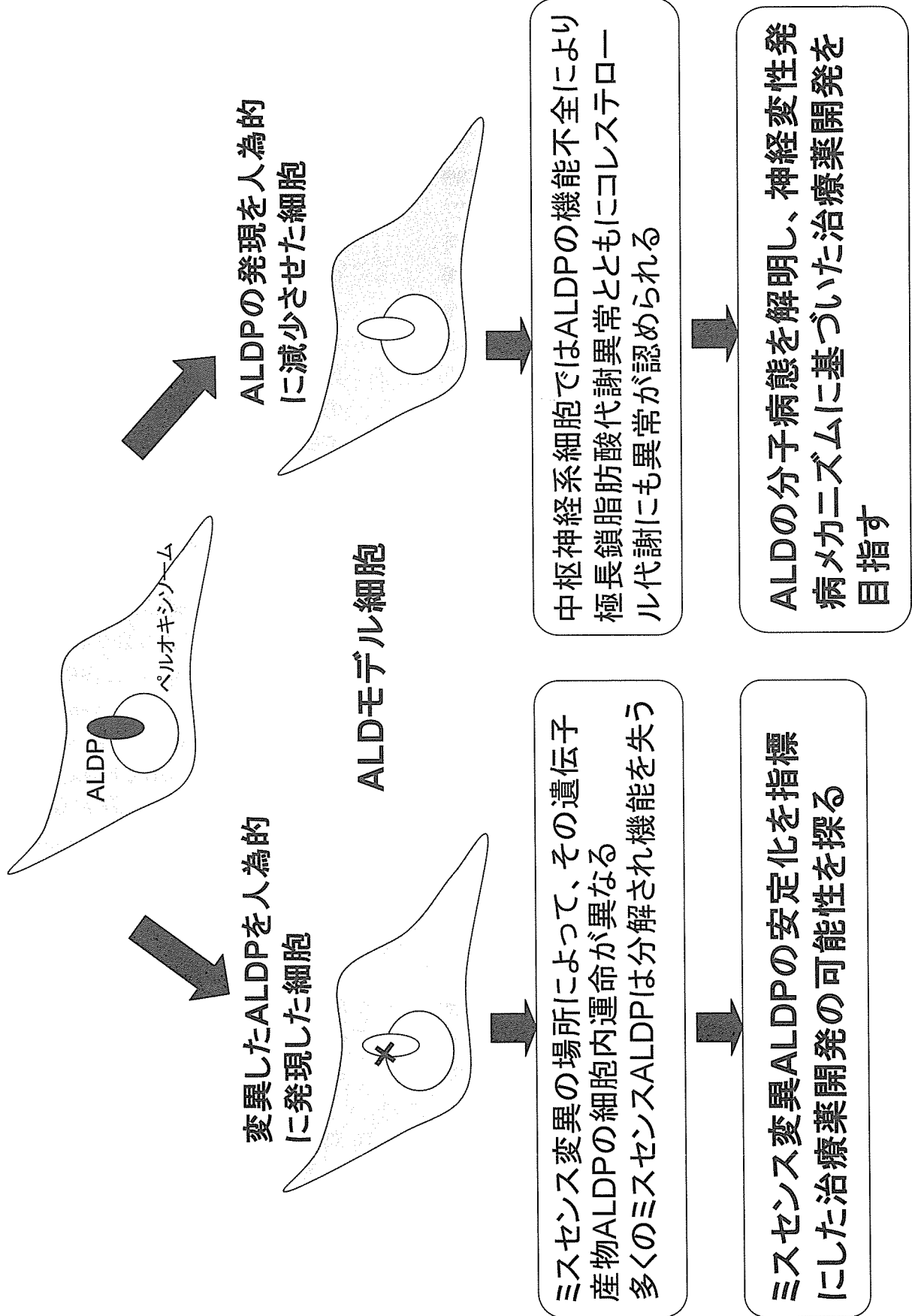


ALDモデル細胞の作製と治療薬開発



ハイスループット ALD 遺伝子診断システムの稼働状況

分担研究者	辻 省次	東京大学医学部神経内科
研究協力者	後藤 順	東京大学医学部神経内科
	高橋 祐二	東京大学医学部神経内科
	松川 敬志	東京大学医学部神経内科

