

## 多系統萎縮症における頸動脈小体

磯崎英治

飛澤晋介, 川田明広, 神田武政, 林秀明  
東京都立神経病院脳神経内科

頸動脈小体は動脈血酸素濃度をモニターする末梢の化学受容器であり、その切除により睡眠時無呼吸の出現や呼吸困難感の減少、また乳児突然死症候群との関連などが指摘されている。一方、MSAでは低酸素に対する換気応答能の低下が報告されていることから我々は、MSAでは頸動脈小体が障害されるという仮説をたて、剖検検体(MSA3例、PD1例、ALS1例)を用いた形態計測学的検討(Light cellの占める割合と血管の占める割合を画像解析により算出)を行った。進行したMSA例ではlight cellが減少していたが、PD例でも同程度の減少を示した。しかし、血管床についてはMSAでより増大していた。一般にlight cellの減少はCOPD患者で見られるが、上記の結果は単に低酸素血症の持続期間だけでは説明できず、MSAの頸動脈小体には「低酸素に対する二次性代償性変化」と「原疾患に基づく特異的変化」の両者の存在が示唆された。

## 多系統萎縮症(MSA)における自律神経症状のretrospective解析

服部 孝道

金井 数明, 榊原 隆次, 朝比奈 正人,  
新井 公人, 平野 成樹, 赤荻 悠一  
千葉大学大学院医学研究院神経病態学

JAMSACの患者エントリーの基準にも一部用いられているMSA Consensus criteria (Gilman分類)では自律神経障害に関する項目が不十分な可能性がある。このためMSAと臨床診断されて当院に入院した過去10年間のMSA症例126例に対し、Gilman分類による基準の他、頻尿や便秘などの項目を加えたうえで自律神経症状の頻度や出現時期などを検討した。MSAの初発症状としては排尿障害が多く認められ、蓄尿障害の他、排出障害が初発となる症例もかなりあった。臨床経過中、長期にわたり自律神経症状のみが先行する症例も相当数あった。頻度の高さから、100ml以上の残尿や著明な残尿はMSA臨床診断の際の自律神経障害基準として考慮される必要が考えられた。ただし、このGilman分類の自律神経症状に関する不十分さは、MRI所見を併用することでほぼカバーされることも判明した。

## 多系統萎縮症における睡眠時声門閉鎖率解析

西澤正豊

小澤鉄太郎

新潟大学脳研究所神経内科

多系統萎縮症(MSA)の睡眠時声門閉鎖率を定量的に評価するため、MSA患者28例と年齢を合わせた正常対照14例において薬物負荷睡眠喉頭内視鏡検査(DISE)を施行した。ビデオ記録されたDISE所見から吸気時の静止画像を解析ソフトに取り込み、最大に開いた声帯が作るV字の角度を測定し、(覚醒時-睡眠時)/覚醒時 $\times 100$  = 「睡眠時声門閉鎖率(%)」を算出した。このデータとポリソムノグラフィー所見や罹病期間などとの関連について検討した。MSAの睡眠時声門閉鎖率の平均値は62.3%で、対照の平均値0.1%と比較し明らかに上昇していた。睡眠時声門閉鎖率は罹病期間と、さらにPSGでの睡眠stage 3, 4の減少と有意な関連を示した。睡眠時声門閉鎖率はMSAの重症度を評価する臨床的マーカーになり得ると考えられた。

## Machado-Joseph 病の自然史に関する多施設共同研究

中島健二

足立芳樹, 安井建一

鳥取大学医学部脳神経内科

脊髄小脳変性症の自然史は、その病期における適切な医療や介護サービスの提供、予後の予測、薬物の効果判定をおこなう上で重要である。しかし脊髄小脳変性症は多くの臨床型や遺伝型を含むheterogeneityな疾患であり、個々の病型別に評価を行う必要がある。遺伝性脊髄小脳変性症の多くは疾患遺伝子内のCAGリピートが異常に伸長することが原因であるポリグルタミン病である。本邦の遺伝性脊髄小脳変性症で比較的頻度が多いのは、Machado-Joseph病(MJD)と脊髄小脳失調症6型(SCA6)である。このうち比較的進行の早いMJDについて、どの程度のリピート数を持った患者さんが、どのようなADL経過をたどられるのかに注目して多施設共同研究を行うことを研究目的として調査票原案を作成した。

## 全国集計研究について

辻 省次  
東京大学医学部附属病院 神経内科  
大津洋<sup>1</sup>, 百瀬 義雄<sup>1</sup>, 後藤 順<sup>2</sup>  
東京大学医学部附属病院クリニカル  
バイオインフォマティクスユニット<sup>1</sup>  
東京大学医学部附属病院神経内科<sup>2</sup>

平成 11 年度～ 16 年度の運動失調研究班で行われた、臨床調査個人票に基づく調査研究についての分析結果を示し、今後の課題を検討した。ICARS の項目と罹病期間の間には強い相関が見出された。平成 15 年度から多系統萎縮症が加えられ、MSA-C, MSA-P の比で見ると、MSA-C が 82.5% と多数を占めた。ただし、MSA-P の一部がパーキンソン病関連疾患で登録されている可能性があり、今後の検討課題である。都道府県レベルでの入力率に大きなばらつきがある点は、地域別の疫学調査の上では支障となり、今後改善すべき検討課題である。

## 臨床調査個人票の修正案ならびに SCA6 自然歴多施設共同研究

中島健二  
安井建一、足立芳樹  
鳥取大学医学部脳神経内科

多系統萎縮症および脊髄小脳変性症の臨床調査個人票の有効活用を目的に、改訂・修正案を提示した。個人票の電子化に伴い、全国の個人票を集計して疾患を把握することが可能となってきた。しかしながら、患者一般データの解析に留まっており、より詳細な病状、特に病状進行の把握が困難であるのが現在の問題点である。疾患の自然歴を把握、確認することは、臨床の現場だけでなく、今後の新規治療を開発する上でも不可欠であるが、海外を含めデータがほとんどない。そこで、おおまかな自然歴研究に利用すべく、生活状況項目を強化する修正案を提示した。また、詳細な神経症候の解析を全国集計で行うことは困難であるため、同調査票を用いて脊髄小脳失調症 6 型の自然歴調査を多施設共同で長期に行うことを提案した。

## 劣性遺伝性痙性対麻痺にみられるニューロパチー

小牟禮修  
村瀬永子, 村田佳子, 齊田孝彦  
国立病院機構宇多野病院神経内科

遺伝性痙性対麻痺 (HSP) は緩徐進行性の両下肢の痙性と筋力低下を主徴とし、家族歴を有する疾患の総称であり、上位運動ニューロンの障害が一義と考えられるが、劣性遺伝性 HSP を中心に末梢神経障害の報告も散見される。今回我々は、家系の異なる劣性遺伝性と考えられる 4 例の HSP について、詳細な臨床・電気生理学的検討を行った。その結果、2 例で下肢優位・感覚神経優位・軸索障害優位の明らかな末梢神経障害を認めた。足の変形 (凹足) を伴い、膝蓋腱反射に比べアキレス腱反射が低下している HSP 症例では、末梢神経障害の合併を考慮する必要がある。HSP の末梢神経障害は、*distal axonopathy* が主たる病態と考えられるが、中枢と末梢では神経線維の再生能力に差があり、*central dominant axonopathy* の臨床像が前面にでる可能性が高い。このため注意深い電気生理学的検討が必要である。

## 本邦の Charlevoix-Saguenay 型痙性失調症 6 家系 9 名における臨床・分子遺伝学的検討

瀧山嘉久<sup>1</sup>,  
嶋崎晴雄<sup>1</sup>, 迫江公己<sup>1</sup>, 欧陽 嶷<sup>1</sup>, 小川朋子<sup>1</sup>  
中野今治<sup>1</sup>, 平岡宏太良<sup>2</sup>, 長野清一<sup>2</sup>, 山本洋一<sup>2</sup>  
1) 自治医科大学内科学講座神経内科学部門  
2) 大阪大学神経内科・脳卒中科

