

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 17 年度 総括研究報告書

主任研究者

衛 藤 義 勝

平成 18（2006）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	
* クラッペ病の病態解析と自然歴調査	酒井 規夫 8
* ムコ多糖症の重症度と運動・認知面の ADL 評価	鈴木 康之 12
* ポンペ病患者における健康関連 QOL の全国調査	坪井 一哉 15
* ライソゾーム病 (ファブリー病含む) 調査研究	田中 あけみ 26
* ライソゾーム病症例 2 例における在宅人工呼吸器 治療の経験	高柳 正樹 29
* ライソゾーム病患者の心機能と QOL 改善に資する研究	桜川 宣男ほか 32
* 尿を用いた Fabry 病の無侵襲の早期診断法の評価 -ELISA 法による尿 $\alpha$ -ガラクトシダーゼ A 蛋白の 測定およびタンデム質量分析計による 尿グロボトリアオシルセラミドの測定-	北川 照男ほか 33
* 特異抗体を利用したファブリー病の診断法開発	桜庭 均ほか 39
* DNA マイクロアレイを応用したリシクエンシングを用いた glucocerebrosidase 遺伝子解析システムに関する研究	辻 省次ほか 43
* ライソゾーム病の遺伝子治療に関する研究	島田 隆ほか 45
* ムコ多糖症の診断と治療の改良に関する研究	奥山 虎之 48
* ウイルスベクターを用いた Krabbe 病に対する遺伝子治療 の基礎的研究	衛藤義勝ほか 50
* $\beta$ -ガラクトシダーゼ遺伝子解析とケミカルシャペロン 療法に関する研究	難波 栄二 53
* ゴーシェ病の中樞神経障害に対する治療法の開発	大野 耕策 56
* クラッペ病に対するシャペロン療法の検討	鈴木 義之ほか 59

* ニーマンピック病に関する臨床的・分子遺伝学的解析	高田 五郎……………62
* ファブリー病患者の酵素補充療法前・経過中の血液中 サイトカインと一酸化窒素の推移	芳野 信ほか……………65
* ライソゾーム病（ファブリー病含む）調査研究	松田 純子……………67
* Fabry 病酵素補充療法の副作用に対する ステロイド剤前投与の効果の検討	衛藤義勝ほか……………70
研究成果の刊行に関する一覧表	……………72

はしがき

平成 17 年度は本研究班の 2 年目にあたります。分担研究者および研究協力者の御努力で大きな成果をあげることが出来ました。本年度も引き続きライソゾーム病患者の ADL、QOL を改善するために、現行でのライソゾーム病患者さんの ADL、QOL を明らかにすると共に、現行の治療法の問題点を明らかにするとともに、それをふまえた新規診断法の開発、新規治療法の開発、そして病態の解明を行いました。いくつかの研究では実際にヒト患者さんへの応用直前のものも出てきております。

本研究班での成果がライソゾーム病患者さんの ADL、QOL の改善に役立つことを切に願っております。

最後に、御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。

平成 18 年 3 月

主任研究者  
東京慈恵会医科大学 衛藤義勝

平成 17 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・治療法の開発に関する研究・酵素補充療法 の副作用に関する研究
分担研究者			
鈴木 義之	国際医療福祉大学 臨床医学研究センター	教授	治療法の開発に関する研究
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	了後、ADL, QOL などに関する調査研究
島田 隆	日本医科大学 生化学第二講座	教授	治療法の開発に関する研究
酒井 規夫	大阪大学・医学部 小児科学	助手	了後、ADL, QOL などに関する調査研究 病態に関する研究
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	了後、ADL, QOL などに関する調査研究
大野 耕策	鳥取大学・医学部 脳神経小児科学	教授	治療法の開発に関する研究
辻 省次	東京大学・医学部 神経内科学	教授	診断法の開発に関する研究
難波 栄二	鳥取大学・遺伝子実験施設	教授	治療法の開発に関する研究
鈴木 康之	岐阜大学・医学部 医学教育開発センター	教授	了後、ADL, QOL などに関する調査研究
桜庭 均	東京都臨床医学総合研究所	部長	診断法の開発に関する研究
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	診断法の開発に関する研究
桜川 宣男	東京小児療育病院	病院長	了後、ADL, QOL などに関する調査研究
奥山 虎之	国立成育医療センター 遺伝心療科	医長	治療法の開発に関する研究
坪井 一哉	JR 東海総合病院	医長	了後、ADL, QOL などに関する調査研究
松田 純子	東海大学 未来科学技術共同研究センター	助教授	病態に関する研究

