 (2004) 231-241

[9] S.H. Morgan, M.A. Crawford, Anderson-Fabry disease, *Brit. Med. J.* 297 (1988) 872-878.

[10] M. Philippart, L. Sarlieve, A. Manacorda, Urinary glycolipids in Fabry's disease. Their examination in the detection of atypical variants and the presymptomatic state, *Pediatrics* 43 (1969) 201-206.

[11] R.J. Desnick, C.C. Sweeley, W. Kravit, A method for the quantitative determination of neutral glycolipid sphingolipids in urine sediments, *J. Lipid Res.* 11 (1970) 31-37.

[12] R.J. Desnick, G. Dawson, S.J. Desnick, C.C. Sweeley, W. Kravit, Diagnosis of glycosphingolipidoses by urinary-sediment analysis, *N. Engl. J. Med.* 284 (1971) 739-744.

[13] W.J.L. Cable, R.H. McCluer, E.H. Kolodny, M.D. Ullman, Fabry disease: Detection of heterozygotes by examination of glycolipids in urinary sediment, *Neurology* 32 (1982) 1139-1145.

[14] J. Ledvinova, H. Poupetova, A. Hanackova, M. Pisacka, M. Elleder, Blood group B glycosphingolipids in alpha-galactosidase deficiency (Fabry disease): influence of secretor status, *Biochim. Biophys. Acta* 1345 (1997) 180-187.

[15] K. Mills, A. Johnson, B. Winchester, Synthesis of novel internal standards for the quantitative determination of plasma ceramide trihexoside in Fabry disease by tandem mass spectrometry, *FEBS letters* 25919 (2002) 1-6.

[16] T. Kitagawa, M. Owada, N. Ishige, K. Suzuki, T. Ohashi, Y. Eto, K. Mills, B. Winchester, J. Keutzer. Pilot study of mass screening for Fabry's disease (FD) by measuring globotriaosylceramide (GL-3) in whole urine samples using tandem mass spectrometry (TMS), *J. Inherit. Metab. Dis.* 26 (2003) Suppl 2, 157.

[17] T. Kitagawa, N. Ishige, K. Suzuki, M. Owada, T. Ohashi, M. Kobayashi, Y. Eto, A. Tanaka, K. Mills, B. Winchester, J. Keutzer, Non-invasive screening method for Fabry disease by measuring globotriaosylceramide in whole urine samples

using tandem mass spectrometry
Molecular Genetics Metabolism 2005,
in print

[18] S. Nakao, T. Takenaka, M. Maeda, C. Kodama, A. Tanaka, M. Tahara, A. Yoshida, M. Kuriyama, H. Hayashibe, H. Sakuraba, An atypical variant of Fabry's disease in men with left ventricular hypertrophy, N. Engl. J. Med. 333 (1995) 288-293.

[19] F. Boscaro, G. Pieraccini, G. la Marca, G. Bartolucci, C. Luceri, F. Luceri, G. Moneti, Rapid quantitation of globotriaosylceramide in human plasma and urine: a potential application for monitoring enzyme replacement therapy in Anderson-Fabry disease, Rapid Commun. Mass Spectrum 16

(2002) 1507-1514.

[20] Mills K, Vellodi A, Morris P, Cooper D, Morris M, Young E, Winchester B, Monitoring the clinical and biochemical response to enzyme replacement therapy in three children with Fabry disease. Eur. J. Pediatr. 163(2004),595-603

表1 Fabry病ヘミおよびヘテロ接合体の症例グループ

Group	Group A	Group B	Group C	Group D	Group E	Group F	
Clinical phenotype	Classic type Fabry disease					Cardiac variant (case i / case j)	
Hemi or Heterozygous	Hemizygous			Heterozygous		Hemi/Hetero	
Clinical symptoms	Symptomatic		Asymptomatic	Symptomatic	Asymptomatic	Asymp/Symp	
Creatinine clearance (Ccr)	Ccr \geq 30.0 mL/min	Ccr<30.0 mL/min	Within normal range	Within normal range	Within normal range	Within normal range	
Number of patients	14	7	2	9	6	1/1	
Potemuria (positive rate)	5/14	7/7	0/2	2/9	0/6	0/1 1/1	
Age (year)	Mean	28	45	8	46	30	14 43
	range	19-42	32-62	3-12	5-65	10-55	- -

