

図 重症複合型免疫不全と慢性肉芽腫症患者の発症時期と診断された時期の比較

原発性免疫不全症候群研究班 登録担当岩田 力らの1992～2003年調査研究による (主任研究員; 宮脇利男).

CDCからはSCID, CGD, HIVやDi George症候群患者のほとんどの人が全身性播種性BCG感染症に罹る危険があると述べている<sup>10)</sup>.

出生後からBCG接種を行っているチリでは、過去10年間で9名の全身BCG感染症が発生したと報告されている。2名がSCID, うち1名は皮膚所見はあったが局所のリンパ節所見もなく、発症後1年以内に死亡している。3名が慢性肉芽腫症で、リンパ節腫脹で発症し、BCG以外の感染症で亡くなっている。4名が細胞性免疫異常で局所のリンパ節腫脹を呈し、うち3名は治療抵抗性で、5～6年で死亡している。新生児100万人に3.4名の発生率となっている<sup>11)</sup>.

上記のように、全身性播種性BCG感染症などの重度の健康被害が報告されている免疫不全症には、1)重症複合型免疫不全症(IL-2R $\gamma$ 鎖欠損症, ADA欠損症, Rag 1/2欠損症など), 2)慢性肉芽腫症(gp 91-, p 22-, p 47-, p 67-phox欠損型CGD), 3)T細胞機能不全を伴う免疫不全症

(IFN- $\gamma$ R 1/2欠損症, IL-12 p 40, IL-12 R 1欠損症, STAT 1欠損症)等が報告されている。各々の疾患の日本での発生頻度は以下のように予測されている。1) 1名/50,000～75,000出生, 2) 1名/220,000出生, 3) 他のまれな免疫不全症については日本ではしっかりした統計がない<sup>12)</sup>.

したがって、日本で年間100～110万人が出生すると、年間合計20～40名の原発性免疫不全症患者が出生される可能性がある。チリと同様に出生直後にBCG接種すると、少なくとも4～5名の患者が全身性BCG感染症で発見されると想定される。

## II. BCG接種時期に対する考察

諸外国のBCG接種開始時期について、中国が出生直後、フランスが1カ月以内(ハイリスク者のみ)、インドが1カ月以内、韓国が1カ月以内、フィリピンが6カ月以内に実施されている<sup>1)</sup>。低蔓延国のスウェーデンでは、重症免疫不全の罹患

率が乳幼児 10 万人当たり 4 名に対し、出生児全体 10 万人当たり 1 名に比べて高かった。また免疫不全患者の症状発現時期（生後 1.3 カ月）が診断された時期（生後 5.3 カ月）よりも遅れていた。このことから、スウェーデンでは BCG 接種は生後 6 カ月以前には行われていない<sup>7)</sup>。米国では BCG 接種は実施されておらず、新生児の結核感染者が発生した場合、近親者ならびに近隣の患者と交遊のあるものに限りツベルクリン反応後 BCG 接種を行っている。

日本の前向きの年齢別 BCG 副作用報告を見ると、乳児ではリンパ節腫大の頻度が 0.81%と 1~3 歳の 0.43%と比べ高い<sup>13)</sup>。松本修三らは SCID 患者 34 例の感染起始月例の 74%が 3 カ月以前であったことから生後 3 カ月以降の接種を推奨していた<sup>14)</sup>。厚生省特定疾患「原発性免疫不全症候群」調査によると、SCID 患者の発病月齢 3 カ月以内が 45.8%、CGD 患者の発病月齢 3 カ月以内が 37.8%であったことから、原則生後 3 カ月からの接種が妥当ではないかと述べている<sup>15)</sup> (図)。

日本小児科学会としては今回の予防法改正より「実施方法としては、生後 3 カ月以降に開始される他の予防接種 (DTP 三種混合およびポリオ) との日程調整等を勧めながら、BCG については 3~4 カ月児健診と同時の集団接種で実施し、ここで接種できなかった児に対して、6 カ月までに個別接種を勧奨するという方法などが現実的であろう」と述べている。

また、WHO では、新生児は、BCG 接種による化膿性リンパ節炎の発生率が年長児よりも高いので、生後 30 日未満の小児には、ワクチン量を減らすことを条件としている<sup>16)</sup>。

### III. 実際の症例

慢性肉芽腫症症例で早期の BCG 接種がされ、全身性播種性 BCG 感染症を発症された症例を紹介したい。

症例は現在 9 歳、当時 1 歳男児、主訴はリンパ節腫脹と胸腹部皮疹発症である。家族歴で特記事項なく、輸血歴、血族結婚歴もない。妊娠出生歴にも特記事項なし。既往歴として 3 カ月時にクループ症候群、7 カ月時に急性中耳炎に罹患した

以外特に大きな感染症罹患歴はない。

現病歴：海外出張のため生後 1 カ月時に BCG 接種を受けている。その後、7 カ月頃まで接種部位に腫脹を伴う湿潤化を認めていた。11 カ月時に左腋窩に腫瘤を認め、生検施行し、病理所見より結核性リンパ節炎が疑われた。培養は陰性であったが、抗酸菌染色にて陽性菌をわずかに認めた。1 歳 5 カ月から持続する微熱と胸腹部に難治性膿痂疹を認め、免疫不全症を疑い精査目的にて入院となっている。その結果、両側に明らかな肺肉芽腫症と皮膚の肉芽腫症が確認され、p22-phox 欠損型慢性肉芽腫症と診断され、さらにイントロン 1 のアクセプターサイト部分の 4 bp 欠失によるスプライス異常とエクソン 2 におけるミスセンス変異が確認されている。この症例は幸いにも、抗結核療法と併せてインターフェロン・ガンマーの定期的投与を行ったところ好中球活性酸素産生能が部分的に改善し、9 歳の現在まで肛門周囲膿瘍以外大きな感染症もなく経過されている<sup>17)</sup>。

### IV. BCG 乳児期早期接種についての考察と提言

1. BCG 予防接種については日本小児科学会が提唱しているように「3~4 カ月児健診と同時の集団接種で実施し、ここで接種できなかった児に対して、6 カ月までに個別接種を勧奨するという方法などが現実的であろう」と考える。

2. 乳児期早期の BCG 予防接種に際しては、免疫不全について従来通り十分な（少なくとも 3 世代にわたる血族結婚や X 連鎖性免疫不全症；SCID, CGD に関する）遺伝的な問診と注意が必要だと思われる。

3. 免疫不全と全身性播種性結核感染症 (BCGitis) について予防接種する前に十分な説明が必要である。

4. 今回の予防法改訂に伴い、BCGitis を起こした症例を厚生労働省へ資料として保存し、解析することが重要である。全身性播種性 BCG 感染症患者から、まだ十分解析されていない免疫不全症が発見されるかもしれない。

5. 原発性免疫不全患者が BCGitis を起こしやすというだけでなく、その後の骨髄移植などの治療が困難になるという観点からも、BCG の接

種はしっかり考えて接種したい。

### 文 献

- 1) WHO : Weekly Epidemiological Record 70 : 229-231, 1995
- 2) WHO : Issues relating to the use of BCG in immunization programmes, A discussion document, WHO/V & B/99.23, 1999
- 3) Yamanaka K, et al : Severe disseminated BCG infection in an 8-year-old girl. Nagoya J Med Sci 63 : 123-128, 2000
- 4) 松島正視 : BCG 接種の問題点. 小児科 MOOK 23, 金原出版, 東京, 1982, 177
- 5) Lotte A, et al : BCG complications : estimates of the risks among vaccinated subjects and statistical analysis of their main characteristics. Advances in Tuberculosis Research 21 : 107-193, 1984
- 6) Elizabeth AT, et al : Disseminate bacile Calmette-Guerin disease after vaccination : case report and review. Clin Infect Dis 24 : 1139-1146, 1997
- 7) Romanus V, et al : Adverse reactions in healthy immunocompromised children under six years of age vaccinated with the Danish BCG vaccine, strain Copenhagen 1331 : implications for the vaccination policy in Sweden. Acta Paediatr 82 : 1043-1052, 1993
- 8) Casanova JL, et al : Immunological conditions of children with BCG disseminated infection. Lancet 346 : 581, 1995
- 9) Jacob CM, et al : Mycobacterium bovis dissemination (BCG strain) among immunodeficient Brazilian infants. J Invest Allergol Clin Immunol 6 : 202-206, 1996
- 10) USPHS/IDSA Guidelines for the Prevention of Opportunistic Infections in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. MMWR 48 : 1-59, 1999
- 11) Gonzalez B, et al : Clinical presentation of Bacillus Calmette-Guerin infections in patients with immunodeficiency syndromes. Pediatr Infect Dis J 8 : 201-206, 1989
- 12) 岩田 力 : 原発性免疫不全症候群症例登録. 原発性免疫不全症候群に関する調査研究, 平成 14 年度総括・分担研究報告書, p 7-12
- 13) 予防接種後副反応報告書 No. 9 (平成 14-15 年)
- 14) 松本修三 : 日本における重症免疫不全の実情. 臨床免疫 4 : 1203-1216, 1972
- 15) 早川 浩 : わが国における原発性免疫不全症候群の調査成績. 日小会誌 83 : 1510-1528, 1979
- 16) WHO Weekly Epidemiological Record 79 : 25-40, 2004 (page. 36)
- 17) 河島尚志 : 第 37 回日本小児感染症学会 W 2-3, p 72, 2006

\*

\*

\*

## 総 説

## 慢性肉芽腫症研究の新展開

布井博幸

## Two breakthroughs in CGD studies

Hiroyuki NUNOI M.D., Ph.D.