研究要旨

DNA マイクロアレイを応用したハイスループット遺伝子診断システムを構築し ALD の原因遺伝子 ABCD1 及び関連遺伝子 ABCD2 を解析した。対象は、変異未同定の 11 例及び ABCD1 の既知変異が同定された 20 例であった。11 例全てにおいて変異を同定し、うち 5 例は新規変異(4 種類)を有した。そのうち一例は、高齢で大脳型に移行した臨床病型を呈し、特徴的な画像所見を認めた。また ABCD2 において新規多型を 2 個認めた。うち 1 個はアミノ酸の変化を伴っていた。これらの多型を有する症例はいずれも大脳型の臨床病型を呈していた。本システムは ALD の遺伝子診断に極めて有用であり、また臨床像に関連する多型を同定する可能性があると考えられた。

A. 研究目的

副腎白質ジストロフィー(ALD)は極長鎖脂肪酸分析により診断可能であるが、遺伝カウンセリングなどにおいて、遺伝子診断が必要である。一方、ALD においては遺伝子表現型連関が認められず、同一家系内でも表現型が異なることが知られているが、ALD の表現型を修飾する因子は同定されていない。このような背景に基づき、我々は DNA マイクロアレイを応用したハイスループット遺伝子診断システムを構築し、ALD の原因遺伝子及び関連遺伝子の解析を行っている。研究目的としては(1)ABCD1 の変異解析により、非典型例の診断確定、遺伝カウンセリングにおけるヘテロ接合者の診断、ドナー候補の診断などを行い、臨床に貢献する。(2)ABCD2 の resequencing により ABCD2 の新規多型を同定し、ALD の表現型との関連を検討する。

B. 研究方法

1. 偽遺伝子の配列を考慮して、ABCD1 特異的な

プライマーをデザイン。2. ABCD1 及び ABCD2 の全エクソンを PCR にて増幅。3. DNA マイクロアレイによる遺伝子解析システムを用いて塩基配列を決定。4. 得られた変異及び多型に関しては直接塩基配列決定法にて確認する。対象は、臨床的に ALD が疑われた 11 例及び ABCD1 の既知変異を有する 20 例。

(倫理面への配慮)

本研究は東京大学医学部における倫理委員会において承認された形で行った。ゲノムサンプルに関しては、文書で同意を得た形で研究に使用し、サンプルの匿名化を行いプライバシーに配慮した。

C. 研究結果

変異未同定の ALD 12 例全例において ABCD1 変異を同定した。11 例中 5 例において、4 種類の新規変異が認められた。サンプル取得から結論を出すまでに要する期間は 1 週間～2ヶ月であった。原

因遺伝子変異を同定することにより、遺伝カウンセリングにおける保因者診断や、ドナー候補選定に有用な情報が得られた。さらに、高齢で cerebral formに移行したALDの遺伝子診断を行った。本症例は、両側前頭葉に T1 低信号、T2 高信号、辺縁が造影される対称性の白質病変を呈したのが特徴的であった。一方、*ABCD2* において新規 nonsynonymous SNP を 2 個同定した。1 SNP は nonsynonymous SNP (A9G) であり、もう一つは 5' UTR に存在していた。これらの SNP を有する 4 例はいずれも大脳型の臨床像を呈していた。

D. 考察

従来の RT-PCR を用いた方法と異なり、本方法は迅速な遺伝子診断に適した方法である。臨床において *ABCD1* 遺伝子変異の同定はニーズが高いことが示され、本システムが臨床において重要な役割を果たしうることが示唆される。

一方、*ABCD2* の解析により 2 つの新規 SNP を同定しており、*resequencing* が新規多型を同定する極めて強力な手法であることが示された。今後疾患の病態に関連しうる遺伝子の網羅的な *resequencing* により、表現型に影響を与える遺伝的因子を同定しうる可能性が考えられた。