図1 健常者とファブリー病ヘミおよびヘテロ接合体症例の尿中総GL-3値の分布

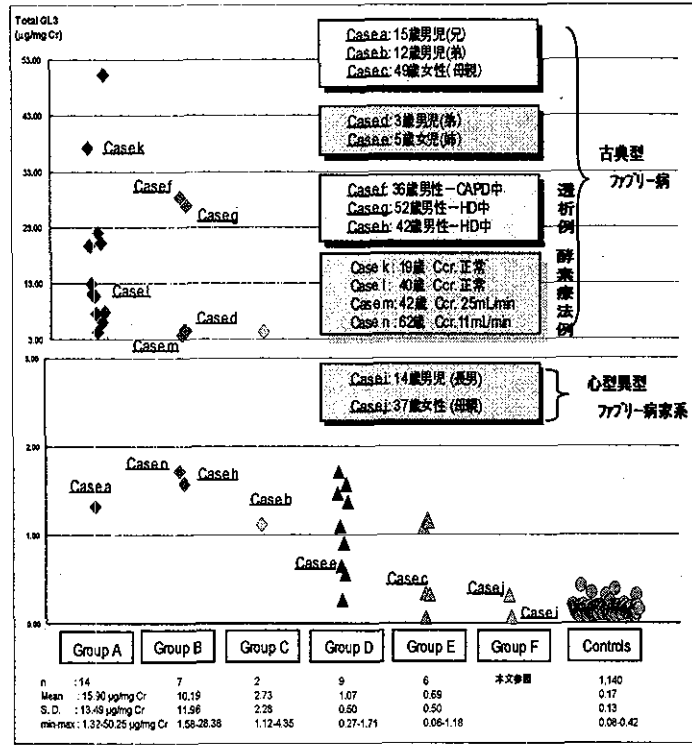
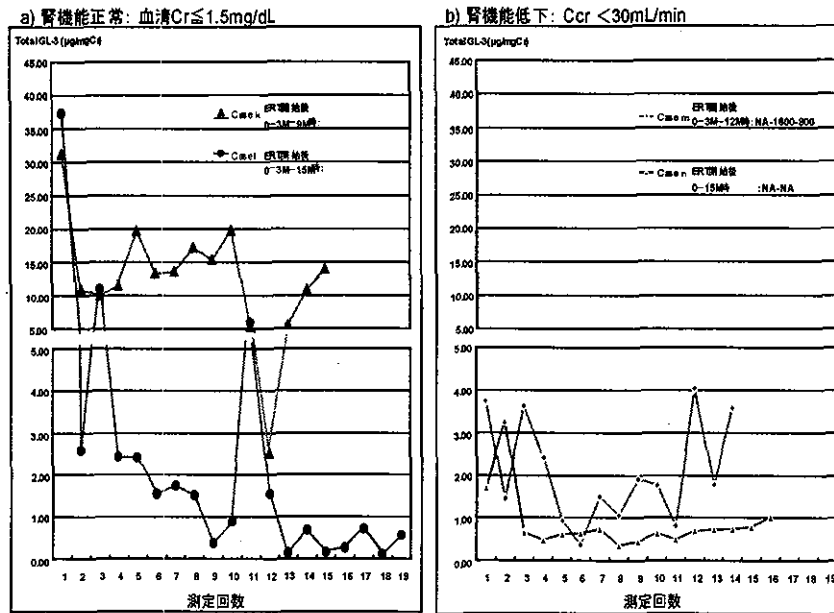


図2 ERT 実施前から実施後の尿中GL-3値の経時的変化



平成 16 年度 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」

分担研究報告書

ニーマンピック病 B 型の心機能異常に関する検討

分担研究者 高田五郎 秋田大学医学部小児科

研究要旨

ニーマンピック B 型は神経症状がなく成人まで生存可能だが著明な肝脾腫、肺機能異常などにより QOL の低下を示すことが問題となる。慢性的な肺機能低下に伴い肺性心（右心不全）の合併が報告されている。ニーマンピック病 B 型（遺伝子型 S436R/S436R）で左心機能異常を呈した姉妹例を提示した。1 例は急速な心不全の進行により死亡した。剖検の結果、心筋内動脈壁の肥厚という特徴的な所見が認められた。組織学的にはニーマンピック細胞（CD68 陽性細胞）の浸潤ではなく動脈壁平滑筋細胞の腫大が主な所見であった。本疾患では細胞のコレストロール排泄障害により低 HDL 血症を伴う。動脈壁肥厚の原因に関して脂質輸送異常から考察した。