平成 17 年度厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服事業）

総括研究報告書

ライソゾーム病（ファブリー病を含む）調査研究班

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 小児科 教授

#### 研究要旨

本年度もライソゾーム病 (LSD) 患者の予後および ADL, QOL を改善させる目的で様々な研究を行った。研究項目は(1) 予後、ADL, QOL などに関する調査研究、(2) 診断法の開発に関する研究、(3) 治療法の開発に関する研究、(4) 病態に関する研究、(5) 酵素補充療法の副作用に関する研究、である。(1)ではムコ多糖症 II 型、クラッペ病、ポンペ病の自然歴、ADL, QOL を明らかにした。またムコ多糖症出生前診断に関する両親の意識状態、LSD の呼吸障害の実態、LSD の心機能障害の実態も明らかにした。(2)に関してはファブリー病の尿を用いて酵素蛋白、蓄積物質をそれぞれ ELISA 法、タンデム質量分析法で測定することによる診断方法の開発、ファブリー病欠損酵素に対するモノクローナル抗体によるリンパ芽球を用いた診断法の開発、マイクロアレイを用いてのゴーシェ病の欠損酵素のハイスループットな遺伝子解析法の開発を行った。(3)に関しては異染性脳白変性症の欠損酵素と、その活性化因子を発現する 2 つの AAV ベクターによる遺伝子治療法の開発、ケミカルシャペロン法による GM1 ガングリオシドシス、クラッペ病、ゴーシェ病の治療法の開発、神経幹細胞移植によるムコ多糖症 VII 型の細胞治療法の開発、そして HIV ベクターによるクラッペ病の遺伝子治療法の開発を行った。(4)に関してはニーマンピック病 C 型の遺伝子解析と病態検討、ファブリー病の血管障害に対する一酸化窒素の影響を明らかにするため患者の血中サイトカイン濃度の検討、Saposin D のノックアウトマウスを作成することにより Saposin D の生体内での生理的意義の検討などを行った。また Saposin A ノックアウトマウスへの骨髄移植の有効性も明らかにした。(5)に関してはファブリー病酵素補充療法の投与時反応に検討を加え、その実態を明らかにすると共に、予防としてステロイド投与の有効性を明らかにした。

分担研究者氏名・所属施設名及び所属施設における職名		
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	教授
分担研究者氏名・所属施設名及び所属施設における職名		
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	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
桜川直男	東京小児療育病院 再生医学寄付講座	病院長
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
松田純子	東海大学未来科学技術 共同センター	助教授

#### 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於ける、LSD患者の自然歴、ADL、QOLの実態を把握し、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および、より詳細な病態の解明より現在の診断法、治療法の問題点を抽出し、今後の診断法、新規治療法開発に結びつける必要もある。以上に関して様々な研究を行った。

#### B. 研究方法

##### 予後、ADL、QOLなどに関する調査研究

- 自然歴に関してはクラッペ病を対象に家族会を通して調査を行う目的で調査表の準備をした。
- ADLの評価としては29名のムコ多糖症II型患者および正常者を対象

にFIM質問紙にWeeFIMの内容を追加した質問紙を用いて行った。これは家族が記入し専門医が判断した。

- QOLの評価はポンペ病患者23名を対象に包括的尺度としてSF-36を、疾患特異的尺度としてP-QOLを新たに作成して行った。調査は患者会を通して行った。
- ムコ多糖症の出生前診断に対する意識調査をムコ多糖症患者の両親90名を対象に行った。
- LSDの呼吸管理の状態を分担研究者の施設で診療中の18例について調査研究を行った。
- LSDの心機能を重症心身障害者施設に入院または通院中の9例につき調査研究を行った。

##### 診断法の開発に関する研究

- ファブリー病の非侵襲的な診断法の確立をめざし、ELISA法による尿中 $\alpha$ -galactosidaseの測定、タンデム質量分析法による、尿中globotriaosylceramide(GL3)測定の有効性を432名の健常者、40名のファブリー病ヘミ接合患者、29名のファブリー病ヘテロ接合の尿を用いて検討した。
- やはりファブリー病の早期診断法、および病態の解明のために $\alpha$ -galactosidaseに対するモノクローナル抗体の作成を行った。
- パーキンソン病の発症にゴーシェ病の欠損酵素であるglucocerebrosidaseの遺伝子変異が関係するかを明らかにするため、マイクロアレイを用いたハイスループットな遺伝子解析法の開発を行った。

##### 治療法の開発に関する研究

- AAVベクターを用いての異染性脳白質変性症の遺伝子治療法の開発を、モデルマウスを用いて行った。より有効な遺伝子治療法を開発するため

本症の欠損酵素である Arylsulfatase A (ASA) 遺伝子とその活性化酵素である Formyl-glycin generating enzyme (FGE) を同時発現させることを試みた。

- ムコ多糖症 VII 型の神経幹細胞移植による治療法の開発を試みた。治療効果の判定は病理、生化学的ばかりでなく、海馬機能の改善も検討した。
- HIV ベクターによる遺伝子治療法の開発を、クラッペ病を対象にモデルマウスを用いて行った。作成した HIV ベクターを *in vitro* で細胞へ感染させたり、*in vivo* で生直後のモデルマウスに静脈内投与することにより治療効果を検討した。
- ケミカルシャペロン法に関しては GM1 ガングリオシドーシス、ゴーシェ病、クラッペ病を対象に行った。GM1 ガングリオシドーシスに関しては DHPLC (Denaturing high performance liquid chromatography) 法を用いて患者での新たな変異を明らかにするとともに、それらの変異に対するケミカルシャペロン (NOEV) の効果を検討した。ゴーシェ病に関しては NOV の効果を様々な患者細胞および精製酵素を用いて検討した。クラッペ病に関しては NOEV の効果を、患者細胞抽出液を用いて検討した。同時に サポシン A の酵素活性増強作用も検討した。

#### 病態に関する研究

- ニーマンピック病 C 型の新規症例の遺伝子検索を行うとともに、これらの細胞でのコレステロールの蓄積状況、Sphingomyelinase 活性および、その局在を検討した。
- スフィンゴリピド活性化蛋白のひとつである、Saposin D ノックアウトマウスを作成し、その病態を検討した。また以前作成し Saposin A ノックアウトマウスへの骨髄移植の有効性を検討した。
- ファブリー病における血管障害を明らかにする目的で患者血中サイトカイン濃度および一酸化窒素代謝産物濃度を検討した。
- クラッペ病の遺伝子解析を新規症例 17 例に行った。