Department of Reproductive and Developmental Medicine Faculty of Medicine University of Miyazaki

(Received January 6, 2007)

## summary

Studies in Chronic Granulomatous Disease showed two breakthroughs during this past decade. First, the discovery of 7 Nox/Duox family proteins, Nox1 and Nox1 (homologues of gp91<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup> and p67<sup>phox</sup>) may clarify novel physiological mechanisms for superoxide regulation in various organs, such as the regulation of blood pressure, mucosal defense system in respiratory/digestive tract and nephron. Secondly, the success in bone marrow transplantation and gene therapy for CGD should facilitate treatment for other genetic diseases as well.

**Key words**—Nox; Duox; gp91<sup>phox</sup>; BMT; genetherapy

## 抄 録

慢性肉芽腫症の活性酸素産生異常について、これまで、活性酸素を生成する NADPH オキシダーゼが欠損していること、その酵素は食細胞膜の gp91<sup>phox</sup>, p22<sup>phox</sup> と細胞質の p67<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup>, p40<sup>phox</sup>, racp21 から構成され、刺激により細胞膜で会合し、活性化されることが明らかにされた。この十年で、以下の2つの大きな発展があった。

一つは 2000 年に入ってから、この酵素の本体である gp91<sup>phox</sup> のホモログである NOX ファミリーや、p67<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup> ホモログも発見されたことである。今後種々の臓器でこの酵素群が活性酸素産生制御に関わり、各臓器の生理作用への影響が検討されることになる。

もう一つは、慢性肉芽腫症の根治療法として骨髄移植が 1990 年代から開始され、移植技術の進歩と相まって、骨髄非破壊的移植法が用いられ移植成績が向上していることと、これまで期待されていた遺伝子治療の成功が治療前処置の導入により 2006 年に報告がされたことである。この成功により、慢性肉芽腫症治療法のさらには遺伝性疾患の治療選択を広げようとしている。

## はじめに

慢性肉芽腫症 (chronic granulomatous disease; CGD) は乳幼児期より重症細菌・真菌感染症を反復し、諸臓器に肉芽腫形成を伴うのを特徴とする原発性免疫不全症候群の一疾患である。患者では活性酸素産生が障害された結果、食細胞内に貪食されたブドウ球菌、クレブシエラ菌、大腸菌、カンジダ、アスペルギルスといった非 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 産生・カタラーゼ陽性菌を殺菌できなくなる。このため患者は全身性にこれらの菌による化膿性病巣を形成することになる。肺や消化管などに肉芽腫を形成することも多い。肉芽腫を形成する機序は不明だが、貪食した菌

を殺菌できない単球が活性化状態を持続したまま多種のサイトカインを放出し、周囲に炎症細胞を集結させる結果、肉芽腫を形成し、増大していくものと予想される。好中球をはじめとする食細胞は、自ら産生した活性酸素種 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH<sup>-</sup>, <sup>-</sup>OCl) を用いた殺菌機構を有する。この活性酸素産生の主要な分子が NADPH oxidase とよばれる酵素複合体である (図 1-b)。この酵素複合体を形成する分子のうち、gp91<sup>phox</sup>, p22<sup>phox</sup>, p67<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup> のいずれかが欠損すると CGD を発症する。

本稿では、まず、この疾患の解析が NADPH オキシダーゼの構成因子のクローニングへと繋がり、その後 gp91<sup>phox</sup> ホモログとして NOX ファミリー、さらには Nox1, Nox1 などがクローニングされることとなった経緯をのべ、各々の Nox による産

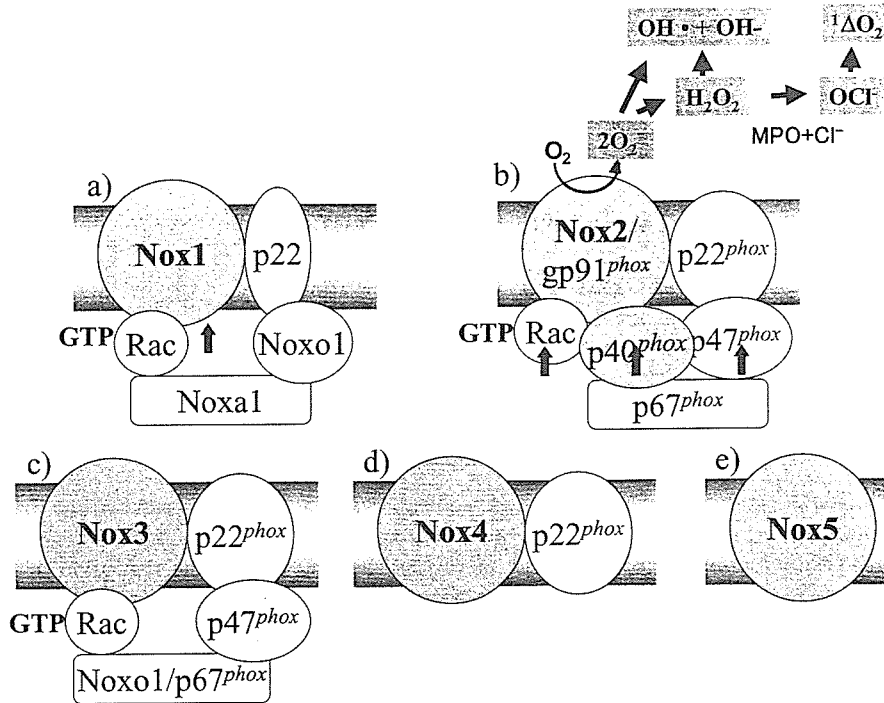


図1 Noxファミリーとその調節蛋白構成  
細胞質因子に関しては↑は刺激による膜移行可能であることを示している。

生される活性酸素産生機構とその生物学的意義について現在の知見をまとめた。

次に、慢性肉芽腫症の臨床面でも従来の抗菌剤、抗真菌剤やインターフェロンなどの保存的治療に加えて、根治療法となる骨髄移植や遺伝子治療が盛んに検討されているので、その進展について述べる。

### 1. Nox/Duox ファミリーの発見

Nox ファミリーとして最初に発見されたのは Nox1 である。Lambeth ら<sup>1)</sup>のグループは種々の癌細胞で活性酸素依存的な増殖を示し、大腸、前立腺、血管平滑筋でも発現している gp91<sup>phox</sup> ホモログを Mox1 として発見した。Banfi ら<sup>2)</sup>は活性酸素産生の際に発生するプロトンを排出するプロトンポンプをクローニングする過程でやはり gp91<sup>phox</sup> ホモログである NOH1L を発見している。菊池ら<sup>3)</sup>も gp91<sup>phox</sup> ホモログとして、Nox1, Nox3 をクローニングした。現在 Nox ファミリーは Nox1-5 と Duox1/2 を含む 7 つの分子が知られている (図 2)<sup>4,5)</sup>。この様に Nox ファミリーは基質である NADPH から酸素分子へ電子伝達を担った分子で、N 末端に 6 つの膜貫通ヘリックスを持ち、第 3 番目と第 6 番目にはヒスチジン残基がそれぞれ 2 カ所存在し、2 つのヘムが結合している。また、細胞質

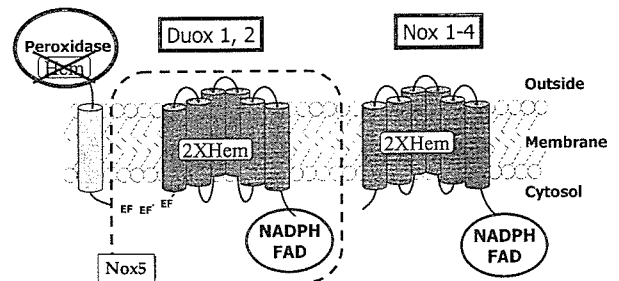


図2 Nox 蛋白の構造比較

側の C 末領域には FAD 結合ドメインと NADPH 結合ドメインが共通して存在している。従って Nox 蛋白質には NADPH から FAD さらにヘムからヘムと電子が伝達されて、酸素分子から活性酸素を産生するのに必要な電子伝達系の全てのドメインを有していることになる。Nox5 は上記の基本構造に加え、N 末に Ca<sup>++</sup> を結合する EF ドメインを 4 カ所もっている。Duox1/2 は N 末に 2 カ所の EF ドメインとペルオキダーゼドメインを有しているが、後者の活性に必須なヒスチジン残基が認められないため、後者の活性はない。