本邦の ARSACS6 家系 9 症例について、新規変異を含む *SACS* 遺伝子変異を同定し、本邦にも ARSACS 家系が存在することを示した。その臨床像をカナダの例と比較検討したところ、本邦例では発症年齢が遅く、網膜有髄線維の増生は軽度であった。下肢痙性のみられない家系や、中等度の知能低下を伴う症例も存在し、臨床像の多様性が観察された。今回の検討では、遺伝子型と表現型の明らかな関連は認められず、今後の症例の蓄積が必要と考えられた。ARSACS に特徴的とされる網膜所見あるいは下肢痙性を欠くような劣性遺伝性早発性小脳失調の症例においても、ARSACS を疑って遺伝子診断を行うべきであると思われた。また、*SACS* 遺伝子には、従来報告されていた単一巨大エクソンよりも上流に 8 エクソンが存在するため、ARSACS が疑われるが巨大 *exon9* に変異が認められない場合、上流のエクソンも解析する必要があると考えられた。

## Spastin 蛋白の機能解析

瀧山嘉久

迫江公己, 嶋崎晴雄, 本多純子, 中野今治  
自治医科大学内科学講座神経内科学部門

本研究は、優性遺伝形式をとる遺伝性痙性対麻痺の中で、最も頻度の高い SPG4 の原因蛋白である Spastin の蛋白機能を解析することにより、遺伝性痙性対麻痺の病態機序を解明することを目的とした。我々は、Spastin に特異的な抗体や培養細胞を用いた過剰発現および Knock-down の系を作成して解析を行い、Spastin は分裂細胞では核の分配と細胞分裂後期の微少管切断に関与し、神経系の細胞では突起の伸長に関与することを見出した。また、Spastin の減少によって微少管が不安定となり、核分配の異常やミトコンドリアをはじめとする細胞内物質輸送に異常が生じていることが示唆された。さらに、Spastin の Knock-down 系は、微少管の安定や神経突起の形成を正常化する物質のスクリーニング系として、SPG4 の治療に向けての方向性を確立する手段として有用であると考えられた。Spastin 蛋白機能解析から、未知の遺伝性痙性対麻痺の候補遺伝子として、微少管切断機能を持つ蛋白やモーター蛋白等が関与している可能性が示唆された。

## DNA マイクロアレイを用いた痙性対麻痺遺伝子の網羅的解析

辻 省次

石浦浩之, 高橋祐二, 後藤 順  
東京大学医学部附属病院 神経内科

痙性対麻痺は下肢痙性を主体とする症候群で、遺伝学的に多彩である。診断には多くの遺伝子解析が必要で従来技術では困難だった。今回 DNA マイクロアレイを用いた効率よいシステムで遺伝子を網羅的な解析を行った。対象は 40 名。5 つの遺伝子 (*L1CAM*, *PLP1*, *atlastin*, *spastin*, *paraplegin*) の解析を施行。結果、優性遺伝の 2 例と一見孤発例の 3 例で *spastin* の変異あり。一方で純粋型の 1 例で *L1CAM* の変異を認めた。同遺伝子変異では重篤な症状を呈するとされてきたが本研究により新しい臨床病型が示唆された。Perizaeus-Merzbacher 病の一例では *PLP1* の変異を確認した。このように網羅的解析を行うことで分子疫学において新しい知見を得ることができた。将来の治療研究のためにも必要なシステムであり、今後遺伝学的に未診断の症例に広く利用していきたい。

## 痙性対麻痺全国共同研究の提案 -JASPAC (Japan Spastic Paraplegia Research Consortium)

瀧山嘉久

自治医科大学内科学講座神経内科学部門  
辻 省次<sup>1</sup>, 佐々木秀直<sup>2</sup>, 服部孝道<sup>3</sup>,

湯浅龍彦<sup>4</sup>, 小野寺理<sup>5</sup>, 西澤正豊<sup>6</sup>

1) 東京大学医学部神経内科

2) 北海道大学医学部神経内科

3) 千葉大学医学部神経内科

4) 国立精神・神経センター国府台病院

5) 新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター

6) 新潟大学脳研究所神経内科

本邦の HSP について多施設共同研究体制により、臨床および研究のリソース基盤を構築して、HSP の自然史やゲノム解析研究を行い、かつ将来的に多くの研究者に幅広く活用されるシステムとすること、HSP の原因の究明と治療法の開発を目指し、将来的に本邦から世界にむけて情報を発信できることを目的として、JASPAC (Japan Spastic Paraplegia Research Consortium) を立ち上げることとした。JASPAC は本研究班の活動として運営し、ゲノム研究、臨床研究、治療研究をその研究の柱とする。

## 多施設共同研究体性 (JAMSAC) を基盤とする多系統萎縮症の自然歴および分子遺伝学に関する共同研究

JAMSAC 事務局

(辻 省次, 百瀬義雄, 中原康雄, 後藤順)

東京大学医学部附属病院神経内科

多系統萎縮症の病因解明へのアプローチとしては、1. まれに見られる家族性多系統萎縮症に焦点を絞った連鎖解析、2. 孤発性多系統萎縮症および健常対照者の大規模ゲノム解析、という 2 つのアプローチを統合して進めることが効果的である。また、このようなゲノム解析には、高精度の臨床情報に裏付けられたゲノムリソースが必須である。Japan MSA Research Consortium (JAMSAC) としての組織構築が完了し、本年度検体収集を、開始した。MSA171 例、コントロール 99 例に関して全ゲノムスクランを行っており、今年度中に結果が得られる見込みである。一方、将来、臨床治験が実現する時に必要な多系統萎縮症の高精度の自然歴収集も開始している。今後は解析に必須である正常コントロール検体の収集にも力を入れていく必要がある。

# Ⅲ 分担研究報告

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

副腎白質ジストロフィーおよびペルオキシソーム病の  
早期診断システム構築に関する研究

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教授）

**研究要旨**

ペルオキシソームの代謝機能に異常をきたす副腎白質ジストロフィー (ALD) やペルオキシソーム欠損症は中枢神経病変を主体とし、前者は脱髄、後者は神経細胞移動障害を特徴とする。小児大脳型 ALD は早期の骨髄移植が今のところ唯一有効な治療法と考えられており、早期診断体制の整備は不可欠であるが、疾患の認知度は十分ではなく、診断システムも不十分である。今年度、研究者らは、1) ALD 周知のため、昨年本研究班で編集した ALD ガイドブックを基にしたホームページの作成、2) ALD 早期発見のための、ALD 家族へのアンケート調査、3) 極長鎖脂肪酸分析による診断スクリーニングとタンパク・遺伝子解析による確定診断システムの構築、を進めた。

研究協力者：下澤伸行（岐阜大学生命科学総合研究支援センター）

**A. 研究目的**

ペルオキシソームは脂肪酸代謝など生体において重要な機能を有しており、その先天性な代謝異常症であるペルオキシソーム病には副腎白質ジストロフィー (ALD) やペルオキシソーム欠損症、β酸化系酵素欠損症などが含まれる。

これらの稀少疾患では診断スクリーニングを含めた医療情報の普及が不十分であり、小児型 ALD の場合には、初期症状が単なる視力障害、心身症、LD (学習障害)、ADHD (注意欠陥多動性障害) などと混同されて確定診断が遅れることが指摘されている。小児型 ALD では早期の骨髄移植の有用性が報告されており、早期診断体制の確立が不可欠である。ペルオキシソーム欠損症では原因不明のフロッピーインファントや奇形症候群としてフォローされている症例も散見される。