#### 酵素補充療法の副作用に関する研究

- 当該施設で 1 年以上酵素補充療法を受けている古典型ヘミ接合ファブリー病患者 20 例に関して、そのアレルギーの出現状況を調査研究した。

#### C. 研究結果および考察

##### 予後、ADL、QOL などに関する調査研究

- クラッペ病の自然歴調査は現在まだ調査票案の作成が終了した段階である。この調査票は継時的に調査可能なものになるように心がけた。最終年度に実際の調査を行う予定である。
- ムコ多糖症 II 型の FIM を用いての ADL 調査では成人軽症型では小児期は正常な伸びを示すが成人以降運動面、認知面で ADL は低下した。重症患者は運動面、認知面で小児期すでに ADL の低下が認められ、運動面、認知面で、それぞれ 3 歳、2 歳以下の能力がピークであった。FIM では、各年齢で利用でき、ADL の継時的変化を定量化できるため、以上の結果は酵素補充療法や造血幹細胞移植の効果判定に有用であると考えられた。
- ポンペ病を対象とした QOL 調査では国民水準に比べ、身体的健康および精神健康ともに低下が認められ、特に身体的健康は呼吸不全、筋力低下などのために低下が著しかった。これらのデータは今後始められる酵素補充療法などの効果判定の基礎データとなると思われる。
- ムコ多糖症の出生前診断に関する両親の意識調査では父親、母親で、その認知度、希望するか否か、受けて良かったかどうか、もし出生前診断が行えないとしたらどうするか、などの質問で、その回答に差があった。しかし大旨、出生前診断を希望し受

けて良かったと考える両親が多かった。

- LSD の呼吸障害の調査では当該施設で診療している 18 例中 6 例で気管切開が施行されており、2 例で在宅人工呼吸器治療が行われていた。在宅人工呼吸器治療施行後は介護の負担、肺感染症の頻度も減少したが、施行のためには公的な援助、地域での支援体制の確立が重要と思われた。
- 心機能については 9 例の LSD 中 4 例のムコ多糖症中 2 例で心筋壁の肥厚、僧房弁の逸脱が認められたがその他の疾患では概して良好であった。その他は選択的脊髄後根切断術、botulinum toxin type A の筋注が ADL の改善に有効であった。

#### 診断法の開発に関する研究

- ELISA 法による尿中  $\alpha$ -galactosidase 測定、タンデム質量分析法による、尿中 globotriaosylceramide (GL3) 測定によるファブリー病の診断に関しては古典型ヘミ接合ではいずれの方法でも診断可能であったが、ヘテロ接合、心型、腎型では両者を組み合わせて診断するのが良いと思われた。今後も症例を追加して検討してゆく予定である。
- 新しく作成した  $\alpha$ -galactosidase に対するモノクローナル抗体はポリペプチド鎖を認識し、培養リンパ芽球を用いての ELISA 法によりヘミ接合患者の診断が可能であった。今後は臨床検体を用いて検討を加える予定である。
- マイクロアレイを用いてのゴーシェ病欠損酵素 glucocerebrosidase の遺伝子解析は 3 日間で行え、塩基配列の判定精度に関しては 1930 塩基中 1929 塩基の配列の判定が可能であった。今後はパーキンソン病発症における本遺伝子変異の影響を検討してゆく。

#### 治療法の開発に関する研究

- AAV ベクターを用いての異染性脳白質変性症の遺伝子治療法の開発では ASA および FGE を発現するベクターを同時投与することにより培養細胞に於いて単独投与に比べ発現増強を認めた。また両ベクターを同時に異染性脳白質変性症モデルマウスの海馬 CA3 領域に注入した。注入 7 ヶ月後においても酵素活性が単独投与群にくらべ著しく上昇しており、サルファタイドの蓄積もやはり単独投与群に比べより強く軽減されていた。また行動学的にも有意な改善が認められた。以上より FGE の異染性脳白質変性症への遺伝子治療における重要性が確認された。
- ムコ多糖症 VII 型マウスの側脳質内にニューロスフェア法で作成した神経幹細胞を移植し、2 ヶ月後の評価では病理学的に細胞内の空胞は著減し、また行動学的解析でも非空間的海馬機能評価法にて海馬機能の著名な改善を認めた。
- ケミカルシャペロン法による治療法の検討では GM1 ガングリオシドーシス 13 例で新規変異を 9 種類同定し、それを含む合計 40 種類の遺伝子変異で 8 種類で NOEV による有意な活性上昇効果を認めた。ゴーシェ病に関しては NOV にて N188S 変異の活性が上昇することを明らかにした。クラッペ病に関しては 10 例の患者細胞で NOEV および Saposin A で活性上昇を示す細胞はなかった。今後は新たな患者で同様の検討してゆく予定である。
- HIV ベクターを用いたクラッペ病の治療の開発に関する研究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。このベクターは患者細胞で酵素欠損を矯正し、また新生児期にモデルマウスの静脈内投与することにより肝臓への感染が確認された。今後は脳

への有効な投与方法などを検討してゆく予定である。

#### 病態に関する研究

- ファブリー病のサイトカインの検討では患者において VEGF, TGF-beta, PDGF-AB の上昇を認めたが NOx の濃度とアルギニン濃度は正の相関をしめさず、また NOx の濃度は VEGF, TGF-beta, PDGF-AB のいずれとも正の相関を認めなかった。以上よりファブリー病においては、上記サイトカインは一酸化窒素の調節因子としては重要な役割は果たしていないと思われた。
- ニーマンピック C 型の 2 症例で 3 つの新規遺伝子変異を同定した。これらの内、一つはタンパク質の安定性に変化をきたし、もう一つは mRNA の発現量の低下を引き起こしていた。またこれらの変異を持つ細胞では酸性 Sphingomyelinase 活性は低下していたが局在はライソゾームであった。これらはコレステロール蓄積による酵素分子レベルの調節機構の存在を示唆した。
- Saposin A ノックアウトマウスは遅発型のクラッペ病の表現型をとるが骨髄移植により脱髄は完全に抑制されることが明らかになった。また Saposin D のノックアウトは多尿と運動失調を呈し、水酸基のついた Ceramid が脳、腎臓に蓄積していた。これは Saposin D が酸性 Ceramidase の活性化因子であることを示唆する結果であった。
- クラッペ病の新規患者 17 例の遺伝子変異を明らかにした。
- ファブリー病酵素補充療法の副採用に関する検討では 20 例中 9 例に投与時反応を認めた。発熱、悪寒、鼻汁が多く認められ、3~8 回目の投与時に多く認められた。ステロイド