これらの Nox/Duox 単独では、活性酸素を全く産生出来ないか、産生されても極少量しか細胞外に産生できず、Nox2/gp91<sup>phox</sup> と同様 p22<sup>phox</sup> が必要

表1 Nox 蛋白の特徴

分子名	遺伝子座	アミノ酸	発現臓器	機能	p22phox	細胞質因子	Rac の役割	調節因子
Nox 1	Xq22	564	大腸, 前立腺 血管平滑筋	AngII による 血圧上昇	+	Noxo 1 Noxa 1	活性上昇	
Nox 2	Xp21.1	570	食細胞 B リンパ球	感染防御	+	p47 phox p67 phox p40 phox	必須	
Nox 3	6q 25.1-26	568	内耳 胎児腎	耳石形成	+	p47 phox Noxo 1 p67 phox	活性上昇	
Nox 4	11q 14.2-21	578	腎 血管内皮	?	+	-	-	
Nox 5	15q 22.31	737	精子, 脾臓 リンパ球	?	-	-	-	Ca
Doux 1	15q 21	1551	甲状腺, 気管支 唾液腺	?	-	-	-	Ca
Duox 2	15q 21	1548	甲状腺, 大腸	甲状腺 ホルモン合成	-	-	-	Ca

表2 Nox 調節蛋白の特徴

分子名	遺伝子座	アミノ酸	疾患	機能	機能ドメイン		
p47 phox	7q 11.23	390	CGD	Nox 2, 3 活性化	PX		SH3X2
p67 phox	1q 25	526	CGD	Nox 2, 3 活性化		TPR PB1	SH3X2
p22 phox	16q 24	195	CGD	Nox 1, 2, 3, (4?)			
p40 phox	22q 13.1	348	?	(Nox 2 活性化?)	PX		SH3
rac 1/2	7p 22	192	CGD 様	Nox 1, 2, 3 活性化			
Noxo 1	16p 13.3	376/371/370	?	Nox 1, 2, 3 活性化	PX		SH3X2
Noxa1	9q 34.3	483	?	Nox 1, 3 の活性化		TPR PB1	SH3X2
Duoxa 1	15q 21.1	483	?	Duox 1 成熟援護			
Duoxa 2	15q 15.1	320	先天性甲状腺低下症	Duox 2 成熟援護			

な分子 (Nox1-3) や細胞質因子として Noxo1, Noxa1 が必要な分子等, 各臓器でその存在様式を異にしている<sup>6,7)</sup>。それぞれの Nox 蛋白の発現組織や調節機構について, 表 1, 2 にまとめたので, 参照いただきたい。

### 1. Nox の各臓器における意義

1) Nox1 は先にも述べた様に, 1999 年から 2000 年に gp91<sup>phox</sup> ホモログとしてクローニングされ, 大腸に最も発現が高く, 精巣, 腎, その他の組織でも少量ながら発現していることが確認されている。六反らは腸管においては大腸から小腸にかけては Nox1 の高い発現が見られ, さらに上部では Duox が発現していることを明らかにし, また消化管での発癌にも関わっていると報告している。また Nox1 KO マウスではアンジオテンシン II による高

血圧が起こらないことから, 血管平滑筋細胞に発現する Nox1 の血圧調節作用が明らかとなった。その他, Nox1 の mRNA が TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  で誘導されるなど今後とも新しい知見が示されて来るものと思われる。

Nox1 は p22<sup>phox</sup> と結合して膜に存在するが, その活性化には Noxo1 と Noxa1 の両者が必要である。しかし, gp91<sup>phox</sup>/Nox2 と違って Noxo1 の SH3 ドメインがリン酸化を受けずに常に p22<sup>phox</sup> と結合しているため, Noxo1 と Noxa1 とも非刺激時でも細胞膜に移行しており, 残る Rac が Noxa1 に結合することで Nox1 の活性化を制御していることが明らかにされている (図 1-a)<sup>8-10)</sup>。

2) Nox2 は主に食細胞での殺菌に関わっており, gp91<sup>phox</sup> として知られていたが, Nox ファミリーの発見で Nox2 という位置付けになっている。慢性肉

芽腫症では, *rac* のヘテロの異常症が遊走能低下と活性酸素産生能低下として報告され, *p40<sup>phox</sup>* 以外の調節蛋白異常について報告されたことになる. 詳細は慢性肉芽腫症の項で詳述する.

3) *Nox3* は *in vitro* の実験で *p22<sup>phox</sup>* と複合体を形成し, 恒常的な活性酸素を産生し, *p47<sup>phox</sup>*, *p67<sup>phox</sup>*, *Nox1* によりさらに活性化されることが明らかにされている (図 1-c)<sup>11)</sup>. 生体では内耳に発現しており, *Nox3* 変異マウスで平衡障害 (Head tilt mouse) が認められている<sup>12)</sup>. ヒトでは *Nox3* と結合する *p22<sup>phox</sup>* 欠損型慢性肉芽腫症で平衡障害が起こるのではないかと考えられているが, まだ報告はなく, ヒトでの *Nox3* の役割は不明である.

4) *Nox4* はヒト腎皮質遠位尿細管上皮細胞や, 血管内皮細胞に多く発現しているが, 種々の細胞でも少量の発現は認められる. Gorin らは streptozotocine による実験糖尿病モデルで *Nox4* が腎肥大や fibronectin の増加に関与していると報告している<sup>13)</sup> (図 1-d). *Nox4* の細胞内局在については抗体の違いによりまだ一定の見解が得られていない.

5) *Nox5* は精巣や脾臓リンパ球に存在し, 他の *Nox* 蛋白と違い N 末の延長した細胞質領域に  $Ca^{++}$  結合モチーフを 4 か所持っており, *p22<sup>phox</sup>* 関与なく単独で膜に存在し,  $Ca^{++}$  刺激や  $H_2O_2$  で *Nox5* の活性が誘導される. *Nox5* のリン酸化や  $Ca^{++}$  刺激の程度をどのように行っているのかまだ十分わかっていない (図 1-e)<sup>13,14)</sup>.

#### 6) *Duox1/2* (図 2)

*Duox* は, 甲状腺の cDNA ライブラリーから *gp91<sup>phox</sup>* ホモログとしてクローニングされ, その名は C 末に NADPH oxidase, N 末に peroxidase 様の 2 つの oxidase ドメイン (dual oxidase) を持つことに由来している<sup>15,16)</sup>. *Duox* は直接  $H_2O_2$  を産生している. ヒトでは *Duox1* と 2 が存在し, いずれも甲状腺で良く発現し, 甲状腺ホルモン合成に関わっている. *Duox2* 遺伝子異常<sup>17)</sup> や *Duoxa2* の変異<sup>18)</sup> でも先天性甲状腺機能低下がすでに報告されている. *Duox1* については IL-4 や IL-13 などの Th2 サイトカインで数倍の, *Duox2* は IFN- $\gamma$  などの Th1 サイトカインで高度に誘導されることがわかっている<sup>19)</sup>.

### 2. $H_2O_2$ の細胞内シグナルとしての役割

何らかの外來刺激は TLR, IL-1R, TNFR などを通じて *Nox* ファミリーを刺激し,  $H_2O_2$  を産生すると, NF- $\kappa$ B を介した炎症反応の亢進を促すことに

なる<sup>20)</sup>. この様に  $H_2O_2$  は単に殺菌に関わるのみではなく, 細胞機能のシグナルとしての働いていることもわかって来ている. 種々の臓器での活性酸素産生に, これらの *Nox* ファミリーが関わり, 環境の変化に対する細胞の対応を調節していると考えられている.

## II. 慢性肉芽腫症の現状と治療法の進歩

このように, 慢性肉芽腫症研究から *Nox* ファミリーの発見へつながる一方, 慢性肉芽腫症の治療に関しても大きく進歩して来ている. 後半では, 慢性肉芽腫症の遺伝子解析状況も含めて, 治療の現状を報告する.

### 1. 慢性肉芽腫症の現状

慢性肉芽腫症患者は原発性免疫不全症候群の登録患者中で最多で約 18% を占める. 発症頻度は 22.5 万出生に 1 人程度であり, 国内では 2006 年末現在 260 名以上が登録されている. 男女比はおよそ 6.9 : 1 で, 国内に偏りなく分布している. CGD 患者は敗血症やアスペルギルス感染症などで命を落とすことが多く, 平均寿命は 25~30 歳とされたが, 最近では生命予後が改善して 30 歳以上の患者が増えてきている.