今年度われわれは、1) ALD 周知のためのホームページ作成、2) ALD 早期症状に関するアンケート調査、3) 極長鎖脂肪酸分析による診断スクリーニングとタンパク・遺伝子解析による確定診断システムの構築を進めた。

**B. 方法**

ホームページの作成は、昨年度、本研究班で編集した ALD ガイドブックの情報・記載事項を基に原案を作成した。ALD の初期症状と対応に関しては、ALD 親の会の協力を仰ぎ、同意の得られた家族から無記名でアンケートに回答していただい

た。また極長鎖脂肪酸分析による診断スクリーニングとタンパク・遺伝子解析による確定診断システムの構築を行った。

**C. 結果**

**(1) ホームページの作成**

昨年度に編集した ALD ガイドブックに基づき、ホームページの構築を開始した。下記に原案を示す。今後、内容の確認を行い、運動失調班のホームページにリンクさせ、情報提供の充実を図り、早期診断と早期治療に役立てたい。

**I. 副腎白質ジストロフィーとは？**

- A. 副腎白質ジストロフィーとはどのような病気ですか？
- B. この病気の患者さんはどのくらいいるのですか？
- C. この病気の原因はわかっているのですか？
- D. 染色体と劣性遺伝病の関係について教えてください
- E. この病気は遺伝するのですか？
- F. この病気にはどのような病型がありますか？
- G. それぞれの病型の特徴を教えてください
- H. この病気はどのようにして診断しますか？
- I. この病気はどのような治療法がありますか？
- J. 公的支援にはどのような制度がありますか？
- K. まだ遺伝や病気のことがよく理解できません

**II. 副腎白質ジストロフィーの研究の現状と研究班の取組**

- A. ALD の疫学
- B. ALD と脂肪酸代謝異常
- C. ALD 遺伝子
- D. ALD モデルマウスを使った研究
- E. ALD の神経心理学
- F. ALD の MRI 画像
- G. 造血幹細胞移植
- H. ALD に対するその他の治療法

**III. 副腎白質ジストロフィーに関するガイドライン (案)**

- IV. 各種情報
- ALD を早く診断するために

## (2) ALD の初期症状に関するアンケート調査

ALD の初期症状については、過去に疫学調査を行い、結果を報告しているが、詳細な初期症状は家族が最も良く記憶していると考えられたので、今回、ALD 親の会メンバー30 家族の協力を仰ぎ、患者さんの初期症状と対応に関する無記名アンケート調査を行った。このうち10 歳以下で発症した小児型25 名について、最初に気付いた症状、診断されるまでの期間、診断に至った経過などについて集計した。

### 最初に気付いた症状 (複数回答)

よく転ぶようになった: 11 名  
勉強ができなくなった: 10 名  
視力が落ちた: 10 名  
不器用になった: 7 名  
性格が変わった: 4 名  
物忘れが多くなった: 3 名  
動作がにぶくなった: 3 名  
対人関係がうまくいかなくなった: 2 名  
疲れやすくなった: 2 名  
てんかん発作を起こした: 2 名  
聴力低下: 1 名

発症から診断までの期間: 平均 6.18 か月

### 最初に気付いた人

母: 20 名                      父: 3 名  
学校・幼稚園の先生: 7 名  
友人: 1 名

### 最初に相談した人

医師: 14 名  
担任・養護教諭: 5 名  
保健所など: 3 名

2000 年に実施した疫学調査で小児型の初発症状は、知的退行 16 名、視力障害 11 名、精神症状 3 名、歩行障害 3 名などであったが、今回の調査で、より具体的な症状を明らかにすることができた。

## (3) 早期診断システムの構築

ALD やペルオキシソーム欠損症およびその類縁疾患が疑われた症例に対しては、まず GCMS による血清極長鎖脂肪酸の測定を行い、蓄積が認められた症例に対しては、小児型 ALD 例では骨髄移植適応の検討をすすめるとともに、ALDP 遺伝子の 10 個の exon を splicing 領域も含めて direct sequence 法にて塩基配列を決定、また培養細胞等が得られれば抗 ALDP 抗体を用いた Immunofluorescence や Immunoblot 法にてタンパクレベルで検討する。一方、ペルオキシソーム欠損症や  $\beta$  酸化系単独酵素欠損症が疑われた症例では培養皮膚線維芽細胞を樹立し、ペルオキシソーム局在タンパクや膜タンパク抗体を用いた Immunofluorescence や Immunoblot 法、細胞融合による相補性解析、遺伝子変異解析等により確定診断を行っている。

さらに確定診断した症例に対しては疾患ごと

の調査項目、承諾書等を送付し、その後の治療効果を含めた予後調査の協力を検討している。

これまで岐阜大学におけるペルオキシソーム病診断システムにおいて ALD では小児大脳型を中心に 100 例以上、ペルオキシソーム欠損症では最重症型の Zellweger 症候群を 33 例、重症の新生児型 adrenoleukodystrophy を 2 例、 $\beta$  酸化系単独酵素欠損症では Acyl-CoA oxidase 欠損症を 3 例、D-bifunctional protein 欠損症を 7 例診断し、ALD 以外では大多数の症例においてその遺伝子変異部位を同定している。

このうち D-bifunctional protein 欠損症日本人症例 7 例の臨床像と遺伝子変異、非典型的な臨床像を呈した ALDP 遺伝子異常を有する 3 例を提示し、ペルオキシソーム病診断の現状を報告した。また診断体制の整備および治療効果を含めた疾患予後追跡の必要性について当大学の取り組みを提示し、班会議にて意見交換を行った。

## D. 考察および結論

ALD の診断方法は確立されているものの、初期症状に気付くのが遅れたり、気付いても別の原因を調べているうちに時間が経過したりして、治療が手遅れになることが問題である。またアンケートの自由記載から親が症状に気付いても我が子を病気と考えたくない心理が働いて行動に移るのが遅れることも示唆された。今後は、いかに情報提供するか、また診断治療体制の整備と周知を行うことが課題であろう。ホームページはその一手段に過ぎないが、不可欠なものとして位置づけ、早急に整備を図りたい。

一方、ペルオキシソーム欠損症は国内においては認知度・診断情報ともに十分ではなく、診断未確定のままフォローまたは死亡している症例が相当数、存在していると考えられている。系統的なペルオキシソーム病診断システムを整備し、全国医療機関に周知して、早期に正確な診断を行い、実態を明らかにしてゆきたい。さらに治療効果も含めた経過をフォローしてそのデータを集積フィードバックすることにより、患者により有用な医療を提供できると考えている。

## E. 健康危険情報

なし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Morita M, Takahashi I, Kanai M, Okafuji F, Iwashima M, Hayashi T, Watanabe S, Hamazaki T, Shimozawa N, Suzuki Y, Furuya H, Yamada T, Imanaka T. Baicalein 5,6,7-trimethyl ether, a

flavonoid derivative, stimulates fatty acid beta-oxidation in skin fibroblasts of X-linked adrenoleukodystrophy. FEBS Lett. 579(2): 409-14, 2005