の前投与で 1 例を除きコントロール可能であった。1 例は投与量減少を余儀なくされた。

#### D. 結論

今回の研究により、ムコ多糖症 II 型、クラッペ病、ポンペ病の自然歴、ADL、QOL が明らかとなった。また出生前診断への両親の意識、LSD の呼吸機能、心機能が明らかとなった。診断法ではファブリー病の新規診断法が 2 つ開発された。治療法では異染性脳白質変性症、ムコ多糖症 VII 型、クラッペ病の遺伝子・細胞治療法が開発された。また GM1 ガンクリオシドーシス、ゴーシェ病、クラッペ病に対するケミカルシャペロン法の開発を行い、その有効性を明らかにした。病態解析に関してはニーマンピック病 C 型、の sphingomyelinase 活性低下および局在の変化のメカニズムに関する検討を行い、コレステロール蓄積の病態における重要性を明らかにした。ファブリー病における血管障害発症のメカニズムについて一酸化窒素の役割に検討を加えた。Saposin D の生体内における役割を、ノックアウトマウスを作製することにより明らかにすると共に、Saposin A ノックアウトマウスに対する骨髄移植の有効性も明らかにした。クラッペ病の新規遺伝子変異を明らかにした。ファブリー病酵素補充療法の副作用の実態を明らかにすると共にステロイド投与の有効性を明らかにした。

#### E. 健康危険情報

特になし。

#### F. 研究発表

各分担研究者の報告書を参照

#### G.

知的財産の出願・登録状況  
なし

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

## クラッベ病の病態解析と自然歴調査

(分担)研究者 酒井規夫

大阪大学大学院医学系研究科 小児発達医学講座

### 研究要旨

リソソーム病のうち遺伝性脱髄疾患の1つであるクラッベ病の病態解明をめざすために、遺伝子解析を行い、日本人の遺伝子変異の特徴を見だし、遺伝子型・表現型相関について明らかにした。17人の患者に対し6つの新規変異を同定し、表現型遺伝子型相関についてデータを得た。患者会を通じて自然歴調査の準備を行った。

#### A. 研究目的

- 1) クラッベ病の病態解明;日本における遺伝子変異を解明し、表現型との関連を調べることを目的とした。
- 2) 自然歴調査;疾患の自然歴を把握することにより、進行に伴う合併症、死亡原因などを明らかにし、家族に満足の得られる治療方針を立てることを目的とする。

#### B. 研究方法

- 1) クラッベ病の病態解明;日本人症例17例に関して、galactocerebrosidase 遺伝子の変異をゲノム遺伝子を用い DHPLC 法で検索し、塩基配列決定法にて調べた。一部は RNA を用いた RT-PCR により cDNA での変異を解析した。また過去の日本人変異報告と合わせて、日本人の変異分布と臨床症状について検討した。
- 2) 自然歴調査; 患者家族の医療に対する意識も含め、さまざまな合併症や家族の心理的問題点を調査するために、家族会を通じて患者主

体の調査を行うこと目指し、経年的な変化についてもフォローできるシステムを検討する。

#### C. 研究結果

- 1) 1クラッベ病の病態解明;17例の新規患者の解析結果と過去の報告を合わせたものを表1に示す。また表2に日本人クラッベに見いだされた変異と表現型の関係を表2に示す。本研究により17症例の34アレル中、すでに既報の3変異をのぞき、27変異を同定した。このうち6つの新規変異を同定した。

Patient No	Genotype	Phenotype	Age at onset
A1 <sup>19</sup>	W115X/P302A*	Infantile	6M
A2	R204X/12Del3Ins*	Infantile	<6M
A3	R204X/1234I	Infantile	<6M
A4	L364R/T652P	Infantile	5M
A5	12Del3Ins/-	Infantile	6M
A6	T652P/T652P	Infantile	4M
A7	12Del3Ins/T652P	Infantile	6M
A8	393delT/-	Infantile	4M
A9	S257F/-	Infantile	6M
A10	P302A/L618S	Late-infantile	8M
A11	G270D/R515H	Late-infantile	2Y
A12	I66M+I289V/12Del3Ins	Juvenile	5Y
A13	I66M+I289V/W647X*	Juvenile	3Y
A14	I66M+I289V/1719-1720insT	Juvenile	3.5Y
A15	12Del3Ins/-	Juvenile	3.5Y
A16	G270D/G270D	Adult	69Y
A17	I66M+I289V/I66M+I289V	Adult	59Y

Patient No	Genotype	Phenotype	Age at onset
B1	12Del3Ins/12Del3Ins	Infantile	4M
B2	12Del3Ins/12Del3Ins	Infantile	3M
B3	S52I/W410G	Infantile	<6M
B4	12Del3Ins/T652P	Infantile	4M
B5	R515H/R515H	Infantile	5M
B6	T262I/12Del3Ins	Infantile	1Y
B7	G270D/G270D	Adult	10-20Y
B8	I66M+I289V/I66M+I289V	Adult	10-20Y
B9	I66M+I289V/Y354X	Adult	10-20Y
B10	L618S/IVS6+5G>A	Adult	10-20Y
B11	L618S/L618S	Adult	51Y