はじめに

ニーマンピック病(NPD)A・B 型は酸性スフィンゴミエリナーゼ(ASM)の異常によりライソゾームにスフィンゴリエリン(SM)が蓄積する疾患で、ライソゾーム病の 1 つである。神経退行を示す重症神経型(A 型)、肝脾腫・肺機能低下を主症状とする非神経型(B 型)に分類される。B 型 NPD は神経症状を示さず成人まで生存するが呼吸器合併症による呼吸機能低下や著明な肝脾腫により QOL の低下が問題となる。循環器系の問題として心臓合併症の報告は少ないが肺機能低下に伴う肺性心(Cor pulmonale)の報告はされている。我々は B 型 NPD の姉妹例で 20 才を過ぎ心機能異常（左心機能異常）を示した症例を経験した。1 例は急速に心不全となり死亡した。家族の同意を得て行った剖検にて心臓に特異的な所見を認めたので報告する。本疾患は現在、酵素療法の臨床試験がはじまり、まだ不明な

点が多い長期予後に関して情報収集が世界的になされているが参考となる所見と思われる。

症例

症例 1 (姉) は 1 才 6 ヶ月時に肝脾腫を主訴に当科を受診した。眼底にチェリーレッドスポット、骨髄に泡沫細胞が認められたため NPD が疑われ、白血球の酸性スフィンゴミエリナーゼ活性の測定が行われ活性の低下が示され NPD の確定診断となった。著明な肝脾腫以外は神経症状も示さず短大を卒業した。症例 2 (妹) は 1 才時に NPD の診断がなされた。症例 1 と同様な経過で短大に入学し在学习中である。姉妹の酸性スフィンゴミエリナーゼの遺伝子診断は S436R/S436R で private な遺伝子異常であった。

症例 2 は 19 才 6 ヶ月頃から歩行時の呼吸困難を訴えるようになった。その 2 ヶ月後心不全で緊急入院となった。胸部 X 線では著明

な心拡大 (CTR72%) を認め、心エコー検査では LVEDd 70.0mm、LVESd 65.7mm, %FS 6.1%と著明な左心機能低下を示していた。心不全の鋭敏な指標である心利尿ペプチドも BNP 250pg/ml (正常<20pg/ml) と著明な高値を示していた。利尿剤および心作動薬にて一旦改善を示し (BNP 170pg/ml まで低下) 在宅酸素療法で、半年後に再び心不全となり集中治療に反応せず死亡した。

症例 1 は心不全症状を示さず経過しているが精査したところ心エコーで左心機能異常が認められた。心利尿ペプチドも BNP20~40pg/ml (正常<20pg/ml) と軽度上昇値を示して経過している。

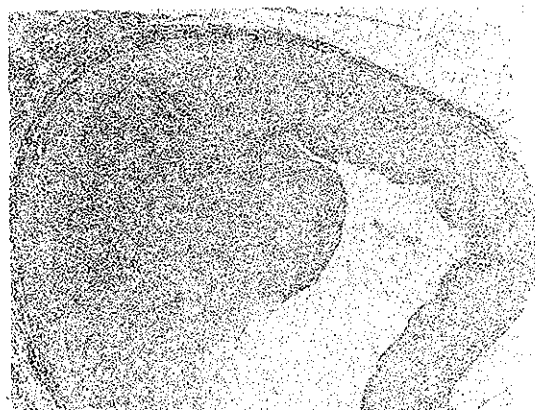
剖検所見

【肝・脾】肝では肝細胞の腫大、泡沫細胞の浸潤など典型的な所見を認めた。脾でもニーマンピック細胞の密な浸潤を認めた。

【肺】肺胸腔への高度のニーマンピック細胞の浸潤を認めた。

【心臓】心筋に関して特徴的な所見はなかったが、虚血性の変化である wavy necrosis の所見は明らかであった。大動脈弁の肥厚の所見を認めた。大動脈弁内膜下に CD68 陽性の細胞 (ニーマンピック細胞) を少数認めたが、肥厚の原因はニーマンピック細胞の浸潤ではなく内膜下細胞、おそらく平滑筋細胞の肥厚が原因と思われた。最も特徴的な所見は心筋内動脈壁の肥厚で、これらの細胞も CD68 陰性、SMA 陽性の細胞で、平滑筋細胞の腫大によるものと思われた。冠動脈左前下行枝には著明な内膜下の肥厚所見が認められた (図 1)。これらの所見に伴う心筋の虚血性変化は認められなかった。

図 1



考察

ニーマンピック病 B 型では慢性的な呼吸機能の低下が認められるため肺性心の合併は考えられ、またそのような症例報告もある。しかし提示した症例は姉妹で左心機能低下を示したこれまでに報告のない症例であった。また剖検でも心筋内動脈壁の肥厚という特徴的な所見を示していた。この肥厚の原因はニーマンピック細胞 (CD68 陽性細胞) の浸潤ではなく平滑筋細胞 (SMA 陽性細胞) の腫大であった。この平滑筋細胞の腫大に関して原因は不明である。