- 2) Hashimoto K, Kato Z, Nagase T, Shimozawa N, Kuwata K, Omoya K, Li A, Matsukuma E, Yamamoto Y, Ohnishi H, Tochio H, Shirakawa M, Suzuki Y, Wanders RJA, Kondo N. Molecular Mechanism of a Temperature-Sensitive Phenotype in Peroxisomal Biogenesis Disorder. *Pediatr Res* 58(2): 263-9, 2005 .
- 3) Shimozawa N, Nagase T, Takemoto Y, Funato M, Kondo N, Suzuki Y. Molecular and Neurological Findings of Peroxisome Biogenesis Disorders. *Child Neurol* 20(4): 326-9, 2005
- 4) Suzuki Y, Takemoto Y, Shimozawa N, Imanaka T, Kato S, Furuya H, Kaga M, Kato K, Hashimoto K, Onodera O, Tsuji S. Natural history of X-linked adrenoleukodystrophy in Japan. *Brain & Development* 27(5): 353-357, 2005
- 5) Kashiwayama Y, Asahina K, Shibata H, Morita M, Muntau AC, Roscher AA, Wanders RJA, Shimozawa N, Sakaguchi M, Kato H, Imanaka T. Role of Pex19p in the targeting of PMP70 to peroxisome. *Biochim Biophys Acta*, 2005;1746: 116-128.
- 6) Ito R, Morita M, Takahashi N, Shimozawa N, Usuda N, Imanaka T, Ito M. Identification of Pex5pM, and retarded maturation of 3-ketoacyl-CoA thiolase and acyl-CoA oxidase in CHO cells expressing mutant Pex5p isoforms. *J Biochem*, 138(6):781-90.
- 7) Funato M, Shimozawa N, Nagase T, Takemoto Y, Suzuki Y, Imamura Y, Matsumoto T, Tsukamoto T, Kojidani T, Osumi T, Fukao T, Kondo N. Aberrant peroxisome morphology in peroxisomal beta-oxidation enzyme deficiencies. *Brain & Development*, in press

## 2. 学会発表

- 1) 長瀬朋子、下澤伸行、鈴木康之、近藤直実. 神経幹細胞からの分化過程におけるペルオキシソームマトリックスタンパクの import に関する検討. 第 47 回日本小児神経学会総会、熊本、2005
- 2) 渡邊嘉章、小穴信吾、山中 岳、萩原正明、下澤伸行、稲垣真澄、加我牧子、宮島 祐、星加明徳. 2 歳 10 ヶ月発症 ALDP 欠損の一例. 第 47 回日本小児神経学会総会、熊本、2005
- 3) 長瀬朋子、竹本靖彦、鈴木康之、松本 正、近藤直実、下澤伸行. 遺伝性ペルオキシソーム病の出生前診断. 第 50 回日本人類遺伝学会、倉敷、2005
- 4) 長瀬朋子、小澤祥、堀克代、竹本靖彦、近藤直実、鈴木康之、下澤伸行. 中枢神経系におけるペルオキシソームの局在培養細胞を用いて. 第 48 回日本先天代謝異常学会、熊本、2005
- 5) 大竹 明、星野正也、中野裕史、下澤伸行、鈴木康之、佐々木望. 突然死を来したペルオキシ

ソーム二頭酵素欠損症の一男児例. 第 48 回日本先天代謝異常学会、熊本、2005

## G. 知的所有権の取得状況

なし

## DNA マイクロアレイを用いたハイスループット遺伝子解析システムを応用した ALD の遺伝子診断と疾患修飾遺伝子の探索

分担研究者 辻 省次 東京大学医学部附属病院 神経内科

共同研究者 高橋 祐二, 松川 敬志, 後藤 順  
東京大学医学部附属病院 神経内科

研究要旨 DNA マイクロアレイを用いたハイスループット遺伝子解析システムを構築し、ALD の遺伝子診断及びその臨床応用と、ALD の修飾遺伝子の探索を行った。ALD 6 例の遺伝子診断を行い、全ての症例において変異を同定した。変異解析の結果を骨髄移植ドナーの選択及び遺伝カウンセリングにおけるキャリア診断に応用した。ALD の遺伝子診断は臨床に有用であることが示された。一方、ALD の病型を修飾しうる候補遺伝子として *ABCD2* の解析を行い、新規多型を 2 つ同定した。これらの多型を有する例はいずれも大脳型の臨床像を呈した。今後さらに ALD の修飾遺伝子を同定する研究を推進する予定である。

### A. 研究目的

1. ALD 遺伝子の迅速な遺伝子診断システムを構築し、臨床応用を試みる。
2. ALD 患者において、*ABCD2* の塩基配列の網羅的解析を行い、遺伝子多型が ALD の表現型に影響を与える可能性を検討する。

### B. 研究方法及び成果

副腎白質ジストロフィー (ALD) の診断は極長鎖脂肪酸の測定によって可能であるが、実際の臨床においては原因遺伝子 *ABCD1* の解析による遺伝子診断の需要が増してきている。例えば、小児大脳型副腎白質ジストロフィー (ALD) の治療法として、造血幹細胞移植の効果が確認されつつあり、今後、発症者の迅速な診断、造血幹細胞移植におけるドナーの検討などにおいて迅速な遺伝子

診断が求められる。また、遺伝カウンセリングの場面においても、キャリアかどうかを診断するためには遺伝子変異を同定することが必要である。一方、ALD の表現型の多様性を規定する因子は未だに不明であり、疾患関連遺伝子についての検討が望まれる。このような背景から、ALD の病因遺伝子の迅速な遺伝子診断システム、および ALD 遺伝子関連遺伝子 (*ABCD2*) の網羅的解析をするシステムを構築し、上記目的に対する応用を試みた。

ALD 病因遺伝子 (*ABCD1*) には、*ABCD2* 遺伝子をはじめとして、合計 4 種類の遺伝子ファミリーがあり、相同性が高い領域を含んでおり、ゲノム DNA を用いてそれぞれの遺伝子を選択的に増幅できる特異的な PCR プライマーをデザインした。ゲノム DNA を



増幅し、断片化及びラベリング後、*ABCD1* に対しては TKYPD01, *ABCD2* に対しては TKYAD01 の各々のマイクロアレイにハイブリダイズした。得られた変異及び新規多型に関しては、直接塩基配列決定法で確認した。

DNA マイクロアレイシステムの臨床応用に関しては、ALD6 例の遺伝子診断を行い、新規の点変異 2 例(G277R, H667N, P84S), 既知の点変異 1 例(S108L), 既知の欠失 2 例(del1814-1815, del2146-2157)を見いだした。この解析法は、家系メンバーの造血幹細胞移植のドナー検索に応用された。また、ALD 患者における変異同定により、キャリアの診断が可能となり、遺伝カウンセリングに有用であった。

ALD の臨床病型を修飾しうる遺伝的素因の探索に関しては、ALD 患者及びキャリア 19 例の解析により、1 例において *ABCD2* のアミノ酸置換を伴う多型、3 例において 5' 非翻訳領域の多型 (いずれも新規) を認めた。既知の SNP は同定されなかった。これらの新規多型のコントロールにおける頻度は、それぞれ 3/48 chromosome, 2/48 chromosome であった。これらの多型を有する例の臨床像はいずれも大脳型であった。

### C. 今後の展望

1. DNA マイクロアレイを応用したハイスループット遺伝子解析システムは迅速な遺伝子診断に優れており、造血幹細胞移植のドナー検索及び遺伝カウンセリングにも有用であると考えられた。従来の極長鎖脂肪酸測定に基づいた診断と本システムによる遺伝子診断を組み合わせることにより、より幅広い臨床のニーズに対応することが可

能になると考えられる。

2. *ABCD2* の新規の一塩基多型を同定した。この多型が臨床症状の修飾因子であるかどうかに関しては、さらに大きなデータセットでの検討が必要と考えられた。今後は、さらなる関連遺伝子の解析、ゲノムワイド多型解析などを通じて、ALD の修飾遺伝子を同定する研究を推進する。

## 小児副腎白質ジストロフィー症(ALD)前頭型の症状について

分担研究者 加我牧子 国立精神・神経センター精神保健研究所部長

研究要旨:幹細胞移植前後の評価目的で紹介された19症例を含む自験小児型ALD28症例のうち、病変が前頭葉から進展したと考えられる小児5症例について、初発年齢、初発症状を含む臨床経過につき検討した。前頭葉病変で初発する例は、発症年齢平均9.1歳と後頭葉発症例に比べてやや高い傾向があり診断も遅れがちであった。診断には注意力低下、性格変化など前頭葉皮質症状が重要で、注意欠陥/多動性障害など「軽度」発達障害との鑑別が必須である。