### 2. 病型分類と遺伝子解析 (表 3)

病型別では X 連鎖性の *gp91<sup>phox</sup>* 欠損型が 75% を占め最多である. 諸外国に比べ *p47<sup>phox</sup>* 欠損型が 6.0% と少なく, *p22<sup>phox</sup>* 欠損型が 8.7% とやや多いのが特徴である (表 3). 筆者らの施設では CGD 患者の病型判定ならびに *gp91<sup>phox</sup>*, *p22<sup>phox</sup>* 欠損型の遺伝子解析を行っている. このうち現在まで遺伝子解析が終了している *gp91<sup>phox</sup>* 欠損患者は他の日本の施設から報告されているのも合わせると 92 名であった. 国内の *gp91<sup>phox</sup>* 欠損型患者の変異の部位と種

表 3 慢性肉芽腫症の病型分類

Component	Type of CGD	Cyt <i>b<sub>558</sub></i> (%)	O <sub>2</sub> <sup>-</sup> production (%)	Incidence (%)
<i>gp91<sup>phox</sup></i>	X91 <sup>0</sup>	0	0	138 (75.4%)
	X91 <sup>+</sup>	100	0	5 (2.7%)
<i>p22<sup>phox</sup></i>	A22 <sup>0</sup>	0	0	16 (8.7%)
	A22 <sup>+</sup>	100	0	1 (0.5%)
<i>p47<sup>phox</sup></i>	A47 <sup>0</sup>	100	0-1	11 (6.0%)
<i>p67<sup>phox</sup></i>	A67 <sup>0</sup>	100	0-1	12 (6.6%)

## gp91<sup>phox</sup>での変異部位

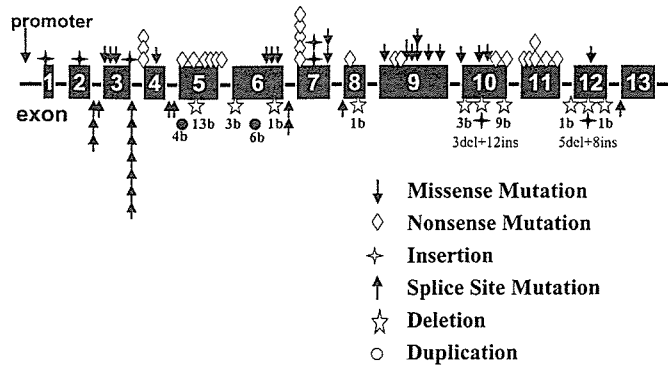


図3 CYBB 遺伝子の変異部位

表4 CYBB 遺伝子解析結果

	家族数	日本患者数	%	EU 諸国 %
Missense	18	21	23%	24%
Nonsense	24	27	29%	24%
Splice site	13	17	18%	18%
Insertion	7	8	9%	9%
Deletion	11+5	11+5	17%	25%
Insetion/Deletion	2	2	2%	—
Promoter	1	1	1%	—
合計 (患者数)	81	92	92	700

(+)として示した数は1 Kb以上の欠失を伴った5症例を示している。

類を図3に、変異の統計を表4に示している。

### 3. 治療

一般的な治療方針は抗生物質、抗真菌剤の投与であり、感染症罹患時の対症療法と、予防投薬とに分けられる。薬剤では不十分な場合、顆粒球輸血が用いられることがある。根治療法には造血幹細胞移植、そして海外で実施された遺伝子治療がある。造血幹細胞移植は肉芽腫を十分に治癒できない症例や、臓器障害などによりこれ以上の薬物治療を続けることが困難な症例などに実施されたため、成績は決して満足できるものではなかったが、最近移植前処置法や管理の進歩、新たな薬剤の登場などにより、成績も良好になってきた。ここでは、基本的な治療法の進歩にも少し触れておきたい。

#### 1) 日常生活管理指導

幼小児から成人までを含めて、安全な日常生活を送るためにはメリハリの効いた日常生活管理指導が必要である。欧米の Web site を参考に 2003 年食細

胞機能異常症研究会によって「日常生活の手引き」が発行された。内容の詳細は、宮崎大学小児科教室ホームページ (<http://www.med.miyazaki-u.ac.jp/pediatrics/index.htm>) を見ていただきたい。その他、慢性肉芽腫症生活日記（主治医との連絡簿?：毎日の体温や調子をまとめたもの）などを書いてもらい、日常生活管理に役立てておられるところもある。

2) 予防内服薬や抗真菌剤の詳細は本稿の趣旨ではないので、説明は他誌に譲る。

#### 3) インターフェロン・ガンマ (IFN-γ)

1991年の二重盲検による欧米多施設共同研究で、IFN-γがCGDの約1/3の患者で重症感染症の発症を抑制できることが報告された。日本でもCGD患者の約3-4割に投与されている。

IFN-γの作用機序は未だ明らかではない。Newburgerらの報告したバリエーション型gp91<sup>phox</sup>欠損患者ではIFN-γ投与によりgp91<sup>phox</sup>mRNAスプライシングが改善するとされている<sup>21,22</sup>。われわれはgp91<sup>phox</sup>遺伝子のexon 3スプライスサイトにサイレント変異(GCGgta→GCAgta)を有する患者でIFN-γが有効な症例を経験した<sup>23</sup>。IFN-γはおそらく、幼弱骨髄球レベルでmRNAスプライスは正に影響しているものと思われる。この症例はIFN-γの有効なNewburgerらの症例に続く世界で第2の症例となった。

この数年このようなスプライシング異常の機構が注目されている。splice変異の解釈の一つに5', 3' splice site, branch pointなどの古典的なイントロン内に存在するスプライスシグナルの他にエキソン内に存在するexonic splicing enhancer (ESE),



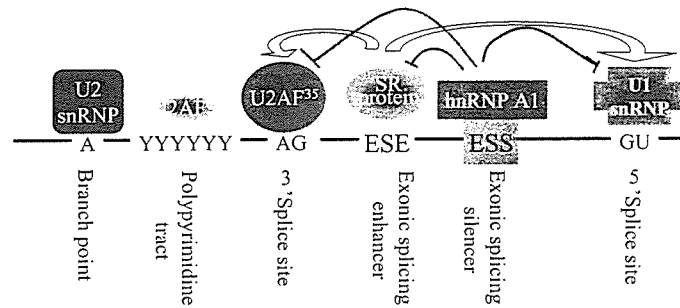


図4 ESE/ESS 依存性スプライスモデルとSR蛋白質の構造

Alternative splicing は各遺伝子上の exonic splicing enhancers (ESE), silencers (ESS), ならびに, intronic splicing enhancers (ISE) and silencers (ISS) と, それらに結合する組織特異的また発達段階特異的に発現するタンパクによりコントロールされている。

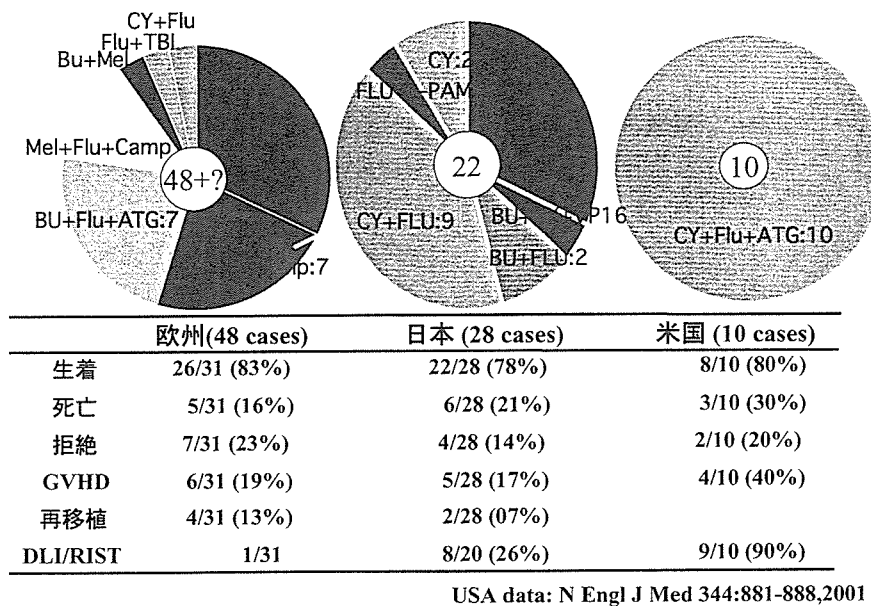


図5 骨移植の前処置とその結果 (諸外国との比較)

exonic splicing silencer (ESS) などが知られてきた (図4)。実際, Missense 変異の 16-20%以上が ESE を破断すると予想されている。変異蛋白の発現実験では機能異常を証明出来ない Missense 変異は ESE を破壊するスプライシング変異であることが多い<sup>24)</sup>と考えられている。また Nonsense 変異についても nonsense-mediated altered splicing などが報告されている<sup>25)</sup>。明らかに IFN- $\gamma$  が臨床的にも有効であった症例についても, このようなスプライス異常の観点からの解析が検討され, 治療につながる知見が得られないかと考えている。