E. 結論

本システムにより容易に ALD の遺伝子診断が可能であり、臨床において有用であった。新規に同定した *ABCD2* の多型と臨床像との関連についてはさらに多数例の解析が必要であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

G. 知的財産権の出願・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

小児大脳型副腎白質ジストロフィーの超早期発症診断に
関する研究:視覚系心理検査および視覚系誘発電位の有用性

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 知的障害部 部長

研究要旨:

小児大脳型 ALD の視覚系神経心理検査および視覚誘発電位(VEP)を検討した。頭部 MRI 上後頭部に病変が優位の群では、Wechsler 系知能検査の PIQ が VIQ よりも低いこと、K-ABC の同時処理尺度得点が継次処理尺度得点よりも低いことが特徴であった。閃光刺激 VEP では潜時延長例が多く、振幅は一定の傾向を示さなかった。一方、無症状で見いだされた 5 例の心理検査の特徴は後頭病変優位型と同様の PIQ が VIQ の乖離所見であった。そして、乖離の程度が強い症例では、Frostig 視知覚発達検査、Raven 色彩マトリクス等、他の視覚認知機能検査の異常を複数伴っていた。また閃光刺激およびパターンリバーサル VEP の P100 波形はむしろ明瞭で、振幅の異常高値がみられた。これらの心理学的・生理学的所見は大脳型 ALD 発症の極早期の兆候を捉えている可能性がある。

A. 研究目的

小児大脳型副腎白質ジストロフィー(adrenoleukodystrophy: ALD)の大半は後頭葉白質に病変が初発し、視覚障害や知的退行、行動変化で臨床的に気づかれることが多い(Suzuki Y et al., Brain Dev, 2001, 2005)。ひとたび発症すると急速に神経症状が進行し、無治療の場合数年で植物状態から死に至ることもある。発症早期の造血幹細胞移植により進行の停止が得られるとされ(Moser et al., Neuropediatrics, 2000)、本邦でも 2001 年から ALD 研究班が組織され、積極的な治療法が薦められている(厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 運動失調に関する調査及び病態機序に関する研究班 平成 14～16 年度総合研究報告書)。

本疾患は遺伝子型が判明しても臨床病型

や経過を予測することができない。したがって移植療法の有効性を高めるためには、発症の有無を早期に見極める必要がある。分担研究者らは、小児大脳型 ALD の比較的早期には両耳分離聴能検査異常が出現すると報告(白根聖子ら 脳と発達 2004 年)してきたが、その多くは大脳白質や脳梁膨大部などに MRI 異常を持つ症例であった。そこで本研究では、臨床的および画像上無徴候と考えられた症例と明らかな小児大脳型 ALD 例について神経心理学的検査と視覚誘発電位検査を施行し、比較検討した。その結果、ALD の視覚系認知機能に「潜在性徴候」を反映する手がかりが得られると思われたので報告する。

B. 研究方法

対象は、厚生労働省難治性疾患克服研究

事業「運動失調に関する調査研究班」ALD プロジェクト(リーダー:岐阜大学医学部医学教育開発研究センター 鈴木康之教授)を通じて、2001年1月から2006年10月に国立精神・神経センター武蔵病院小児神経科を受診した男児18名で、いずれも幹細胞移植療法前の症例であった(表1)。

初診時に、臨床症状および頭部MRI所見から小児大脳型ALD既発症と診断された男児は18例中13例で、うち10例が後頭部優位型(以下O型、検査時年齢;3歳4ヶ月~11歳10ヶ月)、3例が前頭部優位型(F型、10歳1ヶ月~11歳1ヶ月)であり、5例は知的運動退行や視覚症状がみられず、臨床的に無症状と考えられた(A型、4歳~12歳11ヶ月)。