さらに小児の副腎機能不全の診断に際しては、ALDの存在を念頭においた十分な検査や観察が必要である。また画像診断上前頭葉以外の病変が確認できなくても、視空間認知機能低下や構成障害・言語障害を明らかに示す例が注目され、潜在的病変の存在の可能性を考慮する必要がある。幹細胞移植の臨床的有効性は明らかになってきており、小児型ALDの早期症状の啓蒙活動と早期診断・早期治療の体制を構築する必要がある。

### A. 研究目的

小児型ALDの病変は大部分(85%)が後頭葉白質から進展し、前頭葉から進展する型は15%程度であるとされている。私たちはこれまでの研究で、典型的な小児ALDに適用可能な検査バッテリーを開発し、病変部位に特異的な神経心理所見と神経生理所見があることを報告してきた。さらに自然経過をとるALDでは上記が進行性に悪化するが、骨髄移植(造血幹細胞移植)によって悪化の阻止、あるいは改善所見が得られることを示してきた。

今年度は、非典型的な前頭型ALDに焦点を絞り、その臨床症状の経過と移植療法との関連を明らかにすることにした。すなわち、前頭葉型臨床症状の特徴を抽出することにより、本疾患の早期診断率の向上に役立てることを目的とした。

### B. 研究方法

幹細胞移植前後の評価目的で紹介された19症例を含む自験小児ALD28症例のうち、病変が前頭葉から進展したと考えられる小児5症例(17.8%)について初発年齢、初発症状を含む臨床経過につき後方視的に検討した。5症例の臨床症状のまとめを表1に示した。

臨床検査は、心理学的・神経心理学的検査と神経生理学的検査をできる限り、併用した。

#### ①心理学的・神経心理学的検査

Moser博士の推薦する方法を改変した上で聴覚機能検査を追加した。すなわち言語、視空間認知、視知覚、視運動/Graphomotor機能、記憶、注意/実行機能を評価した。このため、対象者の発達レベルや病態に応じて検査項目を選択した。

年齢に応じたWechsler系の知能検査を行うことを原則として、Raven色彩マトリクス検査、

トークンテスト、Rey の複雑図形、両耳検査 (Dichotic Listening Test)、環境音弁別検査、音像定位検査、Wechsler memory scale (WWMS)、Wisconsin card sorting test (WCST)、ストループテスト、かなひろいテスト、語の流暢性、Continuous Performance Test (CPT)等を実施した。視力検査、純音聴力検査、語音聴力検査も行った。

## ②神経生理学的検査

耳音響放射 otoacoustic emission(OAE)、誘発電位 Evoked Potential(EP)、事象関連電位 Event related potential(ERP)を実施した。

## C. 研究結果

5 症例の発症時年齢は、平均 9.1 歳 (6 歳 7 ヶ月～12 歳) であり、初回評価時の年齢は平均 13.9 歳 (10 歳 2 ヶ月～18 歳 0 ヶ月) であった。家族歴は 1 名 (兄) で確認された。

初発症状は落ち着きがなく注意が集中しなくなる、身辺整理ができなくなるなどの行動異常と幼稚になる、乱暴になるなどの性格変化といった精神症状が 4 名に認められた。このうち 1 名は精神症状の発症 2 年前に皮膚・爪の色素沈着があり、アジソン病と診断され、内分泌学的症状の発症が先行していた。1 名は無症状の時期に兄の発症 (後頭葉型) を契機に実施された MRI 検査で診断された。経過中、女性に対する興味の増加など性的逸脱を思わせる症状が 2 名に出現していた。てんかん発作が 2 名に認められ、これらは重積発作による救急入院が診断のきっかけとなっていた。

検査可能であった 4 症例の Wechsler 系の知能検査では総 IQ が 52～70、言語性 IQ が 63～77、動作性 IQ が 50～89 と評価され、言語性 IQ

と動作性 IQ の差は、動作性 IQ が有意な者 1 例、有意な差ではないが言語性 IQ がやや高値な者が 3 例、初診時すでに知能が荒廃し知能検査不能であった者が 1 例であった。

幹細胞移植を受けた 2 症例は移植後 4 年半と 2 年半の間に IQ の変化はほとんど見られなかっただけでなく改善傾向も示した。一方、アジソン病の診断後 5 年後に注意欠陥多動性障害 (AD/HD) と誤られ、未治療で経過していた 1 症例の受診前約 1 年の間に IQ は 104 から 68 に正常から知的障害レベルまで低下していた。

神経心理検査上では、視覚記憶力、視空間認知力の低下や、構成障害、言語障害が 2 例で確認された。語の流暢性の障害が 2 例で、保続が 3 例、注意力の障害が 4 例で確認された (表 2)。

診断に至るまでに教育相談所での相談、スクールカウンセラーによる指導を受けていた者がそれぞれ 1 名あった。CT で前頭葉の異常を指摘されながらただちには ALD の診断検査に至らなかった症例も 1 例見られた。診断のきっかけと問題点については表 3 に示した。

画像診断学的には MRI でいずれも前角周囲の白質病変が中心であったが、診断時にすでに後角周囲白質の病変が確認されていた者が 2 例あり、1 例は脳梁後部の病変も加わっていた。

当初から前頭葉に加えて頭頂葉、内包前脚から膝部、前交連、脳幹病変を有する者も見られた。未治療の症例で診断 5 年後には CT 上、後頭葉皮質下白質病変が見られた者もあった。

幹細胞移植は 5 例中 3 名で実施され、このうち 2 名は治療後 9 年と 5 年を経過しており、いずれも移植後複数回の評価で、IQ の上昇が得られており、注意力や問題行動が改善していた。

#### D. 考察

前頭葉からで症状が進展する ALD では初発症例が後頭葉から病変が進展するタイプより発症年齢が遅いことの他に診断自体も遅れる傾向にあった。後頭葉から初発するタイプの ALD では歩行障害や視覚障害といった相対的に神経症状として認識しやすい症状で初発するが、前頭葉型にみられる性格変化や、それまでの患児の態度からは考えられないような異常行動などの精神症状や多動や注意集中困難が主症状となりうる。今回の対象例の中でも、児童相談所や教育相談、心理相談に措置されそこで AD/HD などの評価が行われてしまう症例があり、事後の医学的対応が遅れてしまうことがみられた。中途発症の AD/HD はあり得ないことについての啓蒙活動が必要であり、鑑別診断の重要性が指摘できる。

神経心理検査では前頭葉に由来すると思われる注意機能や、実行機能の異常、保続傾向、語の流暢性の異常が確認されたことに加えて、視覚記憶力、視空間認知力の低下や、頭頂葉症状である構成障害、側頭葉障害を思わせる言語障害を示す症例が確認された。

これらの所見は必ずしも画像診断上の障害部位にとどまらない脳機能障害が認められたことになる。すなわち神経心理学的検査所見は潜在的脳病変の存在を推定させる結果であった。

今回は画像診断上、前頭葉病変が主である症例について検討したが、神経症状・精神症状が確認されたときすでに側脳室後角周辺の病変が存在している例があり、未治療例で時間が経過すると後頭葉病変が確認された症例が存在した。さらに兄弟例で後頭葉型と前頭葉型が

られたことから、前頭葉型と後頭葉型の区別は疾患の本態としては本質的ではないと思われるものの、どの部位から発症するのかについての生物学的な背景や要因については不明であった。

しかし脳の局在症状による初発症状の特徴や、学校や家庭での生活上の困難の観点からは疾患がどの部位から初発するかは臨床的に重要で看過できない点であり、今後十分な検討を必要とする要件であると思われる。さらに副腎不全の診断がすでについていたにもかかわらず、ALD の検索や追跡が充分行われていなかった可能性もあり小児科臨床医に ALD に起因する症状である可能性があることをあらためて周知する必要があると考えられる。