表1

Mutation	Infantile	Late-infantile	Juvenile	Adult	Total allele
12Del3Ins	9	0	2	0	11
T652P	5	0	0	0	5
R515H	2	1	0	0	3
R204X	2	0	0	0	2
P302A	1	1	0	0	2
S52I	1	0	0	0	1
W115X	1	0	0	0	1
393delT	1	0	0	0	1
1234I	1	0	0	0	1
S257F	1	0	0	0	1
T262I	1	0	0	0	1
L364R	1	0	0	0	1
W410G	1	0	0	0	1
1719-1720insT	0	0	1	0	1
W647X	0	0	1	0	1
IVS6+5G>A	0	0	0	1	1
Y354X	0	0	0	1	1
I66M+I289V	0	0	3	5	8
G270H	0	1	0	4	5
L618S	0	1	0	3	4
Total allele	27	1	7	14	52

表2

これにより、日本人に多い変異の同定ができ、これらのスクリーニングを行うことで、効率に遺伝子変異の検索を行うことが可能となった。また変異と表現型の相関に関しても日本人に特有な変異において情報が得られた。

- 2) 自然歴調査;疾患の自然歴調査に関してまず、親の会の同意を得ることができたので、アンケート形式案を作成した。主たる項目は下記の通りである。A)診断に関するもの;診断方法、診断年齢、家族歴、B)臨床経過に関するもの;出生時、乳児期の発育発達、初発症状、神経症状の経過 C)合併症に関するもの;易感染性、胃食道逆流、誤嚥性肺炎、痙攣、無呼吸、嚥下困難、D)現在の症状;視力、聴力、歩行状態、食事、学校、E)現在の介助、治療;車椅子、栄養法(鼻注、胃ろう)、酸素療法、気管切開、人工呼吸器、F)家族の満足度;疾患に対する理解、受け入れ、主治医との信頼関係、医療に対する要望
- また、このアンケートによる情報が、1回だけの断片的な情報にとどまらず、経過が追跡できるように、計時的に情報を親の会が中心に情報の更新を行うことを検討した。

#### D. 考察

- 1) クラッペ病の病態解明;日本人 Krabbe 病患者における 12Del3Ins と I66M+I289V は 37%allele を占めており、日本人における特徴と考えられる。また 12Del3Ins, T652P, R515H は乳児型もしくは重症型に寄与していると考えられ、I66M+I289V, G270H, L618S は若年型もしくは軽症型に関与すると考えられた。この6つの変異を足すと、日本人の変異の70%に達することがわかった。また各の検索方法が確立したことは、早期の診断、予後の推定に重要な知見と考えられる。
- 2) 自然歴調査;クラッペ病の大半を占める乳児型についてはまだ根本的な治療法がなく、対症

療法が中心となるが、治療と生活の質の関係を考えた上での、家族主体の治療選択が重要と考えられるため、このアンケートの結果が患者や主治医の参考になると考えられる。

#### E. 結論

クラッペ病は全世界に認められる疾患であり、民族による違いなどは良くわかっていなかったが、日本人の遺伝子変異を解析することにより、いくつかの日本人特有の変異が判明したことは、意義があると考えられる。これが今後日本人クラッペ病の診断、治療において、基礎的なデータになると思われる。また患者主体の自然歴調査が、今後患者主体の治療選択を考えるためにも重要なステップとなることが予想される。

#### G. 研究発表

##### 論文発表

- 1) Xu C, Sakai N, Taniike M, Inui, Ozono K., Six novel mutations detected in GALC gene in 17 Japanese patients with Krabbe disease and new genotype-phenotype correlation., J Hum Genet (in press)
- 2) Kawai M, Sakai N, Miyake S, Tsukamoto H, Akagi M, Inui K, Mushiake S, Taniike M, Ozono K., Novel mutation of gene coding for glial fibrillary acidic protein in a Japanese patient with Alexander disease., Brain Dev. 2006 Jan;28(1):60-2.
- 3) Sangkhathat S, Kusafuka T, Yoneda A, Kuroda S, Tanaka M, Sakai N, Fukuzawa M. Related Articles, Links, Renal cell carcinoma in a pediatric patient with an inherited mitochondrial mutation., Pediatr Surg Int. 2005 Sep;21(9):745-8.
- 4) Eto Y, Ohashi T, Utsunomiya Y, Fujiwara M, Mizuno A, Inui K, Sakai N, Kitagawa T, Suzuki Y, Mochizuki S, Kawakami M,

Hosoya T, Owada M, Sakuraba H, Saito H., Enzyme replacement therapy in Japanese Fabry disease patients: the results of a phase 2 bridging study., J Inherit Metab Dis. 2005;28(4):575-83.

- 5) Vega H, Waisfisz Q, Gordillo M, Sakai N, Yanagihara I, Yamada M, van Gosliga D, Kayserili H, Xu C, Ozono K, Jabs EW, Inui K, Joenje H., Roberts syndrome is caused by mutations in ESCO2, a human homolog of yeast ECO1 that is essential for the establishment of sister chromatid cohesion., Nat Genet. 2005 May;37(5):468-70.