#### 4. 根治療法

##### 1) 造血幹細胞移植

1990年代前半までは HLA 一致血縁者間でも生着率が低く, 骨髄移植もなかなか進まなかった。

最近 is reduced intensity stem cell transplantation (RIST) の導入や, 移植後管理技術の進歩などにより成功率が改善し, 症例数も増加してきた (図5)。

Seeger らは欧州の造血幹細胞移植 27 症例について報告している。その内訳は, ドナーが HLA 一致同胞 25 例, HLA 一致非血縁 2 例, 移植細胞は末梢血幹細胞 3 例で残りは骨髄幹細胞であった。大半は busulfan (BU), cyclophosphamide (CY) を用いたレジメンで前処置され, 27 例中 23 例が生生存し 4 例が死亡した。図5左の円グラフにはその後報告された症例も加えて示している。彼らは移植時点での活動性感染症, 活動性炎症 (大腸炎など) や臓器障害の有無によって 3 グループに分類し, 移植に対するリスクを評価した。その結果, Group 1 (移植時点で活動性感染症を有していた群) は, Group 2 (移植時点で活動性炎症または臓器障害を有してい

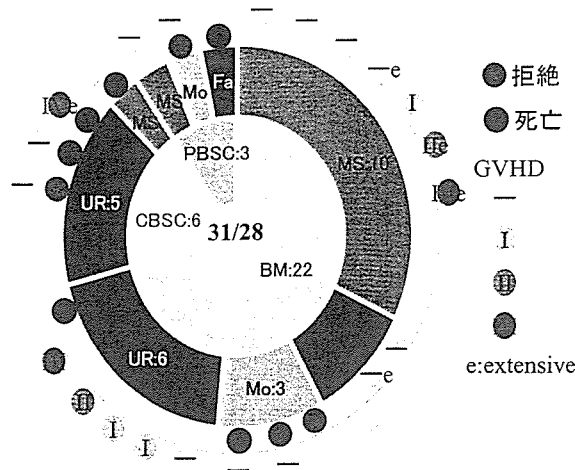


図6 ドナーの違いと移植結果

これまで日本国内で行われた28症例, 31移植の結果を示している。

MS: HLA一致同胞, UR: HLA一致非血縁, hiS: HLA一座不一致同胞, Mo: 母親, Fa: 父親

た群)やGroup 3(移植時点で明らかな活動性感染症や炎症を有しなかった群)に比較して死亡例が4例あり, ハイリスクであったことを示した<sup>26)</sup>。

米国からは, 移植前に複数回の難治性感染症に罹患した10症例に対する骨髄非破壊的末梢血幹細胞移植の結果が報告された<sup>27)</sup>(図5右の円グラフ)。CYとfludarabine(Flu)に抗胸腺細胞グロブリンを加えたレジメンで処置した後に, 移植でHLA一致同胞から採取したT細胞除去済み末梢血幹細胞が移植された。結果としては10例中3例が死亡(IV度急性GVHD1例含む), 1例が拒絶されている。RISTを用いて比較的 safely に移植を実施した点は重要で, その後の移植症例の前処置法選択に影響している。しかし移植後に混合キメラとなることが多い点, 年齢の高い患者で死亡例が多い点などが問題であった。

日本国内ではこれまで食細胞機能異常研究会を通じて28症例31移植(再移植含む)の調査が行われている。ドナー細胞では, HLA一致同胞骨髄とHLA一致非血縁骨髄とでは, ともに成績良好で差はなかった(図6)。臍帯血幹細胞は半数(4例中2例)が死亡されていた。前処置レジメンはBU+CY, CY+Fluとで全体の約7割を占め, 最近ではCY+Fluが主流となっている(図5中央の円グラフ)。

国内症例を Seger らのリスク分類で分けると, Group 1が16例中2例死亡, 1例拒絶で, 他の群より成績不良であった。しかし活動性感染症を抱えていても無事移植できたのは, 多くの症例で, 生着までの期間が短く合併症が少ないCY+Fluが採用

されたことと関係があると思われる。CY+Fluの欠点は移植後に混合キメラ状態が持続し, 徐々にドナー細胞が減少する症例が多く見られることである。この場合 donor lymphocyte infusion (DLI) が施行される場合があるが, DLIも有効例から無効例, その副作用に加療を要したものなど症例差が大きく, その適応は十分検討する必要がある。国内28症例全体の転帰は, 生存22例死亡6例であり, 死因は移植後の感染症が多かった。

造血幹細胞移植はまだ解決すべき問題も多いが, CGDの根治療法としてその有効性は明らかで, 今後症例数が蓄積されるにつれて, さらに安全かつ有効なプロトコール, 管理法, GVHD予防法が見いだされられると思われる。

## 2) 遺伝子治療

造血幹細胞移植の発達は同時に, 幹細胞を用いた遺伝子治療が可能なることも示している。健康保因者の解析から, 正常好中球が全体の5%以上あれば重症感染症を回避できることもわかっており, より安全で効果的な遺伝子治療の開発が望まれていた。

基礎的実験レベルではレトロまたはレンチウイルスベクター(RD114-pseudotyped MFGS-gp91, MSCV-m91Neo, VSV-G-pseudo typed lentivector-gp91phoxなど)が開発され, 遺伝子導入した患者やgp91<sup>phox</sup>ノックアウトマウス造血幹細胞を異種移植して, NADPH oxidase活性の再構築が確認されている。

臨床応用として, 1995年NIHのMalechらは, p47<sup>phox</sup>欠損型CGD患者5名に遺伝子治療を実施し

た。症例により違いはあるが、一度の遺伝子導入で、1ヶ月後頃から活性のある好中球が末梢血中に0.01%程度出現し、1-2ヶ月間持続して消失した<sup>28)</sup>。その後末梢血幹細胞の動員方法および遺伝子導入に retronectin を用いるなどの改良がなされ、1997年には Indiana 大学の Dinauer らが MSCV-h91Neo を用いて<sup>29)</sup>、また 1998年には再び Malech らがレトロウイルスベクター (MFGS-gp91, MFGS-p47) を用いて<sup>30)</sup>、gp91<sup>phox</sup> および p47<sup>phox</sup> 欠損型 CGD 患者に実施したが、最高でも1%以下の改善であった。その後、重症複合型免疫不全 (X-SCID) の遺伝子治療で懸念されていた白血病発生 (1名死亡) という不幸な出来事が Fischer らのグループから報告されたため、遺伝子治療の動きが一時中断していた。

しかし、2000年欧州で CGD 患者の骨髄への前処置を施した遺伝子治療が開始された。まず英国 Institute of Child Health の Thrasher らが gp91<sup>phox</sup> 欠損型 CGD 患者に melpharan による前処置の後、SF71gp91<sup>phox</sup> ベクターを用いた遺伝子治療を行った。一時は正常の約30%の活性を得たが、1年後にはほとんど活性を認めなくなった。しかしこの間に肺肉芽腫症は改善し、患者は現在も健在である (学会発表のみで雑誌報告はない)。2002年にはドイツの Grez らとスイスの Seger らとが BU (8 mg/kg) 前処置で同じベクターを用いて、26歳と25歳の患者に遺伝子治療を実施し、30-40%と10-20%の活性の再構築を達成、約2年にわたってその活性が維持されたと報告した<sup>31)</sup>。骨髄性白血病に関わる MDS/Evi1 と PRDM16 遺伝子近傍へレトロウイルスの挿入されたクローンが多く認められたが、危惧された白血病の報告は現在までない。論文発表後、最初の症例が感染症を死亡しており、メチル化により2年半の経過で挿入遺伝子の不活化起こっていたと報告を受けている<sup>32)</sup>。3例目では四肢麻痺が回復するなど臨床的な効果を示しており、注目されている (学会発表)。今後もより安全な治療法を目指して開発が進められている。

国内でも基礎的には杉本ら<sup>33)</sup>が Ha-MDR-IRES-gp91 ベクターによる遺伝子導入後、タキソールによる *in vivo* selection が可能であることを証明したり、原ら<sup>34)</sup>は retrovirus encoding GcRER ベクター系を用いて、estrogen 刺激による *in vivo* 増殖を報告している。臨床的には欧州の Grez 博士らと協力して、現在倉辻忠俊成育医療センター研究所長を中