疾患の自然歴を考えると現時点での幹細胞移植の利点は明らかであると考えられ、前頭葉型 ALD においても早期診断と早期治療の体制を早期に構築することが必要である。

#### E. 結論

- ① 前頭葉病変で初発する例は発症年齢がやや高い傾向があり診断も遅れがちであった。
- ② 注意力低下など前頭葉皮質の症状が重要であり、注意欠陥/多動性障害 AD/HD など「軽度」発達障害との鑑別が重要である。また副腎機能不全の診断に際しては ALD の可能性を念頭に置いた十分な検査や経過観察が必要である。
- ③ 画像診断上前頭葉以外の病変が確認できなくても視空間認知機能低下・構成障害・言語障害が明らかに存在している例が注目され、潜在的病変の存在の可能性を考慮

する必要がある。

- ④ 小児 ALD の早期症状の啓蒙活動と早期診断・早期治療の体制を構築する必要がある。

F. 研究発表

1.論文発表

• Nobutoki T, Sasaki M, Fukumizu M, Hanaoka S, Sugai K, Anzai Y, Kaga M. Fluctuating hearing loss, episodic headache, and stroke with platelet hyperaggregability: Coexistence of auditory neuropathy and cochlear hearing loss. *Brain Dev* 28: 55-9. 2006.

• Suzuki Y, Takemoto Y, Shimozawa N, Imanaka T, Kato S, Furuya H, Kaga M, Kato K, Hashimoto N, Onodera O, Tsuji S. Natural history of X-linked adrenoleukodystrophy in Japan. *Brain Dev* 27: 353-7, 2005.

• Fukumizu M, Kaga M, Kohyama J, Hayes MJ. Sleep-related nighttime crying (yonaki) in Japan: a community-based study. *Pediatrics* 115 : 217-24, 2005.

• 加我牧子、田中恭子、稲垣真澄:精神遅滞の

医学的診断検査について. *小児科臨床* 58: 461-465, 2005.

• 稲垣真澄、堀口寿広、加我牧子、杉江秀夫：症例：脆弱X症候群の聴覚性P300異常について. *臨床脳波* 47: 135-138, 2005.

• 加我牧子：言語発達の生物学的基礎 3. 語機能の側性化と臨界期. 岩立志津夫、小椋たみ子編：よくわかる言語発達、ミネルヴァ書房. pp.106-109, 2005.

2 学会発表

特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

研究協力者：稲垣真澄、中村雅子、軍司敦子、井上祐紀、石黒秋生、鈴木聖子、赤坂洋人、小久保奈緒美、堀口寿広、加藤俊一、加藤剛二

表 1 症例の概要

症例	年齢	IQ			MRI		参考
		VIQ	PIQ	FIQ	主病変	その他	
1	15y2m	56	82	65	F	P	兄前頭型 ALD
2	18y0m	77	63	68	F	後角周囲	
3	10y1m	52	63	59	F	脳幹	父方祖父 SCD
4	11y1m	68	75	66	F	後角周囲、脳梁	Addison 病
5	15y0m	nd	nd	nd		後角周囲	

F：前頭葉、 P：頭頂葉、 SCD：脊髄小脳変性症、 nd：未検査

表2 神経心理学的検査所見

症例	注意力	流暢性	保続	構成	視覚認知	聴覚認知	言語機能	記憶記銘	計算力
1	低下	低下	あり	低下	異常	異常	想起不良 錯語	低下	低下
2	易興奮性	低下	あり	気づかず	異常	異常	喚語困難	低下	気づかず
3	低下	低下	あり	低下	異常	異常	低下	?	低下
4	低下	低下	?	検査中	検査中	異常	検査中	検査中	検査中
5	?	?	?	?	?	?	低下	?	低下

表3 診断のきっかけと問題点

症例	年齢	発症年齢	発症時の症状	診断まで	診断のきっかけ
1	15y2m	9y8m	無症状		兄の発症
2	18y0m	12y頃	性格変化・書字が乱雑	2年	発症2年半後にCT
3	10y1m	8y6m	集中困難・性格行動変化	3年	痙攣群発 教育相談所でLD
4	11y1m	9y5m	注意散漫・行動異常	1年8ヶ月	家族の観察 スクールカウンセラー
5	15y0m	9y	身辺整理・性格変化・行動異常	5年半	痙攣重積 4年後特殊学級へ 4年半後にCT

## 国内の副腎白質ジストロフィー症に対する造血幹細胞移植成績

分担研究者 加藤剛二 名古屋第一赤十字病院 小児血液腫瘍科

分担研究者 加藤俊一 東海大学医学部 基盤診療学系 再生医療科学

研究協力者 矢部普正 東海大学 小児科

研究要旨：国内では1988年9月から2005年12月までに45例の副腎白質ジストロフィー症に対し48回の造血幹細胞移植がなされ、ドナー別では血縁者間24例（骨髄移植23例、臍帯血移植1例）、非血縁者間21例（骨髄移植11例、臍帯血移植10例）であった。前者では24例に対して26回の移植がなされ19例が生着生存中であり、後者では21例に対して23回の移植がなされ10例が生着生存であった。今後は移植成績向上のために本症に対する至適前処置の検討が重要である。

### A. 研究目的

副腎白質ジストロフィー症（以下ALD）は小児期に発症し進行性の神経症状を呈する難治性の先天性代謝異常症であり、現時点では同種造血幹細胞移植が唯一有効な治療法として試みられている。これまで国内で実施された本症に対する造血幹細胞移植成績を検討し、今後の方針につき検討する。

### B. 研究方法

1. 症例：ALDに対する移植成績は日本小児血液学会造血細胞移植委員会に集積されたデータおよび名古屋第一赤十字病院と東海大学における移植データを基に解析した。1988年9月から2005年12月までに45例に対して48回の造血幹細胞移植が施行された。移植時の年齢中央値は8歳（1-15歳）、であった。移植件数の年次推移では非血縁者間の骨髄移植および臍帯血移植が可能となって移植件数は年々増加しているが稀少疾患であるため年間の最多移

植件数は1998年の8件である。

2. 移植施設毎の移植件数：施設毎の移植件数を示す。（）内施設数。18例（1）、6例（1）、3例（1）、2例（3）、1例（12）。

3. ドナー及び移植細胞の種類と移植細胞数：血縁者間24例（同胞間骨髄移植20例、母子間または父子間骨髄移植3例、同胞間臍帯血移植1例）、非血縁者間21例（骨髄移植11例、臍帯血移植10例）であり、移植細胞数の中央値は骨髄移植で $3.98 \times 10^8/\text{kg}$ 、臍帯血移植で $2.9 \times 10^7/\text{kg}$ であった。

4. 診断から移植までの期間（表1）

	血縁者間	非血縁者間
骨髄移植	92(32-623)	628(65-1842)
臍帯血移植	1536	65(24-267)

診断から移植までの期間（日）の中央値と範囲を表1に示す。非血縁者間骨髄移植においては血縁者間骨髄移植及び非血縁者間臍帯血移植と比較して診断から移植までの期間が長い傾向にあった。

5. 移植前処置：血縁者間骨髄移植では BU + CY (9 例)、BU + CY + ATG (4 例)、L-PAM+TAI+ATG (8 例)、その他 4 例、非血縁者間骨髄移植では BU+CY+ATG (3 例)、BU + CY + TLI + ATG (3 例)、その他 5 例。非血縁者間臍帯血移植では BU + CY + ATG (3 例)、BU + CY + FL (2 例)、その他 7 例であった (2 回目移植も含む)。

6. 倫理面：本研究においては移植データの集積に際し匿名化されており、倫理面での問題は無いと考えられる。

#### C. 研究結果

1. 生着：血縁者間骨髄移植では生着例での好中球 500/mm<sup>3</sup> 以上回復日数は中央値 15.5 日 (7-42)、非血縁者間骨髄移植では同 18.5 日 (8-19 日)、非血縁者間臍帯血移植では同 26 日 (15-26) であった。