最近 B 型 NPD の臨床経過に関する臨床データの蓄積が海外で行われている。その解析によると本症の特徴として低 HDL 血症の合併が挙げられる。HDL は末梢組織より肝へのコレステロールの輸送に関わり体内のコレステロール排泄系の大きな因子である。本症の培養皮膚線維芽細胞を用いた検討でも Filipin 染色陽性のコレステロールの蓄積が証明されている。もちろん本症では酵素異常によるスフィンゴミエリンのライソゾーム内蓄積が本態であるが、これが 2 次的に末梢細胞

からのコレステロール排泄障害を来している可能性も考えられる。すなわち動脈硬化に対して促進因子を持つことで冠動脈病変が出現しやすいことが考えられる。今回の動脈壁肥厚に関は平滑筋細胞の肥厚所見が主でいわゆる動脈硬化所見とは異なる所見であった。しかしこの平滑筋細胞肥厚の原因がコレステロールなどの脂質の排泄障害である可能性は強いと思われる。タンジール (Tangier) 病は細胞からのコレステロール排泄に関与する ABC 蛋白 (ABCA1) の異常で低 HDL 血症を起こす疾患である。この疾患では末梢に泡沫細胞が蓄積するのが特徴である (扁桃腺など)。本疾患でも文献的に平滑筋細胞の腫大の報告がされており今回の報告例と同様である。

本疾患に対する酵素療法の臨床試験が開始されようとしている。しかし病態に関して不明な点も多く酵素療法の進展に伴い明らかとなる点も多いことが予想される。

結語

心機能異常を示したニーマンピック病 B 型の症例の臨床経過と剖検所見を示した。心臓に関して心筋内動脈壁の著明な肥厚が特徴的であった。その病因に関して細胞内脂質の排泄異常の関与が考えられ考察した。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

ライソゾーム病の病因、病態の解明、治療に関する研究

分担研究者：難波 栄二 鳥取大学生命機能研究支援センター教授

研究要旨：GM₁-ガングリオシドーシス神経障害に対するケミカルシャペロン (NOEV) を用いた新しい治療法開発のための基礎的な検討を行った。新しい化合物 NOEV は、モデルマウス脳由来初代神経系培養細胞の残存酵素活性を上昇させ、細胞内 GM₁ の蓄積を解消した。また、遺伝子変異型の違いによる NOEV の効果を検討するために、ヒト変異を導入した細胞系を樹立し、いくつかの培養細胞で予備的な検討を行った。

A. 研究目的

中枢神経障害を伴う GM₁-ガングリオシドーシスに対する新しい治療法ケミカルシャペロンの開発を行っている。昨年までに、ケミカルシャペロンとして新しい化合物 NOEV を開発した。本年度は、培養神経細胞を用いた効果を検討した。さらに、遺伝子変異による効果の差を検討するために、ヒトの変異遺伝子 56 種類を導入したモデル細胞を樹立している。これらの培養細胞の一部を用いて、NOEV の効果を予備的に検討した。

B. 研究方法

1. 脳神経細胞の初代培養と NOEV の効果

生後 4 日のβ-ガラクトシダーゼ遺伝子ノックアウトマウス、ヒト変異遺伝子 (R201C、I51T) ノックインマウス大脳を採取し、アストロサイトを分離、培養した。また、生後 8 日のマウス小脳より顆粒細胞の培養を行った。β-ガラクトシダーゼ酵素活性は 4MU 人工基質を用い、細胞内 GM₁ の蓄積解消実験は抗 GM₁ 抗体蛍光染色により確

認した。

2. ヒト変異β-ガラクトシダーゼ蛋白質発現系と NOEV の効果

ヒト変異β-ガラクトシダーゼ遺伝子を CMV プロモーターを含むベクターに導入した。また、N 末端に GFP または FLAG 標識したβ-ガラクトシダーゼ遺伝子発現ベクターを構築した。これらのベクターをノックアウトマウス由来繊維芽細胞にリポフェクション法で導入した後、培養液に 0.2μM の NOEV を加え 4 日間培養し、一過性の遺伝子発現とβ-ガラクトシダーゼ酵素活性を検討した。また、β-ガラクトシダーゼ蛋白質の発現は抗 GLB1 抗体、抗 GFP 抗体、抗 FLAG 抗体を用い免疫蛍光染色とウエスタンブロットにより検討した。

C. 研究結果

1. 培養神経細胞に対する NOEV の効果

ノックアウトおよび R201C、I51T マウ

ス大脳由来培養アストロサイトおよび小脳顆粒細胞ではライソゾーム内に G_{M1} の蓄積が見られた。アストロサイトに $0.2\mu M$ NOEV を投与することにより残存酵素活性が上昇し、細胞内 G_{M1} の蓄積も減少した