心に CGD の遺伝子治療が計画されている。

## 文 献

- 1) Suh, Y. A., Arnold, R. S., Lassegue, B., et al. : Cell transformation by the superoxide-generating oxidase Mox1. *Nature* **401** : 79-82, 1999.
- 2) Banfi, B., Maturana, A., Jaconi, S., et al. : A mammalian H<sup>+</sup> channel generated through alternative splicing of the NADPH oxidase homolog NOH-1. *JOURNAL Science* **287** : 138-142, 2000.
- 3) Kikuchi, H., Hikage, M., Miyashita, H. et al. : NADPH oxidase subunit, gp91 (phox) homologue, preferentially expressed in human colon epithelial cells. *Gene* **254** : 237-243, 2000.
- 4) De Deken, X, Wang, D, Many, M.-C, et al. : Cloning of two human thyroid cDNAs encoding new members of the NADPH oxidase family. *J. Biol. Chem.* **275** : 23227-23233, 2000.
- 5) J. David Lambeth : NOX ENZYMES AND THE BIOLOGY OF REACTIVE OXYGEN. *Nature Reviews Immunology* **4** : 181-189, 2004.
- 6) Takeya R, Ueno N, Kami K, et al. : Novel human homologues of p47phox and p67phox participate in activation of superoxide-producing NADPH oxidases. *J Biol Chem.* **278** : 25234-25246, 2003.
- 7) Cheng G, Lambeth JD. : NOXO1, regulation of lipid binding, localization, and activation of Nox1 by the Phox homology (PX) domain. *J Biol Chem.* **279** : 4737-4742, 2004.
- 8) Ueyama T, Lekstrom K, Tsujibe S, et al. : Sub-cellular localization and function of alternatively spliced Nox1 isoforms. *Free Radic Biol Med.* **42**(2) : 180-190, 2007.
- 9) Ueyama T, Geiszt M, Leto TL. : Involvement of Rac1 in activation of multicomponent Nox1- and Nox3-based NADPH oxidases. *Mol Cell Biol.* **26**(6) : 2160-2174, 2006.
- 10) Miyano K, Ueno N, Takeya R, Sumimoto H. : Direct involvement of the small GTPase Rac in activation of the superoxide-producing NADPH oxidase Nox1. *J Biol Chem.* **281**(31) : 21857-21868, 2006.
- 11) Cheng G, Ritsick D, Lambeth JD. : Nox3 regulation by NOXO1, p47phox, and p67phox. *J Biol Chem.* **279**(33) : 34250-34255, 2004.
- 12) Paffenholz R, Bergstrom RA, Pasutto F, et al. : Vestibular defects in head-tilt mice result from mutations in Nox3, encoding an NADPH oxi-

- dase. *Genes Dev.* **18**(5) : 486–491, 2004.
- 13) Gorin Y, Block K, Hernandez J, Bhandari B, Wagner B, Barnes JL, Abboud HE. : Nox4 NAD(P)H oxidase mediates hypertrophy and fibronectin expression in the diabetic kidney. *J Biol Chem.* **280**(47) : 39616–39626, 2005.
  - 14) Jagnandan D, Church JE, Banfi B, et al. : Novel mechanism of activation of NADPH oxidase 5 (NOX5) : Calcium-sensitization via phosphorylation. *J Biol Chem.* Papers In Press, published online ahead of print December 12, 2006.
  - 15) De Deken, X. ; Wang, D. ; Many, M.-C. ; Costagliola, S. ; Libert, F. ; Vassart, G. ; Dumont, J. E. ; Miot, F. : Cloning of two human thyroid cDNAs encoding new members of the NADPH oxidase family. *J. Biol. Chem.* **275** : 23227–23233, 2000.
  - 16) Corinne Dupuy, Renée Ohayon, Alexander Valent, Marie-Sophie Noël-Hudson, Danielle Déme, and Alain Virion. : Purification of a Novel Flavoprotein Involved in the Thyroid NADPH Oxidase CLONING OF THE PORCINE AND HUMAN cDNAs\* *J Biol Chem,* **274**(52) : 37265–37269, December 24, 1999.
  - 17) Moreno, J. C. ; Bikker, H. ; Kempers, M. J. E. ; van Trotsenburg, A. S. P. ; Baas, F. ; de Vijlder, J. J. M. ; Vulsma, T. ; Ris-Stalpers, C. : Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism. *New Eng. J. Med.* **347** : 95–102, 2002.
  - 18) Grasberger H, Refetoff S. : Identification of the maturation factor for dual oxidase. Evolution of an eukaryotic operon equivalent. *J Biol Chem.* **281**(27) : 18269–18272, 2006.
  - 19) Harper RW, Xu C, Eiserich JP, et al. : Differential regulation of dual NADPH oxidases/peroxidases, Duox1 and Duox2, by Th1 and Th2 cytokines in respiratory tract epithelium. *FEBS Lett.* **579**(21) : 4911–4917, 2005.
  - 20) Li Q, Harraz MM, Zhou W, et al. : Nox2 and Rac1 regulate H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-dependent recruitment of TRAF6 to endosomal interleukin-1 receptor complexes. *Mol Cell Biol.* **26**(1) : 140–154, 2006.
  - 21) Ezekowitz RA, Dianuer MC, Jaffe HS, et al. : Partial correction of the phagocyte defect in patients with X-linked chronic granulomatous disease by subcutaneous interferon gamma. *N Engl J Med.* **319**(3) : 146–151, 1988.
  - 22) Condino-Neto A, Newburger PE. : Interferon-gamma improves splicing efficiency of CYBB gene transcripts in an interferon-responsive variant of chronic granulomatous disease due to a splice site consensus region mutataion. *Blood.* **95**(11) : 3548–3554, 2000.
  - 23) Ishibashi F, Mizukami T, Kanegasaki S, et al. : Improved superoxide generating ability by interferon-gamma due to splicing pattern change of transcripts in neutrophils from patients with a splice site mutation in CYBB gene. *Blood* **98** : 436–441, 2001.
  - 24) Blencowe BJ. : Exonic splicing enhancers : mechanism of action, diversity and role in human genetic diseases. *Trends Biochem, Sci.* **25**(3) : 106–110, 2000.
  - 25) Cartegni L, Chew SL, Krainer AR. : Listening to silence and undstanding nonsense : exonic mutations that affect splicing. *Nat Rev Genet.* **3**(4) : 285–298, 2002.
  - 26) Seger RA, Gungor T, Belohradsky BH, et al. : Treatment of chronic granulomatous disease with myeloablative conditioning and an unmodified hemopoietic allograft : a survey of the European experience. *Blood.* **100**(13) : 4344–4350, 2002.
  - 27) Horwitz ME, Barrett AJ, Brown MR, et al. : Treatment of chronic granulomatous disease with nonmyeloablative conditioning and a T-cell-depleted hematopoietic allograft. *N Engl J Med.* **344**(12) : 881–888, 2001.
  - 28) Sekhsaria S, Gallin JI, Linton GF, et al. : Peripheral blood progenitors as a target for genetic correction of p47phox-deficient chronic granulomatous disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* **90**(16) : 7446–7450, 1993.
  - 29) Ding C, Kume A, Bjorgvinsdottir H, et al. : High-level reconstitution of respiratory burst activity in a human X-linked chronic granulomatous disease (X-CGD) cell line and correction of murine X-CGD bone marrow cells by retroviral-mediated gene transfer of human gp91<sup>phox</sup>. *Blood.* **88**(5) : 1834–1840, 1996.
  - 30) Roesler J, Brenner S, Bukovsky AA, et al. : Third-generation, self-inactivating gp91 (phox) lentivector corrects the oxidase defect in NOD/SCID mouse-repopulating peripheral blood-mobilized CD34+ cells from patients with X-linked chronic granulomatous disease. *Blood.* **100**(13) : 4381–4390, 2002.
  - 31) Ott MG, Schmidt M, Schwarzwaelder K, et al. :

- Correction of X-linked chronic granulomatous disease by gene therapy, augmented by insertional activation of MDS1-EVI1, PRDM16 or SETBP1. *Nat Med.* **12**(4) : 401-409, 2006.
- 32) [No authors listed] One of three successfully treated CGD patients in a Swiss-German gene therapy trial died due to his underlying disease : a position statement from the European Society of Gene Therapy (ESGT). *J Gene Med.* **8**(12) : 1435, 2006.
- 33) Sugimoto Y, Tsukahara S, Sato S, et al. : Drug-selected co-expression of P-glycoprotein and gp91 in vivo from an MDR1-bicistronic retrovirus vector Ha-MDR-IRES-gp91. *J Gene Med.* **5**(5) : 366-376, 2003.
- 34) Hara T, Kume A, Hanazono Y, et al. : Expansion of genetically corrected neutrophils in chronic granulomatous disease mice by cotransferring a therapeutic gene and a selective amplifier gene. *Gene Ther.* **11**(18) : 1370-1377, 2004.