O型10例中9例は、5歳11ヶ月から9歳11ヶ月に発症し、初発症状は斜視あるいは視覚障害が4例、性格・行動変化が2例、頭部MRI異常のみが2例、聴力障害と学力低下が1例であった。残る1例はALD遺伝子と隣接遺伝子(PLXNB3)の欠失があり、2歳10ヶ月時にてんかん発作を生じた(Matsumoto T, Am J Med Genetics 2005)。F型はいずれも小学校3年生以降に注意障害が出現した。うち2例は、幼児期よりAddison病としてフォローされていたが、神経症状発現からALDの診断までに2年を要した。A型の5例は家系内に小児大脳型ALD発症者がいるため(n=3)、あるいはAddison病の原因検索の一環として(n=2)、血清極長鎖脂肪酸(VLCFA)高値が判明した(C24:0/C22:0が1.539-1.636;正常域0.628-0.977、C25:0/C22:0が0.048-0.088;0.012-0.023、C26:0/C22:0が0.017-0.034;0.003-0.006)症例であった。なお5例中1例は乳児期から軽度の精神運動発達遅滞があったものの、明らかな退行は確認できなかった。

また2例に皮膚色素沈着あるいは易疲労性といった副腎不全症状が確認された。頭部MRI検査は18例全例に行われ、Loes score(Loes DJ, et al., Am J Neuroradiol 1994)はO型、F型ともに高値を呈し異常であったが、A型は正常範囲にあった。

神経心理検査は、知的機能検査としてWechsler系知能検査(WPPSIあるいはWISC-III)を主に行い、一部にはK-ABCも加えた。視覚系心理検査としてFrostig視知覚発達検査、Raven色彩マトリシス(RCPM)、Reyの複雑図形模写の課題を行った。Wechsler系知能検査、K-ABC、Frostig視知覚発達検査は、各々標準化された基準を用い、RCPMとReyの複雑図形は年齢別の標準値(宇野彰ら音声言語医学2005年、服部淳子ら愛知県立看護大学紀要2000年)を用いてSD値を算出し、比較評価した。A型の5例には両耳分離聴能検査(白根聖子ら脳と発達2004年)もを行い、側性指数(laterality index)を求めた。

視覚系の神経生理学的検査は日本光電社製誘発電位検査装置(MEB-5500またはMEB-9100)を用いて、閃光刺激視覚誘発電位(F-VEP)を実施した。以前報告した方法(Yamanouchi H et al., Pediatr Neurol 1993)、すなわち刺激強度0.6Jのストロボ光を頻度1Hzで覚醒時仰臥位の被検者の眼前30cmから提示し、国際10-20法によるOz、O1、O2を関電極、両耳朶連結を不関電極(いずれも抵抗5kΩ以下)として脳波を記録した。フィルターはhigh-cut 200Hz、low-cut 1Hz、分析時間は300msあるいは500msとし、100回刺激分の脳波を加算平均し、最低2回行い、再現性を確認した。なお、A型の3例には誘発電位検査装置(MEB-2200)を用いて、図形反転刺激による視覚誘発電位(PR-VEP)も施行した。

用いた刺激は視角 20 分の白黒の格子模様で頻度 10 rev/sec および 3 rev/sec、平均輝度は 80 cd/m²、コントラストは 80%の条件で、左右単眼ずつ全視野刺激を行った。脳波は Oz に関電極、片耳朶に不関電極を置いて記録した。それ以外の条件は F-VEP と同様とした。F-VEP、PR-VEP とともに P100 潜時と N75-P100 ピーク間の振幅を測定し、年齢群別の標準値 (Yamanouchi H et al., *Pediatr Neurol* 1993、Aso Ket al., *Brain Dev* 1988) と比較し、± 2.5SD 以上の場合、異常と判断した。

統計学的解析は、Stat View ver5 (Abacus Co., USA) を用いて、ANOVA、Wilcoxon 検定あるいは Mann Whitney U 検定を行い、p 値が 0.05 以下を有意と判断した。なお、保護者を含めた全員に上記の心理検査、誘発電位検査について説明し、同意を得た。