##### 学会発表

第48回日本先天代謝異常学会:05.11.16-11.18, 熊本

若年型クラッペ病に対する造血幹細胞移植の効果  
大友孝信、酒井規夫、青天目 信、沖永剛志、滝沢祥子、楠木重範、橋井佳子、太田秀明、谷池雅子、大藪恵一

Krabbe 病の遺伝子解析;表現型遺伝子型相関  
許 成哲、酒井 規夫、谷池 雅子、赤木 幹弘、乾 幸治、大藪 恵一

OTC 欠損症の保因者女兒の臨床経過について  
林田雅子、酒井規夫、小柳津裕子、最上友紀子、中長摩利子、虫明聰太郎、西垣敏紀、沖永剛志、谷池 雅子、大藪恵一

第47回日本小児神経学会:05.5.19-5.21、熊本  
白質ジストロフィー7例に対する造血幹細胞移植の効果とリスク

酒井規夫、大場志保子、青天目信、神尾範子、沖永剛史、今井克美、鈴木保宏、津留陽、田中あけみ、谷池雅子、大藪恵一

第25回臨床細胞分子遺伝研究会;04.6.18  
Pallister-Hall 症候群の一例

酒井規夫、神尾範子、沖永剛志、谷池雅子

## ムコ多糖症の重症度と運動・認知面の ADL 評価

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）

### 研究要旨

ムコ多糖症II型患者の重症度と運動・認知両面のADL評価の相関を、FIM質問紙を用いて検討した。成人軽症患者では小児期は健康者とほぼ同等のALDスコアの伸びを示し、満点に近い得点を示したが、成人以降低下する例が目立ち、運動面では関節拘縮、呼吸障害、認知面では難聴に起因したと考えられるADLの低下が明らかとなった。重症型患者は運動面では6歳をピークに低下、認知面では5歳をピークに低下した。運動面では3歳程度の能力、認知面では2歳以下の能力がピークと考えられた。本研究の成果は酵素補充療法や造血幹細胞移植の効果判定に有益と考えられた。

### 研究協力者

加藤智美（岐阜大学医学教育開発研究センター）  
倉坪和泉（岐阜大学小児病態学）  
折居忠夫（中部学院大学）

### A. 研究目的

ムコ多糖症II型（Hunter病）は骨変形、関節拘縮、肝脾腫、聴力障害、閉塞性呼吸障害、中枢神経障害などを特徴とするX連鎖劣性遺伝病であり、本邦では最も多い病型であるが、患者のADLについての詳細は明らかにされていない。研究者らは機能的自立度評価法（Functional Independence Measure, FIM）質問紙を用いてムコ多糖症II型患者のADL評価を行い、重症度と運動能力・認知能力の推移を調査検討したので報告する。

### B. 研究方法

#### 【対象】

日本人ムコ多糖症II型患者29名（5～41歳、重症型14名、軽症型15例名）  
コントロール63名（1～12歳、男児36名、女児27名）

#### 【方法】

FIM質問紙にWee FIMの内容を追加した質問紙を作成し、患者が自宅でどの程度日常生活動作を行っているかを、介助者（家族）が記入し、専門医が判定を行った。

#### 【FIM質問紙評価項目】

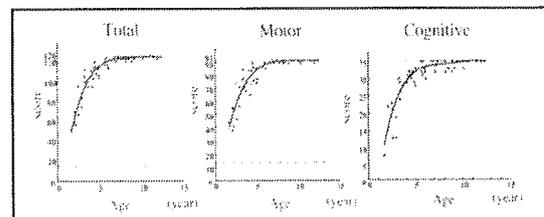
<運動> 食事、整容、清拭、更衣（上半身）、更衣（下半身）、トイレ動作、排尿、排便

移乗（ベッド、椅子、車椅子）、移乗（トイレ）、移乗（浴槽）、移動（歩行、車椅子）、階段 <認知> 理解、表出、社会的交流、問題解決、記憶<採点方法>各項目とも7段階評価で、全項目全介助の場合18点、完全自立の場合126点。

### C. 研究結果

#### （1）健常者の発達

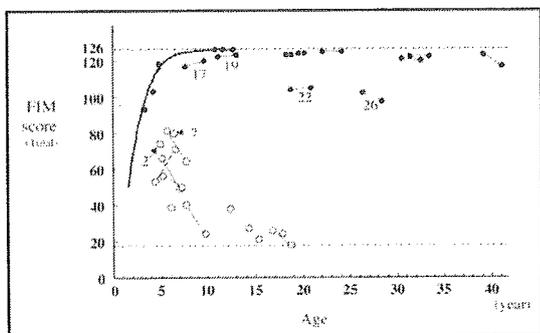
健康小児の発達パターンを下図に示す。



#### （2）運動・認知の合計スコア

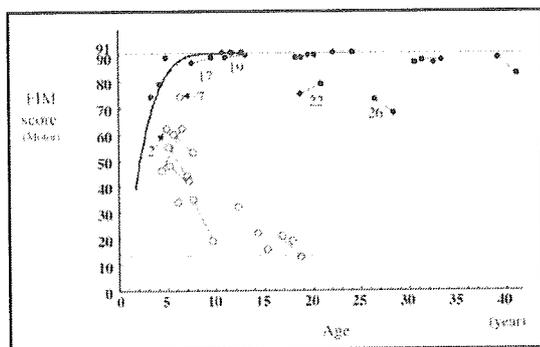
軽症小児例では図●に示すとおり、各年齢でほぼコントロールと同じ値をとり、10歳以降ではほぼ満点（完全自立）であったが、2例（症例17, 19）はやや低い値を示した。軽症成人例では、満点の例はなく、数点の低下を認めた。症例22, 26は得点が低く中間型と考えられた。

重症小児例では○に示すとおり、6歳前後がピークと考えられ、ピーク時のスコアは健常者の約半分であった、すなわち3歳程度と考えられた。10歳以降はスコアが最低ラインに近づいた。移植症例（症例2, 7）のスコアは比較的高かったが、今後のスコアの推移を見る必要がある。