2. 生存及び死亡 (表 2)：血縁者間骨髄移植では 23 例中 20 例が初回移植で生着し、18 例が生着生存、3 例は拒絶生存であった。非血縁者間骨髄移植では 11 例中 10 例が初回移植で生着し、7 例が生着生存、3 例が死亡、1 例不明であった。非血縁者間臍帯血移植では 10 例中 5 例が初回移植で生着し、2 例は 2 回目移植で生着し、生存例は 2001 年以降に施行された 6 例で、内 3 例が拒絶生存、他の 3 例が生着生存 (前処置は BU+CY+FL および FL+L-PAM+TAI+ATG であった)。

#### D. 考察

副腎白質ジストロフィー症に対して造血幹細胞移植による臨床的効果が得られるためには 1) 発症後早期に実施する事、2) 生着を得る事、及び 3) 中枢神経系に対する副作用を少なくする事が重要である。1) に関しては本症が早期に診断され、かつ迅速に移植

される事が条件であるが孤発例では診断までに長期間を要することも多く、その間に症状が進行して移植の至適時期を逸する事も希でない。また血縁者に HLA 適合者が得られない場合は従来非血縁者間骨髄移植を実施しているが登録から移植まで 4-6 ヶ月を要しており、多くの症例でこの間に症状の進行がみられている。これに対して近年非血縁者間臍帯血移植を目的とした日本臍帯血バンクネットワークが充実しドナーの選択肢が拡大しつつあるが現時点では臍帯血移植による生着不全の頻度が高くその利点である迅速性が生かされていないのが現状である。また前処置薬の Busulfan による神経症状の悪化も無視できない頻度で生じているため進行例においてはその使用を避けるべきと考えられる。そのため今後は同薬を省いた前処置によって診断後早期に実施する方法を検討する事が本症を早期に救済する方法として重要と考えられる。

#### E. 結論

現時点において本症に対する臨床的効果を得るためには造血幹細胞移植が最も有効とされているが移植時期や移植方法等で解決すべき点が多い。今後は国内での前方視的臨床研究によって最良の方法を見出す事が重要と考えられる。

F. 健康危険情報：なし

G. 知的財産権の出願・登録状況：なし

H 本文中の略語

BU:busulfan,

CY:cyclophosphamide,

L-PAM:alkeran,

FL:fludarabine,

TAI:thoraco abdominal irradiation,

TLI:total lymphoid irradiation,

ATG:anti-T lymphocyte globulin,



GVHD:graft versus host disease,  
MTX:methotrexate,

Pred:prednisolone  
CsA:cyclosporine

表 2. ドナー及び前処置別移植成績

	移植回数	生着	生存	生着生存
<b>1. HLA 一致同胞間骨髓移植</b>				
(17 例、18 回移植、15 例生存、14 例生着生存)				
BU, CY	9	9	9	9
BU, CY, ATG (1 例は 2 回目移植のため重複)	3	3	3	3
BU, CY, TEPA	1	1	0	0
CY, TLI	1	0	1	0
L-PAM, TAI, ATG	4	4	3	3
<b>2. HLA 不一致血縁者間骨髓移植</b>				
(6 例、7 回移植、6 例生存、4 例生着生存)				
BU, CY, TAI, ATG	1	0	1	0
L-PAM, TAI, ATG	4	3	4	3
FL, L-PAM, ATG, TBI	1	1	1	1
<b>3. HLA 一致同胞間臍帯血移植 (1 例生着生存)</b>				
BU, CY, ATG	1	1	1	1
<b>4. 非血縁者間骨髓移植</b>				
(11 例、11 回移植、8 例生存、7 例生着生存)				
BU, CY, ATG	3	3	1	1
BU, CY, TLI, ATG	3	3	3	3
CY, TBI	1	1	1	1
CY, TLI, ATG	1	1	0	0
L-PAM, TAI, ATG	2	2	2	2
不明	1	-	1	-
<b>5. 非血縁者間臍帯血移植</b>				
(10 例、12 回移植、6 例生存、3 例生着生存)				
BU, CY, ATG (1 例は 2 回目移植のため重複)	3	3	0	0
BU, CY, TLI, ATG (2 回目移植)	1	1	0	0
BU, CY, FL	2	2	2	2
BU, CY, TEPA, ATG	1	0	1	0
CY, TBI, ATG	1	0	0	0
CY, TAI, ATG	1	0	0	0
L-PAM, TAI, ATG	1	0	1	0
FL, L-PAM, TAI, ATG	1	1	1	1
FL, L-PAM, ATG	1	0	1	0

## 東海大学における副腎白質ジストロフィー（ALD）に対する造血幹細胞移植

分担研究者 加藤俊一（東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学・教授）  
研究協力者 矢部普正、矢部みはる、松本正栄、服部欽哉、井上裕靖、浜之上聡、  
小池隆志、廣井愛子（東海大学医学部小児科）、柳町徳春（同放射線科）、  
清水崇史（現・筑波大学小児科）、加我牧子（国立精神神経センター）

### 研究要旨

東海大学において1996年～2005年に造血幹細胞移植を施行した副腎白質ジストロフィーの患者17例について、その臨床的特徴、移植方法、移植結果、治療効果を検討した。前処置に用いられる薬剤のうちブスルファンは、免疫抑制という観点では優れているものの、中枢神経毒性がある点が問題である。そこで、メルファランやフルダラビンを中心とした前処置を検討したところ、中枢神経毒性がなく、今後の移植前処置として使用できる可能性が示唆された。移植による効果は、これまで指摘されているように、移植直前の進行度によるところが大きく、早期あるいは中期に移植を実施できた症例ほど臨床的な効果が大きいことが確認された。

### A. 研究目的

東海大学においては当研究班が発足する前から副腎白質ジストロフィー（以下ALD）症例に対する造血幹細胞移植を積極的に行ってきたが、研究班発足後にも症例が蓄積され、症例数の増加とともに経過観察期間が延びたことから、あらためてこれまでの移植例について詳細な検討を行った。

### B. 研究方法（移植症例）

- 1) 移植時期；1996年2月から2005年10月までに東海大学において造血幹細胞移植が実施された17例の男児を対象とした。
- 2) 年齢；移植時の年齢は4～13歳で、中央値は10歳であった。発症時の年齢は3～11歳で、診断時年齢は1～12歳であった。
- 3) 病期；移植時の症状の進行度は、臨床症状発症前2例、初期2例、中期3例、進行期4例であり、移植直前のMRIスコア（Loes法）は0～21.5点（中央値7.5点）に分布していた。
- 4) ドナーと移植細胞源；HLA一致血縁者が6例（骨髄5例、臍帯血1例）、HLA不一致血縁者が4例（骨髄）、HLA一致非血縁者が2例（骨髄）、HLA不一致非血縁者が5例（骨髄1例、臍帯血4例）であった。

### C. 研究結果（移植結果）

- 1) 移植前処置；BU+CY+ATG±TAIが7例、CY+ATG+TAIが1例、LPAM+ATG+TAIが8例、LPAM+Flu+ATG±TAIが2例であった。  
\*BU（ブスルファン）、CY（エンドキサン）、ATG（抗胸腺グロブリン）、TAI（橋腹部照射）、

### LPAM（メルファラン）

2) GVHD予防；CYA±MTX±PSLが8例、FK+MTX/PSLが9例で、T細胞除去+CYAが1例であった。

\* CYA（サイクロスポリン）、MTX（メソトレキセート）、PSL（プレドニン）、FK（タクロリムス）

3) 移植細胞数；骨髄移植においては $3.34 \times 10^8/\text{kg}$ （0.81～5.26）、臍帯血移植においては $2.88 \times 10^7/\text{kg}$ （2.76～2.94）の有核細胞が移植された。