倫理面への配慮

本研究の実施にあたっては、被検者本人および保護者へあらかじめ研究の意義と方法について十分に説明をおこない、保護者と本人から同意を得た。

C. 結果

1. 神経心理学的検査

a. 知的機能

O 型は 10 例中 8 例で Wechsler 系知能検査が可能であった (図 1)。いずれも動作性知能指数 (PIQ) が言語性知能指数 (VIQ) を下回り、有意差がみられた (平均±標準偏差はそれぞれ 59.7±21.4、81.4±18.2、 $p=0.012$)。各人の VIQ-PIQ 差は 7~66 (20.4±20.7) で、5 例は 25 以上の乖離を示した。PIQ の下位項目間に明らかな違いはみられなかった。また 2 例では K-ABC も行えて、継次処理尺度がほぼ正常

(82、100) なものの同時処理尺度は 1 例で明らかに低下 (47、86) していた。すなわち知能検査上、視覚情報処理に関わる得点が聴覚性のものに比べて著しく低いという特徴がみられた。

F 型 3 名の WISC-III の FIQ は低く (45~68)、軽度精神遅滞域にあった (図 1)。PIQ と VIQ にはほとんど差がみられず (54.0±11.8; 64.3±10.1)、K-ABC の同時処理尺度 (61~73) と継次処理尺度 (58~78) もほぼ同じ値であった。一方、A 型は発達遅滞がみられた 1 例 (FIQ=62) を除いて、ほぼ正常域知能 (FIQ=78~124) と判断されたが、5 例中 4 例で PIQ が VIQ よりも低いパターンがみられた (図 1)。うち 3 例では 13 以上の乖離を認めた。下位項目では、「絵画完成」課題と「積木模様」課題の評価点が比較的低下だった (それぞれ 8.8±4.9、7.3±4.6)。K-ABC でも同じ 4 例は同時処理尺度の標準得点 (98.0±33.4) が継次処理尺度得点 (112.0±14.8) よりも低かった。

b. 視覚系心理検査

O 型は Frostig 視知覚発達検査の知覚指数 (PQ) は明らかに低下 (54~68) しており、F 型も視知覚発達年齢が低下していた。とくに「形の恒常性」の項目での成績が低かった (図 2)。A 型の 4 名では PQ が軽度低下しており、「形の恒常性」が同様に低いパターンを示した。RCPPM でも O 型 (n=5)、F 型 (n=3) に異常が目立ち前者の方がより強かった (SD 値; -3.2±1.9、-1.9±2.5、図 3)。一方、Rey の複雑図形模写は O 型では、評価できた 5 例中 4 例が -2.5SD 以下の低成績であったものの、F 型 (n=3)、A 型 (n=4) とともにほぼ正常であった (図 4)。なお、A 型の両耳分離聴能検査の L.I. は 3 例で左耳消去現象がみられた。

2. 視覚誘発電位

F-VEP は 18 例全例に施行できた。O 型では N75-P100 間振幅に比べて P100 頂点潜時の異常が目立ち、+2.5SD を越える延長例が 5 名 (50%) いた (図 5、6)。一方、F 型は P100 潜時に遅延傾向 (+1.8~+3.0SD) がみられたが、振幅は一定の傾向を示さなかった。A 型では潜時異常はほとんどないものの、P100 振幅の異常な増大を 5 例中 4 例 (75%) に認めた。高振幅の程度は +2.9SD から +13.6SD と様々であり、片側に偏った異常を示す例もあった。PR-VEP も記録できた A 型 3 例でも、P100 高振幅 (+2.5SD 以上) が確認された (図 6)。

D. 考察

今回の心理学的検討によって明らかとなった知能検査のパターン、すなわち PIQ < VIQ パターンは ALD 症例、とくに後頭部優位型ではよく知られる所見である (Shapiro et al., Lancet 2000)。そして、前頭部優位型 3 例で全般的な知能が低かった点は、神経症状発現後、診断に到るまでに、後頭優位型よりも長期間がかかっているため、病期が進行したことが考えられる。無症状例の心理学的所見の特徴は、全般的な知的機能に異常はないものの、Wechsler 系知能検査で PIQ が VIQ より低いこと、K-ABC で同時処理尺度が継次処理尺度よりも低いという点であり、これらは後頭部優位型と同じパターンであった。そして、乖離の程度の強い症例では他の複数の視覚系心理検査での異常を伴い、VEP 高振幅の程度が強かった。