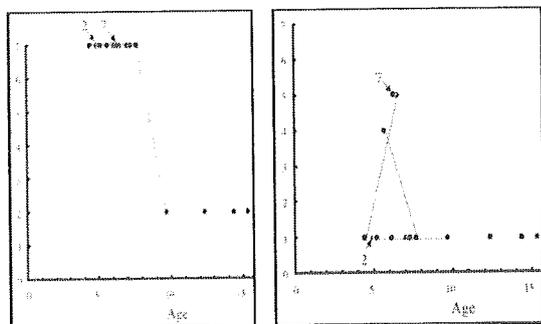
### (3) 運動の合計スコア

運動面の合計スコアは、ほぼ同様の蛍光を示した。



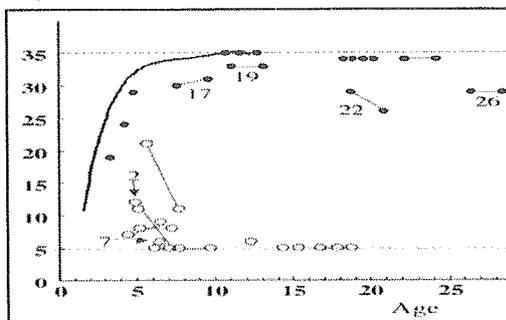
### (4) 運動の個別スコア

重症患者の運動面の個別スコアを比較すると、大きく2つのパターンを示すことが明らかとなった。1つは比較的スコアが高く、年齢が進んでも機能が保たれるもので、歩行や移動などである。一方、初期から低値を示すもので、トイレ動作や整容に関するものである。これらは認知機能に大きく左右されると推測される。



### (4) 認知の合計スコア

軽症患者では認知面の発達もほぼ健常児と同じであったが、成人期以降、全例で軽度低下を示した。一方、重症例では5歳をピークに低下し、10歳では全例最低点となった。5歳時の能力は2〜3歳程度と考えられた。



### (2) 成人例のスコア低下要因

成人におけるスコア低下の要因は以下のとおりであった。

- 食 事：時間がかかる
- 整 容：歯磨粉をつける、洗顔、整髪
- 入 浴：体を洗う、タオルしぼり  
柄つきブラシ
- 更 衣：下着、服の着脱、ジッパー
- トイレ：お尻を拭く、ジッパー
- 歩 行：時間がかかる、50m歩けない
- 階 段：1人で昇れない、手すりが必要
- 理 解：補聴器、ゆっくり大声で話す必要
- 表 出：理解してもらえない
- 社会性：慣れるのに時間がかかる
- 問題解決：料金支払い、書類手続き

(倫理面への配慮)

本調査は岐阜大学医学研究倫理審査委員会の承認のもと、文書による同意を得て実施した。

### D. 考 察

FIM 質問紙によって Hunter 病の ALD を明らかにすることができた。軽症例と重症例、運動面と認知面、小児期と成人期の違いを明らかにした。FIM 質問紙は各年齢層で利用でき、ADL の経時的変化を定量化ができる。ムコ多糖症では造血幹細胞移植、酵素補充療法が行われており、それらの治療効果判定に有用と考えられた。

### E. 結 論

ムコ多糖症の重症度と運動・認知両面の ADL の相関を明らかにした。

### F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Kato T, Kato Z, Kuratsubo I, Tanaka N, Ishigami T, Kajihara J, Sukegawa-Hayasaka K, Orii K, Isogai K, Fukao T, Shimozawa N, Orii T, Kondo N, Suzuki Y. Mutational and structural analysis of Japanese patients with mucopolysaccharidosis type II. *J Hum Genet.* 2005;50(8):395-402. 2005

Tomatsu S, Gutierrez MA, Ishimaru T, Pena OM, Montano AM, Maeda H, Velez-Castrillon S, Nishioka T, Fachel AA, Cooper A, Thornley M, Wraith E, Barrera LA, Laybauer LS, Giugliani R, Schwartz IV, Frenking GS, Beck M, Kircher SG, Paschke E, Yamaguchi S, Ullrich K, Isogai K, Suzuki Y, Orii T, Noguchi A. Heparan sulfate levels in mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses. *J Inher Metab Dis.* 2005 Jan;28(5):743-757.

### 2. 学会発表

倉坪和泉、鈴木康之、加藤智美、折居忠夫、下澤伸行、近藤直実：Hunter 病軽症成人例の神経心理学的検討（第二報）：性格特性について。第 47 回日本小児神経学会総会、2005.5.19-21, 熊本

加藤智美、加藤善一郎、倉坪和泉、田中 登、石神太人、梶原淳一、早坂-祐川和子、折居恒治、磯貝光治、深尾敏幸、下澤伸行、折居忠夫、近藤直実、鈴木康之：ムコ多糖症 II 型（Hunter 病）における遺伝子変異・蛋白立体構造解析。第 50 回日本人類遺伝学会、2005.9.19-22, 倉敷

倉坪和泉、鈴木康之、折居恒治、加藤智美、折居忠夫、近藤直実：Hunter 病患者のメンタルヘルスについての検討。第 48 回日本先天代謝異常学会、2005.11.16-18, 熊本

## H. 知的所有権の取得状況

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

ポンペ病患者における健康関連QOLの全国調査  
分担研究者 坪井 一哉 JR 東海総合病院

### 研究要旨

ポンペ病は、細胞内リソゾームにおいて酸性 $\alpha$ -グルコシダーゼ活性の欠損または低下のため、本来分解されるグリコーゲンが筋細胞内に蓄積する先天性代謝異常症であり、本邦では約 30 名が確認されている。乳児型、小児型、成人型(または、乳児発症型、遅発型)に分類され、臨床所見として筋力低下、心肥大、呼吸不全などが認められる。今回、“ポンペ病の会(患者会)”の協力のもと、無記名アンケート形式にて同意の得られた 23 症例を対象とし健康関連 QOL の調査を行った。QOL の包括的尺度として SF-36 を使用し、疾患特異的尺度として P-QOL を新たに作成し評価を行った。解析の結果として本疾患においては、国民標準値に比べ、身体的健康および精神的健康は共に低下が認められ、特に身体的健康においては著明な低下が認められた。原因として呼吸不全や筋力低下などが関与していると考えられた。海外における酵素補充療法の効果も一部に報告されてきており、早急に適切な治療法の導入が望まれる。