2. ヒト変異 β -ガラクトシダーゼ蛋白質発現系と NOEV の効果

27 種類のヒト β -ガラクトシダーゼ遺伝子異常のうち、R201C、R201H、R457Q、W273L、Y83H、R59H、V240M、V216A の 8 種類は、NOEV により酵素活性が上昇した。N 末端に GFP または FLAG 標識した β -ガラクトシダーゼ遺伝子の発現により分子量 88kDa の前駆体と 64kDa の成熟型蛋白質を検出し、それらの活性も認められた。

D. 考察

昨年までの検討で NOEV の 1 週間の経口投与により R201C マウス脳組織における活性上昇と G_{M1} の蓄積減少を見出していた。今回培養アストロサイトに対しても同様の効果を確認することができ、NOEV の脳病変への有効性を直接確認することができた。培養顆粒神経細胞への効果は現在検討中である。

遺伝子変異型での NOEV の検討では、遺伝子変異により、効果の差があることが明らかになってきた。今後は、すべての遺伝子変異の検討を行うとともに、マウス個体に対する検討も必要と考えられた。

E. 結論

培養神経系細胞に対しても NOEV は有効であることを直接示した。ヒト変異 β -ガラ

クトシダーゼ発現実験系の結果 8 種類の変異型に対し NOEV が有効であった。今後、さらにマウス固体での検討も行い、臨床応用を目指す予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 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*, 1689: 219-228, 2004

2) Yamamoto T, Feng JH, Higaki K, Taniguchi M, Nanba E, Ninomiya H, Ohno K: Increased NPC1 mRNA in skin fibroblasts from Niemann-Pick disease type C patients. *Brain Dev*, 26: 245-250, 2004

2. 学会発表

1) 高村歩美、檜垣克美、山本浩一、冨永里香、松田潤一郎、難波栄二、鈴木義之： G_{M1} -ガングリオシドーシス神経変性分子メカニズムの解明とケミカルシャペロン法の研究。第 47 回日本先天代謝異常学会総会、宇都宮市、2004. 11. 11-13.

2) 檜垣克美、高村歩美、山本浩一、冨永里香、難波栄二、鈴木義之：ヒト G_{M1} -ガングリオシドーシス変異とケミカルシャペロン法の検討。第 47 回日本先天代謝異常学会総会、宇都宮市、2004.11.11-13.

3) 山本浩一、檜垣克美、高村歩美、飯田真己、難波栄二、鈴木義之：ヒト変異 β -ガ

ラクトシダーゼ遺伝子を発現するマウス細胞株の樹立と解析. 第 10 回日本ライソゾーム病研究会、東京、2004.12.10

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

『厚生労働省 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）に関する調査研究班』
分担研究報告書

ライソゾーム病における ADL および QOL 評価に関する研究
分担研究者 坪井 一哉 JR 東海総合病院

研究要旨 本研究の目的は、臨床疫学的調査として、ライソゾーム病(LSD)の自然歴の検討、および ADL, QOL に関する調査を行い、現時点での LSD 患者の実態を把握することである。このことは、現行および今後開発される治療法の効果を検討するための必要な基礎的データとなり、さらには現時点での酵素補充療法や骨髄移植療法の効果を明らかにしておくことは、新しい治療法との比較検討を行うために必要と考えられる。

今回、基本的 ADL の測定する尺度として Functional Independence Measure (FIM)を使用し ADL の評価を行った。また、健康関連 QOL を測定する包括的尺度としては Short-Form 36-Item Health Survey (SF-36)を使用し、疾患特異的尺度としては新たに G-QOL、F-QOL を作成し導入を行い、LSD の自然歴の検討を含め、ADL および QOL の評価を行い、実態調査を開始した。

A. 研究目的

欧米ではADLやQOLに関する研究活動が盛んで、一般に「アウトカム研究(Outcome Research)」と呼ばれ、医療の質を評価する「医療アウトカム」の重要な指標として明確に位置付けされている。

QOL (Quality of Life) とは「生命の質」「生活の質」などと訳され、生命に関与する疾病・症状の除去や生活を物質的な側面から量的にとらえるのではなく、精神的な側面を含めて質的にとらえる概念で、“人生や生活に対する個人的満足度”を意味する概念であり、1994年に世界保健機構(World Health Organization: WHO)は、QOLを「個人が生活する文化や価値観の中で、目標や期待、基準および関心