Coxsらは、臨床的神経症状および頭部 MRI 異常を伴わない ALD 男児 52 例に神経心理学

的評価を行い、48 例で全般的認知プロフィールが正常であることを示し、発症前男児の神経発達 は正常であると結論づけている (Cox CS et al., Arch Neurol 2006)。今回の無症状例のうち 4 例の神経発達は元々正常であったと思われ、臨床的神経症状や頭部 MRI 異常所見が出現する以前の段階において、視覚認知機能検査によって潜在的な徴候をとらえられた可能性がある。なお、PIQ および同時処理尺度の評価点が低値でなかった 1 例は、明らかな VEP 高振幅や視覚系認知機能検査異常を認めず、両耳分離能検査における左耳消去現象が確認されていることから、後頭葉ではなく側頭葉から病変が出現しはじめている可能性もあろう。

小児大脳型 ALD は、不注意や落ち着きのなさなどの AD/HD 類似の行動上の問題で発症する例も多い (Suzuki Y et al., Brain Dev, 2001 and 2005)。学校や家庭における日常生活の場面で注意力の問題が生じている例はなかったが、Frostig 視覚発達検査の「形の恒常性」は視覚的注意力の低下も鋭敏に評価できる項目と考えられた。また、この視覚的注意力の低下が、他の視覚系心理検査の結果に影響を及ぼしている可能性も考えられた。

無症状の 5 例中 3 例に閃光刺激 VEP とパターンリバーサル VEP の P100 高振幅を明らかに認めた。小児大脳型 ALD 既発症例の VEP の自然歴として、P100 潜時の延長、その後の低振幅化と波形消失が報告されている (Inagaki et al., Clin Neurophysiol. 2006)。しかしながら頭部 MRI 異常出現前の ALD について VEP を検討した報告はみあたらない。したがって無症状例の結果から、明らかな視覚症状や P100 潜時の延長が出現する以前の段階で、

P100 高振幅を示すことがあるのかもしれない。VEP の振幅は、光過敏性てんかんや進行性ミオクローヌステんかんで高振幅化することが知られており、その機序として皮質の過敏性亢進や抑制の減少、皮質下の伝導の促進が推定されている (Faught E, et al., *Electroenceph clin Neurophysiol* 1984)。ALD の病態は、免疫学的機序による炎症性脱髄や VLCFA 蓄積による神経細胞膜の不安定性が考えられており (Schaumburg HH, et al., *Arch Neurol*.1975、Ito M, et al., *J Neuropathol Exp Neurol* 2001)、発症初期に皮質機能異常が生じる可能性は少なく、白質の異常に伴う何らかの異常機転が VEP 振幅をもたらしたのかもしれない。

小児大脳型 ALD は、造血幹細胞移植により、症状や検査所見の進行停止あるいは改善が得られる (Aubourg P, et al., *New Eng. J Med.* 1990、Perters C, et al., *Blood* 2004、Perters C, et al., *Bone Marrow Transplant.* 2003)。移植後の生命予後、神経学的予後は、移植前の病像を大きく反映し、PIQ 80 以上、MRI Loes score 10 点未満の状態で行った例では良好な予後が期待できるが、進行例では効果が乏しいことから発症早期の移植が推奨されている。しかし、リスクを伴う治療法であること、大脳型以外の病型での有効性が確認されていないことなどから、大脳型を発症していることが頭部 MRI 上確実であることも、適応の要件とされている。本邦では、移植を決断してから治療開始までに時間を要するため病状が進行し、予後に影響することが問題となっている。今回、頭部 MRI 異常の出現より早期に、心理検査異常や電気生理学的異常の方が早く出現する可能性が示された。以上のことから、ALD に対してより早期に発症の兆候をとらえ、

より早期に幹細胞移植の準備を進め、良好な予後につなげるためには神経心理検査と神経生理検査を組み合わせることで評価を行い、それらの所見を詳細にフォローすることが重要であると考えられる。