### A. 研究目的

ポンペ病は、細胞内リソゾームにおいて酸性 $\alpha$ -グルコシダーゼ活性の欠損または低下のため、本来分解されるグリコーゲンが筋細胞内に蓄積する先天性代謝異常症であり、本邦では約 30 名が確認されている。乳児型、小児型、成人型(または、乳児発症型、遅発型)に分類され、臨床所見として筋力低下、心肥大、呼吸不全などが認められる。本研究の目的は、臨床疫学調査として、ポンペ病患者における健康関連 QOL の評価を行い、現時点での実態を把握することである。このことは、現在海外で臨床治験が行われている酵素補充療法や今後開発される他の治療法の効果を検討するための必要な基礎的

データになると考えられる。

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る。欧米では ADL (Activities of Daily Living: 日常生活活動) 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、主観的な健康度・機能状態を表す「健康関連 QOL」という概念が注目を集めている。評価の指

標としては、WHO/QOL-26、SF-36などがある。

今回、“ポンペ病の会(患者会)”の協力のもと、無記名アンケート形式にてQOLの調査を行った。QOLを測定する疾患特異的尺度としては新たにP-QOLを作成し導入を行い、さらに16歳以上の方に対しては包括的尺度としてはSF-36を使用し、ポンペ病患者における健康関連QOLの評価を行った。

## B. 研究方法

### 1. 対象者

平成17年1月より、JR東海総合病院に通院中のポンペ病患者、および“ポンペ病の会(患者会)”に所属している方のうち、同意および疫学調査に回答の得られた23症例を対象とし解析を行った。健康関連QOLの疾患特異的尺度として新たにP-QOLを作成し無記名アンケート形式にて調査を行い、さらに16歳以上の方に対しては包括的尺度としてSF-36を使用し評価を行った。

### 2. 健康関連QOLの評価

健康関連QOL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。指標として

は、WHO/QOL-26、SF-36などがある。

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、疾患特異的に評価をする尺度である。そのため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。

### 3. 疾患特異的尺度：P-QOL

ポンペ病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ため、今回、新たに疾患特異的尺度としてP-QOLを作成し無記名アンケート形式にて調査を行った。

### 4. 包括的尺度：SF-36

包括的尺度として本研究では16歳以上の方にSF-36日本語版を使用した。SF-36は、16歳以上の方を対象に米国で作成され、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、広く国際的に使用されている。SF-36に関しては、マニュアルに沿って得点を計算し、患者の年齢・性別と合致する国民標準値によって調整し各下位尺度の偏差得点を求めた。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している。また、この作業により、同年齢、同性別の国民得点は50、標準偏差は10になり、標準得点からの乖離を比較することが可能となる。

SF-36は、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:

身体的健康度

○身体機能(PF): 過去1ヵ月間に激しい活動を含むあらゆるタイプの活動を行うことが可能であった。

○日常役割機能(身体)(RP): 過去1ヵ月間に仕事やふだんの活動をした時に、身体的な理由で問題がなかった。

○身体の痛み(BP): 過去1ヵ月間に体の痛みはぜんぜんなく、体の痛みのためにいつもの仕事がさまたげられることはぜんぜんなかった。

○全体的健康感(GH): 健康状態は非常に良かった。

精神的健康度

○活力(VT): 過去1ヵ月間、いつでも活力にあふれていた。

○社会生活機能(SF): 過去1ヵ月間に家族、友人、近所の人、その他の仲間とのふだんのつきあいが、身体的あるいは心理的は理由でさまたげられることは全然なかった。

○日常生活役割機能(RE): 過去1ヵ月間、仕事やふだんの活動をした時に心理的な理由で問題がなかった。

○心の健康(MH): 過去過去1ヵ月間、落ち着いて、楽しく、おだやかな気分であった。

(倫理面への配慮)

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、十分な説明をしたのち、同意および疫学調査に回答の得られた症例に対し解析を行った。調査は、無記名アンケート調査形

式で行い、調査票には、住所、氏名の記載欄は設けていない。匿名化により対象患者が特定できないようにすることにより個人情報の保護対策を行った。

## C. 研究結果

### 1. 対象者の基本的属性

回収は、全ての会員の方から得られ、回収率は、100%(23名)であった。年齢階級別・性別では、0歳から30歳代に多く分布し、特に10歳代に多く見られた。性別は、ほぼ同数でやや女性が多く見られた。発症時期は小児期に見られ、病型では小児型が最も多く見られた。

### 2. 臨床症状および疾患特異的 QOL の特徴

臨床的特徴として、筋力の低下、呼吸不全がもっとも顕著に認められ、呼吸不全に対して多くの方が10歳頃より在宅酸素療法を導入され、終日、酸素の吸入を行っていた。筋力低下や呼吸不全が、日常生活の低下や制限をもたらす重大な要因の一つであり、このことがQOLの低下を招いていると考えられた。また、学業や仕事、家事に対しても、かなりの負担や制限を強いられていた。精神的には、多くの方が様々な不安を抱えておられ、病気や治療、遺伝、結婚に対する不安や、将来に対する不安が顕著に認められた。ポンペ病に対する酵素補充療法は、本邦では未承認であるが、多くの方が関心をもたれ治療に対する期待は極めて高い事が理解された。

### 3. 健康関連 QOL 得点と国民標準値との