にかかわる自分自身の人生の状況についての認識」と定義している。

また、ADL (Activities of Daily Living) とは「日常生活活動」などと訳され、住む国や生活習慣の違いを越えて、毎日の生活のなかで行われている基本的な活動を意味する概念で、1980年に世界保健機関(World Health Organization; WHO)が制定した国際障害分類 (International Classification of Impairments, Disabilities and Handicaps; ICDH)では、障害が機能・形態障害 (impairment)、能力低下 (disability)、社会的不利(handicap)の3つのレベルに分類され、ADL 遂行能力の低下は能力低下レベルに相当していると考えられている。

従来の疫学研究では、罹患率、合併症発

生率、死亡率などの客観的アウトカムの指標が、その普遍性、定義の明確さ、個人・社会にとっての重大性などの理由から、広く一般に利用されてきた。

しかし、近年のアウトカム研究では、患者自身の主観的な評価指標を重要視することが大きな特徴であり、患者立脚型アウトカム(Patient-based Outcomes)と呼ばれ、医療の評価においても医療の受け手である患者の視点に立ったアウトカムであるQOLが重要であると考えられるようになり、患者自身が直接報告する患者の視点で捉えた主観的な健康度・機能状態を表す「健康関連QOL(health-related QOL : HRQOL)」という概念が注目を集め、指標としては、Sickness Impact Profile (SIP)、Nottingham Health Profile (NHP)、WHO/QOL-26、Short-Form 36-Item Health Survey (SF-36)などがある。

さらに、ADL と QOL は密接に関連しており、ADL を改善させることで QOL を向上させるのみではなく、高い QOL が ADL をさらに改善させるという相互の関連が指摘されている。ADL と QOL は相互に関連し、QOL の向上にとって ADL が極めて大きな要因である可能性が考えられる。

ADL の代表的な評価尺度としては、Barthel Index、PULSES Profile、機能的自立度評価法(Functional Independence Measure; FIM)などがある。

今回、HRQOL を測定する包括的尺度として SF-36 を使用し、また、疾患特異的尺度として、ゴーシェ病に対しては G-QOL を、ファブリ病に対して F-QOL を新たに作成し HRQOL の評価を開始した。

また、BADL に関しては FIM を使用し日常生活活動の評価および実態調査を開始した。

B. 研究方法

1. 対象者

2004年1月より、同年12月末までにJR東海総合病院外来初診あるいは通院中のライソゾーム病(LSD)患者(ゴーシェ病4名、ファブリ病11名)を対象とした。

対象となる全ての患者に、研究内容および主旨を十分に説明し、研究への参加の同意を得た。本研究の対象者の特性を、表1に示す。

年齢はゴーシェ病の平均38.3歳(26歳～48歳)、ファブリ病の平均40.8歳(1歳～65歳)でLSD患者の計15名を対象とした。

2. 基本的ADLの評価

ADLは基本的ADL(basic ADL; BADL)と手段的ADL(instrumental ADL; IADL)に分類されている。BADLは、食事、入浴、更衣、整容、トイレの各動作に尿便禁制を加えた身のまわり動作項目と、起居、移乗、歩行などの移動動作項目から構成され、IADLは、地域社会生活の中で共通性の高い活動を総称している。BADLの代表的な評価尺度としてBarthel Index、PULSES Profile、FIMなどがある。

FIMの項目は、①運動項目：セルフケア(6項目)、排泄コントロール(2項目)、移乗(3項目)、移動(2項目)の計13項目と、②認知項目：コミュニケーション(2項目)、社会的認知(3項目)の計5項目を加えた合計18項目から構成されている。評定尺度として、自立は「7. 完全自立」と「6.

修正自立」に分類され、介助は必要な介助の程度により「5. 監視」、「4. 最小介助」、「3. 中等度介助」、「2. 最大介助」、「1. 全介助」に分類されている。FIMの合計点と介助時間との間には高い相関関係が認められており、また、ADL能力の細かな変化を把握しやすいという利点がある。本研究では、FIM日本語版を使用しBADLの測定・評価を行なった。

3. HRQOLの評価

HRQOLを測定する尺度は、おもに包括的尺度と疾患特異的尺度に分類することが出来る。包括的尺度とは、疾患特異性のない包括的な尺度で患者の視点に立脚した健康度、およびこれに伴う日常・社会生活機能の変化を、計量心理学的な手法によって定量的に測定することを目的に作成された尺度である。健康人を含めた全ての人を対象にできるため、大規模調査をすることによってその標準値を設定することができる。

包括的尺度の指標としては、SIP、NHP、WHO/QOL-26、SF-36などがある。

本研究ではSF-36日本語版を使用した。SF-36は、米国で作成され、概念構築の段階から心理計量学的な検定に至るまで十分な検討を経て、現在、50カ国語以上に翻訳されて国際的に広く使用されている。全体で36項目からなり、以下の8つの下位尺度から構成されている：身体機能(Physical functioning) PF, 日常役割機能(身体)(Role physical) RP, 身体の痛み(Bodily pain) BP, 社会生活機能(Social functioning) SF, 全体的健康感

(General health perceptions) GH, 活力 (Vitality) VT,

日常役割機能 (精神) (Role emotional) RE, 心の健康 (Mental health) NH.