## VIII. 酵素補充療法

## ムコ多糖症 I 型, VI 型

たなかとうじゅ  
田中藤樹おくやまとらゆき  
奥山虎之

国立成育医療センター遺伝診療科

## 要旨

ムコ多糖症の酵素補充療法は、遺伝子組み換え酵素製剤を投与することにより、ライソゾーム内に蓄積しているムコ多糖を加水分解する治療法である。I 型 (Hurler 症候群) 治療薬のラロニダーゼと VI 型 (Maroteaux-Lamy 症候群) 治療薬のガルサルファーゼが欧米で臨床応用されており、週 1 回の点滴静注により肺活量、歩行試験、尿中グリコサミノグリカン、肝脾腫、関節可動域に改善が認められる。

## Key Words

enzyme replacement therapy

mucopolysaccharidosis

Hurler syndrome

Maroteaux-Lamy syndrome

## はじめに

ムコ多糖症 (mucopolysaccharidosis: MPS) は、ムコ多糖を分解するライソゾーム酵素の先天的欠損により、グリコサミノグリカン (GAG) の不完全分解産物が全身に蓄積し、種々の臓器障害を発症する遺伝性疾患である。欠損酵素の種類により七つの病型に分類される。

臨床症状は病型により多少差があるが、ゴーギル様顔貌、難聴、中耳炎、骨の変形、関節拘縮、肝脾腫、閉塞性呼吸障害、無呼吸、心臓弁膜症などを共通に認め、加齢とともに重症化する進行性疾患である。

治療は、個々の症状を緩和するために行われる対症療法と、原因の除去を目的とした根治療法に分けられる。対症療法は T チューブ挿入、アデノイド除去、角膜移植、弁置換術などがある。根治療法には、造血幹細胞移植と酵素補充療法がある。前者では、永続する治療効果が期待できるが、生着不全や移植片対宿主病 (GVHD) などのアログラフトに伴う重篤な副作用により死に至る場合もあり、その適応は限定される<sup>2)3)</sup>。また、遺伝子治療や他の造血系以外の幹細胞移植については、モデル動物を使った実験が多数報告されているが、現在まだ臨床応用には至っていない<sup>4)~6)</sup>。

多くのライソゾーム酵素はマンノース 6 リン

酸 (M6P) 残基をもち、細胞内のゴルジ体と細胞膜表面に存在する M6P 受容体に結合した後、ライソゾームに輸送される。ゴルジ体にある M6P 受容体は、細胞内で新生されたムコ多糖体分解酵素をライソゾーム内に輸送し、細胞膜表面にある M6P 受容体は、細胞外に存在するムコ多糖分解酵素を細胞内に取り込み、さらに、ライソゾーム内に輸送するのに役立つ。酵素補充療法は、この輸送系を利用して、欠損している酵素を製剤として体外から補充することにより、細胞膜表面から細胞内そしてライソゾーム内に欠損酵素を輸送し、ライソゾーム内に蓄積しているムコ多糖の分解を促進する方法である。

ムコ多糖症の酵素補充療法は、2003年にI型治療薬であるラロニダーゼが欧米で承認され、2005年にはVI型治療薬ガルサルファーゼも承認されている。両薬剤とも日本では未だに未承認薬であるが、ラロニダーゼは個人輸入により使用されている。ガルサルファーゼについては日本での承認の目途は立っていない。II型治療薬アイドロサルファターゼは、本年夏に欧米で承認の予定であるが、日本での開発の目途は立っていない。

## ムコ多糖症 I 型

ムコ多糖症 I 型は常染色体劣性遺伝で、 $\alpha$ -L-イブロンダーゼの先天性欠損によりデルマタン硫酸とヘパラン硫酸の蓄積をきたす<sup>1)</sup>。上記の共通症状のほか、精神運動発達遅滞、水頭症、角膜混濁などの症状も出現する。重症型の Hurler 症候群、軽症型の Scheie 症候群、およびその中間にあたる Hurler-Scheie 症候群の 3 病型に分類される。Hurler 症候群は無治療では 10 歳頃までに死亡し、ムコ多糖症の中でも予後不良な疾患である。I 型の国内での患者数は、20 名程度と推定されている。

I 型の治療薬酵素であるラロニダーゼ (商品

名:アルドラザイム<sup>®</sup>) は、チャイニーズハムスター卵巣細胞株で産生されている遺伝子組み換えヒト  $\alpha$ -L-イブロンダーゼで、分子量は約 83,000 である。欧米で 5 歳以上の Hurler-Scheie 症候群を中心に治験が実施後、2003 年に承認されており、現在では世界 27 カ国以上で使用され、治療の第一選択として定着している<sup>7)~9)</sup>。

### 1. 投与方法

1 バイアルは 5 ml で 100 単位/ml (0.58 mg/ml) となっている。投与方法は、まず投与 1 時間前に前投薬として解熱薬と抗ヒスタミン薬を投与し、その後生理食塩水で希釈したラロニダーゼ 100 単位/kg (0.58 mg/kg) を 1 週間に 1 回点滴静注する。投与速度については、初期速度を少量から開始し、15 分ごとに倍増し、計 1 時間たったところで、その速度を維持して残量を点滴し続ける。

### 2. 治療効果

欧米で実施された第 III 相臨床試験の結果、尿中 GAG の減少、肝脾腫の縮小、無呼吸の減少、関節可動域の改善などの効果が認められた<sup>8)</sup>。投与 26 週での努力肺活量は、プラセボ群に比較しラロニダーゼ群では 5.6% 増加し、6 分間歩行試験では同様に 38.1 m 増加した (図 1, 2)。尿中 GAG はプラセボ群で 47.3% の増加に対し、ラロニダーゼ群では 54.1% の減少を認めた (図 3)。肝容積はプラセボ群で 1.3% の増大に対し、ラロニダーゼ群では 18.9% の縮小を認めた。またその他に、重症群においては睡眠時無呼吸および関節可動域に有意な改善を認めた。

有害事象のほとんどは注射関連反応であり、それらは顔面紅潮、発熱、頭痛、発疹などである (表)。重篤な有害事象はほとんどなかった。ラロニダーゼ治療群において、ラロニダーゼに対する IgG 抗体は 91% で認められたが、抗体価と治療効果との間に相関は認められなかった。

角膜混濁、心疾患、骨の変形、成長障害、頭頸部 MRI の変化などに対しては、有意な改善を

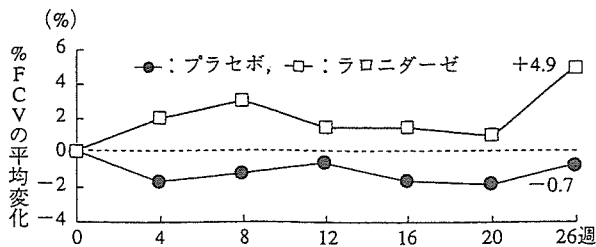


図1 Hurler 症候群における酵素補充療法

文献8) より引用

%FVCのベースライン時から投与週までの変化の平均値

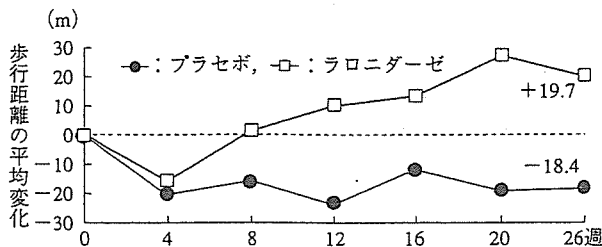


図2 Hurler 症候群における酵素補充療法

文献8) より引用

6分間歩行検査における歩行距離のベースライン時から投与週までの変化の平均値

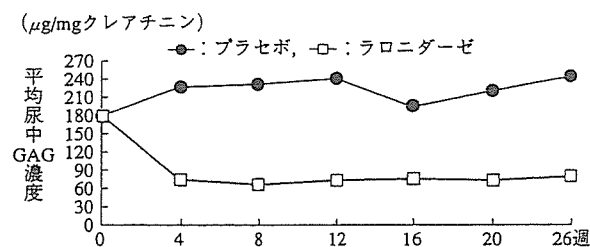


図3 Hurler 症候群における酵素補充療法

文献8) より引用

尿中GAG濃度の推移

認めず、したがってラロニダーゼは診断確定後できるだけ早く投与を開始し、予防的効果を発揮することが重要である。

国内では、International Charitable Access Programによる無償提供で4例にラロニダーゼの投与が行われている。その中で、Hurler-Scheie 症候群の30歳女性において、尿中ウロン酸排泄量の低下、関節可動域の改善、肝容積の縮小、心弁膜症の進行停止、頸部や体幹の安定性の改善がみられ、欧米と同様の効果があることが報告されている<sup>10)</sup>。