E. 結論

ALD のより早期の兆候をとらえ、より早期の幹細胞移植、そして良好な予後につなげるためには、神経心理検査と神経生理検査を組み合わせることで評価を行い、それらの所見を詳細にフォローすることが重要であると考えられる。

謝辞

ALD 症例をご紹介いただいた加藤俊一先生、矢部普正先生 (東海大学基盤診療学系再生医療科学)、高橋郁子先生 (秋田大学医学部小児科)、赤坂紀幸先生 (西新潟中央病院小児科)、MRI 所見についてご教示いただきました小野寺理先生 (新潟大学脳研究所附属生命科学リソース研究センター) に深謝いたします。

参考文献

1. Suzuki Y, Imamura A, Shimozawa N, Kondo N. The clinical course of childhood and adolescent adrenoleukodystrophy before and after lorenzo's oil. *Brain and Dev* 2001; 23: 30-3.
2. Suzuki Y, Takemoto Y, Shimozawa N, et al. Natural history of X-linked adrenoleukodystrophy in Japan. *Brain and Dev* 2005; 24: 353-7.
3. Moser HW, Loes D J, Melhem ER, et al., X-Linked Adrenoleukodystrophy: Overview and prognosis as a function of age and brain magnetic resonance imaging abnormality. A

- study involving 372 Patients. *Neuropediatrics* 2000; 31: 227-39.
4. 厚労科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 運動失調に関する調査及び病態機序に関する研究班 平成 14~16 年度総合研究報告書(主任研究者 東京大学医学部教授 辻省次)
 5. 白根聖子、稲垣真澄、堀口寿広、中村雅子、佐々木匡子、加我牧子: 副腎白質ジストロフィー一症における両耳分離聴能検査(Dichotic Listening Test)異常 脳と発達 2004; 36: 311-7.
 6. Matsumoto T, Miyake N, Watanabe Y, Yamanaka G, Oana S, Ogiwara M, Hoshika A, Sasaki N, Miyahara H, Niikawa N. X-linked adrenoleukodystrophy with partial deletion of ALD due to fusion with the neighbor gene, PLXNB3. *Am J Med Genet A*. 2005; 138: 300-2.
 7. Loes DJ, Hite S, Moser H. et al. Adrenoleukodystrophy: A scoring Method for Brain MR Observations. *AJNR Am J Neuroradiol* 1994; 15: 1761-6.
 8. 宇野彰、新家尚子、春原則子、金子真人. 健常児におけるレーヴン色彩マトリックス検査～学習障害児や小児失語症児のスクリーニングのために～. *音声言語医学* 2005; 46: 185-9.
 9. 服部淳子、加藤義信、山口桂子、水野貴子、中村菜穂. 日本の小学生の視覚認知能力の発達評価に対する Rey-Osterrieth Complex Figure Test の妥当性について. *愛知県立看護大学紀要* 2000; 6: 19-25.
 10. Yamanouchi H, Kaga M, Arima M. Abnormal cortical excitability in Rett syndrome. *Pediatr Neurol* 1993; 9: 202-6.
 11. Aso K, Watanabe K, Negoro T, et al. Developmental changes of pattern reversal visual evoked potentials. *Brain Dev* 1988; 10: 154-9
 12. Shapiro E, Krivit W, Lockman L et al. Long-term effect of bone-marrow transplantation for childhood-onset cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *Lancet* 2000; 356: 713-8.
 13. Cox CS, Dubey P, Raymond GV, Mahmood A, Moser AB, Moser HW. Cognitive evaluation of neurologically asymptomatic boys with x-linked adrenoleukodystrophy. *Arch Neurol*.2006; 63: 69-73.
 14. Inagaki M, Kaga Y, Kaga M, Nihei K. Multimodal evoked potentials in patients with pediatric leukodystrophy. *Clin Neurophysiol*. 2006; 59 Suppl: 251-63.
 15. Faught E, Lee SI. Pattern-reversal visual evoked potentials in photosensitive epilepsy. *Electroenceph clin Neurophysiol* 1984; 59: 125-33.
 16. Schaumburg HH, Powers JM, Raine CS, et al. Adrenoleukodystrophy. A clinical and patholodycal study of 17 cases. *Arch Neurol*.1975; 32: 577-91.
 17. Ito M, Blumberg BM, Mock DJ, et al. Potential environment and host participants in the early white matter lesion of adreno-leukodystrophy: morphologic evidence for CD8 cytotoxic T cells, cytolysis of oligodendrocytes, and CD1-mediated lipid antigen presentation. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001; 60: 1004-19.
 18. Aubourg P, Blanche S, Jambaque I, Rocchiccioli F, Kalifa G, Naud-Saudreau C, Rolland MO, Debre M, Chaussain JL, Griscelli