各下位尺度の得点は 0-100 点に換算され、得点が高いほど主観的健康度・機能状態が優れていることを示す。また、これら 8 つの下位尺度から、身体的健康度 (physical component summary: PCS; 前半の 4 つの下位尺度)と、精神的健康度 (mental component summary: MCS; 後半の 4 つの下位尺度)を算出することができる。

SF-36 日本語版は十分な信頼性・妥当性を有することが確認されており、本邦でも腎臓疾患をはじめとする様々な慢性疾患患者の HRQOL を評価する尺度として利用されている。本研究では、HRQOL を測定・評価するための指標として、SF-36 日本語版を使用した。

また、疾患特異的尺度とは、ある特定の疾患グループに対してその特有の症状やその影響をより詳細に測定することを目的とし、対象となる疾患に罹患している人たちに限られるという欠点は見られるが臨床的な感受性は高いという利点を伴っている。

LSD における疾患特異的尺度としての評価法は、まだ開発されていない。今回、新たにゴーシェ病に対しては G-QOL、ファブリ病に対して F-QOL を作成し、対象患者に SF-36 と同様に行い、総合的に HRQOL の評価を行なった。

4.倫理的配慮

本研究を計画するにあたり、対象者に与える負担を最小限に抑えるように配慮し、ADL 評価およびアンケート調査を行うにあたり十分な説明をしたのち、同意の得られた対象者に対し行った。

C. 研究結果

1. FIM による ADL の評価

運動項目においては、ゴーシェ病患者で骨折を伴い寝たきりの症例に関しては、セルフケア、排泄コントロール、移乗、移動のそれぞれにおいて監視・介助レベルの状態であった。しかし、他のゴーシェ病やファブリ病患者においては、全て自立レベル(完全自立)であった。また、認知項目では全症例において自立レベル(完全自立)の状態であった。(現在、解析中であり詳細は後日報告を行なう。3 歳児の症例は、FIM の対象外であり、今回、解析から除外した。小児用の Wee FIM を検討中である。)

2. 健康関連 QOL 得点と国民標準値との比較

本研究の対象者である LSD 患者(ゴーシェ病 4 名、ファブリ病 11 名)患者 15 例の SF-36 日本語版の各下位尺度得点について、日本人の国民標準値をもとに、性別と年齢を調整した偏差得点およびサマリー・スコアを算出した。

身体機能、日常役割機能(身体)、体の痛み、全体的健康感、活力、社会生活機能、日常役割機能(精神)、心の健康の 8 つの下位尺度得点は、国民標準値よりも低値を示した。さらに身体的健康度(PCS) および 精神的健康度(MCS も、国民標準値を下回る傾向が認められた。(現在、解析中であり詳細は後日報告を行なう。)

D. 考察

ADL や HRQOL は、「医療アウトカム」の重要な指標として明確に位置付けされている。従来の疫学研究では、罹患率、合併症発生率、死亡率などが、その普遍性、定義の明確さ、個人・社会にとっての重要性などの理由から、広く一般に利用されてきた。

しかし、近年では、患者自身の主観的な評価指標を重要視することが大きな特徴であり、患者立脚型アウトカム(patient-based outcomes)と呼ばれ、医療の評価においても医療の受け手である患者の視点に立った HRQOL が重要であると考えられるようになってきた。

さらに、HRQOL は ADL と密接に関連しており、ADL を改善させることで QOL を向上させるだけではなく、高い QOL が ADL をさらに改善させるという相互の関連が指摘されている。つまり QOL の向上にとって ADL が極めて大きな要因であること考えられ、相互に密接に関連している可能性が考えられる。EBM(Evidence-Based Medicine)の 4 段階といわれる実践のステップのうち、最終段階にあたる「EBM を実際の患者に適用する」という最も重要な場面で、HRQOL や ADL のようなエンドポイントが今後ますます重要になると考えられる。

本研究において、LSD における BADL および HRQOL に関する臨床疫学的調査を開始した。LSD は、稀少性疾患でもあるため一般診療で診られる疾患とは多くの点で異なっている。患者自身の症状の自覚、病名の告知、現在の病状や治療の