自験例でも Hurler 症候群の1歳7カ月男児と2歳1カ月女児の2例において有効性を認めた。

表 ラロニダーゼにおける注射関連反応

文献8) より引用

	ラロニダーゼ n = 22		プラセボ n = 23	
	患者数 (%)	事象数	患者数 (%)	事象数
顔面紅潮	5 (23)	48	4 (17)	47
発熱	1 (5)	1	3 (13)	8
頭痛	2 (9)	4	2 (9)	3
発疹	1 (5)	1	2 (9)	2
背部痛	1 (5)	2	1 (4)	1
発汗過多	1 (5)	1	1 (4)	1
温度感覚変化	1 (5)	2	1 (4)	1
嘔吐	1 (5)	1	1 (4)	1
咳嗽	1 (5)	1	0	0
顔面浮腫	1 (5)	1	0	0
血圧低下	1 (5)	1	0	0
知覚障害	1 (5)	2	0	0
頻脈	1 (5)	1	0	0

乾燥性の皮膚は湿潤となり、また鼻汁、耳漏などが減少して呼吸音が清音となった。また、尿中GAGは第26週までで欧米を上回る78.2%、75.7%の減少率を示した。肝脾腫については、第24週でほぼ正常化し、それにより腹部膨満が消失した。Desaturation indexの減少も1例にみられ、呼吸障害に関しても有効であった。また、2症例とも発達の促進がみられ、適切な対症療法とともにラロニダーゼを投与することにより、全身状態の改善が結果として発達促進につながることが示された。

## ムコ多糖症VI型

ムコ多糖症VI型 (Maroteaux-Lamy 症候群) は、常染色体劣性遺伝で、N-アセチルガラクトサミン-4-サルファターゼ：アリルサルファターゼBの先天性欠損により、デルマトン硫酸とコンドロイチン硫酸の蓄積をきたす<sup>1)</sup>。ムコ多糖症に共通な症状を呈しI型に似ているが、VI型に特徴的なこととして、骨変形や関節拘縮がすでに1歳頃より認められ、また、環軸椎亜脱臼による脊髄圧迫障害のための両側痙性麻痺が報告さ



れている。一般に、精神運動発達遅滞や退行のような中枢神経症状は生じないとされている。国内で確認できている症例は4例である。

VI型の治療薬酵素であるガルサルファーゼ(商品名:ナグラザイム®)は、チャイニーズハムスター卵巣細胞から産生されている遺伝子組み換えヒトアリルサルファターゼBで、分子量は約56,000である。

### 1. 投与方法

1バイアルは5mlで70単位/ml(1mg/ml)となっている。投与方法は、まず投与30~60分前に前投薬として抗ヒスタミン薬を投与する。解熱薬は症例により使用を考慮する。その後生理食塩水に混合したアリルサルファターゼBを70単位/kg(1mg/kg)で点滴静注する。投与速度については、6ml/hから開始し、30分経過後に80ml/hに増量し、残量を点滴し続ける。投与は1週間に1回行う。

### 2. 治療効果

欧米で実施された第Ⅲ相臨床試験の結果、12分間歩行試験、3分間階段上昇試験の改善および尿中GAGの減少が認められた。投与24週での12分間歩行試験は、プラセボ群に比較しガルサルファーゼ群では、92±40m増加し、3分間階段上昇試験でも同様に5.7段/分増加した。また第Ⅰ/Ⅱ相試験において、関節痛、関節拘縮、努力肺活量、肝脾腫にも改善が認められた<sup>11) 12)</sup>。

有害事象のほとんどは注射関連反応であり、それらは発熱、悪寒、頭痛、発疹、じんま疹などである。悪心・嘔吐、血圧上昇、胸骨後面痛、腹痛、倦怠感、関節痛を訴える症例もあった。血管神経浮腫、低血圧、呼吸困難、気管攣縮、呼吸窮迫、無呼吸、じんま疹などの重篤な有害事象を認めた症例もあったが、全例第Ⅲ相試験を終了し、延長試験へも参加した。ガルサルファーゼに対するIgG抗体はほぼ全例で認められたが、抗体価と治療効果との間に相関は認められなかった。

角膜混濁、心疾患、骨密度に対しては有意な改善を認めなかった。しかし、ムコ多糖症VI型モデル動物のネコに、生下時よりガルサルファーゼを投与することにより、骨変形を予防もしくは進行を遅らせることが証明されており、ガルサルファーゼは診断確定後できるだけ早く投与を開始し、予防的効果を発揮することが重要である<sup>13)</sup>。

ガルサルファーゼについては、未承認薬使用問題検討会議の中で海外の臨床試験データに基づいて承認される見通しとなっており、一日でも早い承認が望まれるところである。

## 酵素補充療法の問題点

酵素補充療法の利点は、他の根治療法(造血幹細胞移植や遺伝子治療)に比べて、安全性が高いことである。しかし、血流のない角膜や血液・脳関門のある脳への酵素の移行は少なく、角膜混濁や精神発達遅滞に対する効果は期待できないこと、および週1回の約3時間の点滴による投与を生涯必要とすることなどの問題がある。ムコ多糖症患者のQOLをより高めていくためにも、これらは改善されていかなければならない課題である。

### ●文献

- 1) Neufeld EF et al.: The mucopolysaccharidosis. The metabolic and molecular bases of inherited disease 8th ed., McGraw-Hill, New York, 3421-3452, 2001
- 2) Peters C et al.: Hurler syndrome: II. Outcome of HLA-genotypically identical sibling and HLA-haploidentical related donor bone marrow transplantation in fifty-four children. The Storage Disease Collaborative Study Group. Blood 91:2601-2608, 1998
- 3) Staba SL et al.: Cord-blood transplants from unrelated donors in patients with Hurler's syndrome. N Engl J Med 350:1960-1969, 2004
- 4) Kanaji A, Okuyama T et al.: Improvement of skele-

- tal lesions in mice with mucopolysaccharidosis type VII by neonatal adenoviral gene transfer. *Mol Ther* 8:718-725, 2003
- 5) Kamata Y, Okuyama T et al.: Long-term normalization in the central nervous system, ocular manifestations, and skeletal deformities by a single systemic adenovirus injection into neonatal mice with mucopolysaccharidosis VII. *Gene Ther* 10:406-414, 2003
  - 6) Fukuhara Y, Okuyama T et al.: Histopathological and behavioral improvement of murine mucopolysaccharidosis type VII by intracerebral transplantation of neural stem cells. *Mol Ther* 13 (3): 548-555, 2006
  - 7) Kakkis ED et al.: Enzyme-replacement therapy in mucopolysaccharidosis I. *N Engl J Med* 344:182-188, 2001
  - 8) Wraith JE et al.: Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis I: A randomized, double-blinded, placebo-controlled, multinational study of recombinant human  $\alpha$ -L-iduronidase (Laronidase). *J Pediatr* 144:581-588, 2004
  - 9) 奥山虎之: ムコ多糖症の先端的治療法の開発とその臨床応用. *小児科* 46:2003-2009, 2005
  - 10) 小林博司・他: ムコ多糖症 I 型に対する本邦初の酵素補充療法. *日児誌* 110:521-525, 2006
  - 11) Harnatz P et al.: Enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome). *J Pediatr* 144:574-580, 2004
  - 12) Harnatz P et al.: Direct comparison of measures of endurance, mobility, and joint function during enzyme-replacement therapy of mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy Syndrome): results after 48 weeks in a phase 2 open-label clinical study of recombinant human N-acetylgalactosamine 4-sulfatase. *Pediatrics* 115:681-689, 2005
  - 13) Auclair D et al.: Replacement therapy in mucopolysaccharidosis type VI: advantages of early onset of therapy. *Mol Genet Metab* 78:163-174, 2003

著者連絡先

〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1  
 国立成育医療センター遺伝診療科  
 田中藤樹



## エビデンスに基づいた 患者中心の医療面接

ロバート C スミス 著

札幌医科大学医学部地域医療総合医学講座教授 山本和利 監訳

● B5判 352頁・定価 5,040円 (本体 4,800円) 税 5% ISBN4-7878-1298-X

● 医療面接は傾聴だけではない完結しない。根拠に基づいた患者中心の面接の構築を、患者さんとの実際のやりとりに沿ってやさしく解説。医療・看護・保健にかかわるすべての人に。



診断と治療社

〒100-0014 東京都千代田区永田町2-14-2 山王グランドビル4F

電話 03(3580)2770 FAX 03(3580)2776

http://www.shindan.co.jp/ E-mail: eigyobu@shindan.co.jp

新 2004.3.29

厚生労働科学研究費補助金 子ども家庭総合研究事業

難治性先天異常症の克服に向けた  
包括的遺伝子医療体制の確立に関する研究

平成18年度 総括研究報告書

発行日 平成19年4月10日  
発行者 倉辻 忠俊  
〒157-8535 東京都世田谷区大蔵2丁目10-1  
国立成育医療センター研究所 ☎ (03) 3416-0181  
製 作 株式会社メチカルフレンド社