4) 生着；13例において移植細胞の生着が得られたが、4例で拒絶され、2例において再移植により生着が得られた。13例においてはドナー完全キメラ、1例で混合キメラであった。

拒絶された4例の移植内容は、2例がHLA不一致の血縁者からのT細胞除去骨髄移植、2例がHLA不一致の非血縁者間臍帯血移植であった。

5) GVHD；急性GVHDは0～I度で、予防法による差はなかった。慢性GVHDは1例にも認めなかった。

6) 前処置による急性毒性；前処置中の意識状態をブスルファン使用7例中4例に認め、メルファラン使用10例では認めなかった。

7) 生存と死亡；17例中14例が生存中で、3例が感染症で死亡した。

8) 治療効果；生存9例における治療効果は、発症前移植の3例は移植後も発症なく経過し、発症後移植の14例中3例で改善または進行停止、5例で進行、6例が評価不能（3例死亡、3例移植後観察期間不十分）であっ

た。

造血幹細胞移植後のMRIスコアの推移をみると、移植時期が初期の症例ほど進行が遅く、進行期の症例ほど移植後もスコアの悪化が著明であった。また、MRIスコアは移植後1年間は悪化する傾向があったが、1年以降には著明な悪化は認められなかった。

PIQの移植後の推移をみると、病初期の症例ほど良好な状態が保たれ、進行期症例では改善が認められなかった。また、PIQとMRIスコアの間には相関が認められた。

#### D. 考察と結論

海外からの報告やわが国における本研究班の前身である辻班の報告と同様に、ALDにおける移植結果を左右する最大の因子は移植時期であった。移植を必要とする症例においてできるだけ早く移植を実施するためには、血縁者内のみならず広く非血縁者間にもドナーを求める努力が必要である。

移植前処置として至適なものはまだ確立されていないが、ブスルファンを含む前処置による中枢神経症状の悪化を回避するために、今後移植前登録によりメルファランやフルダラビンなどを中心とした前処置の検討を行う必要がある。

#### E. 健康危険情報

該当なし。

#### F. 研究発表

**Kato S.** Cord blood transplantation and cord blood banking. *Hematology*. 2005;10 Suppl 1:113-4.

Muguruma Y, Yahata T, Miyatake H, Sato T, Uno T, Itoh J, **Kato S**, Ito M, Hotta T, Ando K. Reconstitution of the functional human hematopoietic microenvironment derived from human mesenchymal stem cells in the murine bone marrow compartment. *Blood*. 2005 ; [Epub ahead of print]

Kanda Y, Sakamaki H, Sao H, Okamoto S, Kodera Y, Tanosaki R, Kasai M, Hiraoka A, Takahashi S, Miyawaki S, Kawase T, Morishima Y, **Kato S**; Effect of conditioning regimen on the outcome of bone marrow transplantation from an unrelated donor. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005;11:881-9.

Suzuki Y, Takemoto Y, Shimosawa N, Imanaka

T, **Kato S**, Furuya H, Kaga M, Kato K, Hashimoto N, Onodera O, Tsuji S. Natural history of X-linked adrenoleukodystrophy in Japan. *Brain Dev*. 2005;27:353-7.

Yabe H, Yabe M, Hattori K, Inoue H, Matsumoto M, Hamanoue S, Hiroi A, Koike T, **Kato S**. Secondary G-CSF mobilized blood stem cell transplantation without preconditioning in a patient with Gaucher disease: Report of a new approach which resulted in complete reversal of severe skeletal involvement. *Tokai J Exp Clin Med*. 2005;30:77-82

Yabe H, Hattori K, Inoue H, Matsumoto M, Hamanoue S, Hiroi A, Koike T, **Kato S**, Shimamura K, Yabe M. Fatal adenovirus infection indistinguishable from thrombotic microangiopathy after allogeneic CD34+ peripheral progenitor cell transplantation. *Tokai J Exp Clin Med*. 2005;30:71-5

Nakai K, Kanda Y, Fukuhara S, Sakamaki H, Okamoto S, Kodera Y, Tanosaki R, Takahashi S, Matsushima T, Atsuta Y, Hamajima N, Kasai M, **Kato S**. Value of chemotherapy before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-identical sibling donor for myelodysplastic syndrome. *Leukemia*. 2005;19:396-401.

Tsuboi K, Kawada H, Toh E, Lee YH, Tsuma M, Nakamura Y, Sato T, Ando K, Mochida J, **Kato S**, Hotta T. Potential and origin of the hematopoietic population in human skeletal muscle. *Leuk Res*. 2005;29:317-24.

## ALD の分子病態解析

分担研究者 今中 常雄 富山大学・薬学部・教授  
協力研究者 守田 雅志 富山大学・薬学部・助手

**研究要旨** 植物フラボノイド誘導体 baicalein 5,6,7-trimethyl ether (bicaicin-tri-Me) が ALD 患者由来線維芽細胞の極長鎖脂肪酸代謝を正常化することを報告した。本研究ではさらに ALD に対する有効な化合物を見出すため、①ヒト ALD 標的細胞株での ALDP ノックダウンならびに ALD ノックアウトマウス由来グリア細胞における脂質代謝、② bicaicin-tri-Me をリード化合物する誘導体の効果について検討した。その結果、ヒト ALD 標細胞ならびに ALD ノックアウトマウス由来グリア細胞は、ALD 治療薬スクリーニングに有用であることが示唆された。一方、bicaicin 誘導体については有用な化合物が見出されなかったが、bicaicin-tri-Me の効果に必要なとする立体構造と官能基が推定された。

### A. 研究目的

現在、副腎白質ジストロフィー (ALD) に対する有効な治療薬はなく、リスクを伴う骨髄移植に頼らなければならないのが現状である。我々はこれまでに複数の植物由来フラボノイド誘導体が ALD 患者由来線維芽細胞の極長鎖脂肪酸β酸化を活性化することを報告した。そこで本研究では ALD に対するさらに有効な化合物を見出すため、ヒト中枢神経系細胞株、マクロファージ系細胞での ALDP ノックダウンならびに ALD ノックアウトマウス由来グリア細胞における脂質代謝について検討し、有用なモデル細胞の取得とアッセイ系の確立を試みた。さらに、bicaicin-tri-Me をリード化合物として種々の誘導体を合成し、有用な化合物をデザインすることを試みた。

### B. 研究方法

ヒト ALD 標的組織モデル細胞として、神経細胞株 (IMR32)、グリア細胞株 (U87, U251, T98G)、副腎皮質由来細胞株 (NCI-H295) および単球-マクロファージ系細胞株 (THP-1) を用いた。ペルオキシソーム膜 ABC タンパク質 (ALDP、PMP70) の発現は immunoblotting で

分析した。各細胞における ALDP ノックダウンは、*in vitro* transcription system により作製した shRNA を、細胞に transfection することにより行った。ALD ノックアウトマウス由来ミクログリアは、生後 1~2 日のマウス脳より得られた混合グリア細胞からプラスチックシャーレへの吸着の違いを利用してアストロサイトと分離した。各細胞の脂肪酸β酸化活性は [<sup>14</sup>C]palmitic acid 及び [<sup>14</sup>C]lignoceric acid を基質として、酸可溶性画分の放射活性を測定することにより求めた。これら脂肪酸の各脂質への取り込みの測定は、細胞の脂質抽出画分を TLC により分離した後、各脂質画分の放射活性を BAS5000 で定量した。一方、新たに合成した bicaicin-tri-Me 誘導体の効果については、従来と同様に ALD 患者由来線維芽細胞における脂肪酸β酸化活性への影響を指標に検討した。さらに bicaicin-tri-Me の作用機構について、種々の脂質代謝酵素に対する影響を検討した。

(倫理面での配慮)

ALD 患者線維芽細胞は、提供者（幼児の場合は両親）の同意を得て採取したものを、岐阜大医学部鈴木康之教授より供与を受けた。