説明、さらには遺伝性疾患であるための婚姻や家族(子供)に対する不安、稀少性疾患であるための情報の不足や医療関係者においても疾患に対する理解、認識の隔たりがみられる。そのため健康関連 QOL に関与する因子としては、社会的要因、個人的要因、また医学的要因など様々な要因が関連していると考えられる。特に酵素補充療法が開始されたゴーシェ病やファブリ病における治療効果判定は、臨床症状、臓器障害、能力障害を評価するだけでは不十分であり、患者による主観的な評価指標である HRQOL の評価や、ADL の評価が必要であると考えられる。今回の調査においても治療経過が良好であったとしても、病気や遺伝に関する不安に伴う QOL 低下を示唆する傾向が認められた。

現在、当院における症例のみの解析であるが、今後、さらに多くの症例を蓄積し、現時点での LSD 患者の実態調査を行い、さらには自然歴を含め把握することは、現行および今後開発される治療法の効果

を検討するための必要な基礎的データとして極めて重要である。このことは現時点での酵素補充療法や骨髄移植療法の効果を明らかにし、新しい治療法との比較検討を行うためにも必要である。今後は、ポンペ病やムコ多糖症に関しても、臨床疫学調査を予定している。

E. 参考文献

1. 慶応義塾大学医学部リハビリテーション医学教室: FIM 医学的リハビリテーションのための統一データセット 利用の手引き (第3版), 1990.
2. 福原俊一、鈴嶋よしみ: 健康関連 QOL 尺度 SF-36v2 日本語版マニュアル. NPO 健康医療評価研究機構, 2004.
3. 福原俊一、鈴嶋よしみ: 健康プロフィール型尺度(SF-36 を中心に). 臨床のための QOL 評価ハンドブック, 医学書院, 2001.

Table 1

Gaucher 病

	型	年齢	性別	貧血	血小板減少	肝腫	脾腫	骨病変	痙攣
Case 1	I 型	29	M	+	+	+	/	+	-
Case 2	I 型	53	F	+	+	+	+	-	-
Case 3	I 型	50	F	+	+	+	+	-	-
Case 4	III 型	35	F	+	+	+	/	+	+

Fabry 病

	型	年齢	性別	発汗障害	四肢疼痛	眼病変	皮膚病変	腎障害	心筋障害
Case 1	古典型	58	M	+	-	-	-	+	+
Case 2	古典型	46	M	+	-	ND	-	+	+
Case 3	古典型	39	M	+	+	-	-	-	+
Case 4	古典型	35	M	+	-	-	+	-	+
Case 5	古典型	27	M	+	-	ND	-	-	+
Case 6	古典型	3	M	-	-	-	-	-	-
Case 7	ハテ口型	66	F	-	-	+	-	+	+
Case 8	ハテ口型	64	F	-	-	-	-	-	+
Case 9	ハテ口型	58	F	-	-	ND	-	-	-
Case 10	ハテ口型	51	F	-	-	ND	-	-	+
Case 11	ハテ口型	34	F	-	-	+	-	-	-
Case 12	ハテ口型	34	F	-	-	-	-	-	-

Table 2 SF-36の8下位尺度と項目

サブスケール	質問項目
身体機能	1 激しい活動をする
	2 適度の活動をする
	3 少し重い物を持ち上げる
	4 段階を数階上までのぼる
	5 階段を一階上までのぼる
	6 体を前に曲げる,ひざまずく,かがむ
	7 1キロメートル以上歩く
	8 数百メートルくらい歩く
	9 百メートルくらい歩く
	10 自分で入浴・着替えをする
日常役割機能 (身体)	11 仕事・普段の活動時間をへらした
	12 仕事・普段の活動ができなかった
	13 仕事・普段の活動の内容によっては,できないものがあった
	14 仕事や普段の活動をすることが難しかった
体の痛み	15 体の痛みの程度
	16 痛みによっていつもの仕事がさまたげられた
全体的健康感	17 現在の健康状態の評価
	18 病気になりやすい
	19 人並みに健康である
	20 私の健康は悪くなるような気がする
	21 私の健康状態は非常に良い
活力	22 元気いっぱいだった
	23 活力にあふれていた
	24 疲れ果てていた
	25 疲れを感じた
社会生活機能	26 家族・友人などとのつきあいが身体的あるいは心理的な理由でさまたげられた
	27 人とのつきあいをする時間が身体的あるいは心理的な理由でさまたげられた
	28 仕事・普段の活動時間をへらした
日常役割機能 (精神)	29 仕事・普段の活動が思ったほどできなかった
	30 仕事・普段の活動が集中してできなかった
	31 かなり神経質であった
心の健康	32 どうにもならないくらい,気分がおちこんでいた
	33 落ちついていて穏やかな気分だった
	34 おちこんで,ゆううつな気分だった
	35 楽しい気分だった