C, et al. Reversal of early neurologic and neuroradiologic manifestations of X-linked adrenoleukodystrophy by bone marrow transplantation. *New Eng. J Med* 1990; 322: 1860-6.

19. Perters C, Chamas LR, Tan Y et al. Cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: the international hematopoietic cell transplantation experience from 1982 to 1999. *Blood* 2004; 104: 881-8.

20. Perters C, Steward CG. National marrow Donor Program; International Bone Marrow Transplant Registry; Working Party on Inborn Errors, European Bone Marrow Transplant Group. Hematopoietic cell transplantation for inherited metabolic diseases: an overview of outcomes and practice guidelines. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31: 229-39.

F. 研究発表

論文発表

1) Inagaki M, Kaga Y, Kaga M, Nihei K. Multimodal evoked potentials in patients with pediatric leukodystrophy. *Clin Neurophysiol.* 2006; 59 Suppl: 251-63.

学会発表

1) 井上祐紀, 小久保奈緒美, 軍司敦子, 稲垣真澄, 加我牧子: 「もぐら一ず」検査を指標とした ADHD 児の注意機能評価 第 109 回日本小児科学会学術集会 金沢 平成 18 年 4 月 21 日

2) 稲垣真澄, 井上祐紀, 小久保奈緒美, 石黒秋生, 加我牧子: 視覚性オドボール課題における N200-P300 複合の検討: AD/HD と

健常群の比較 第 109 回日本小児科学会学術集会 金沢 平成 18 年 4 月 22 日

3) 井上祐紀, 稲垣真澄, 軍司敦子, 小久保奈緒美, 加我牧子: ADHD 児の NoGo 電位の解析 第 48 回日本小児神経学会 浦安 平成 18 年 6 月 1 日

4) Kaga M, Inoue Y, Kokubo N, Ishiguro A, Inagaki M: Analysis of N200-P300 complex in visual oddball paradigm: Amplitude difference between ADHD and normal control. 10th International Child Neurology Congress, Montreal, June 11-16, 2006.

5) Kaga M, Inagaki M, Suzuki S, Gunji A, Inoue Y, Ishiguro A: Evoked potentials (EP) in patients with frontal and occipital type of childhood adrenoleukodystrophy (ALD). The XXVIIIth International Congress of Clinical Neurophysiology, Edinburgh, UK September 10-14, 2006

6) 井上祐紀, 軍司敦子, 稲垣真澄, 加我牧子: 新規 CPT による AD/HD 児の注意および反応抑制機能の評価 第 47 回日本児童青年精神医学会総会 千葉 平成 18 年 10 月 20 日

7) 古島わかな, 稲垣真澄, 加我牧子, 鈴木康之: 副腎機能不全が先行した副腎白質ジストロフィーの 4 小児例 第 110 回日本小児科学会学術集会 京都 平成 19 年 4 月 22 日

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

研究協力者

稲垣真澄、古島わかな、軍司敦子、井上祐紀、

藤田英樹：国立精神・神経センター 精神保健
研究所 知的障害部

山崎広子：国立精神・神経センター 国府台病
院 眼科

中村雅子：東京大学医学部附属病院 耳鼻咽
喉科

図の説明

図 1 Wechsler 系知能検査

一例毎に VIQ と PIQ を線で表示した。O 型、
F 型ともに VIQ > PIQ のパターンを認め、とくに
O 型では VIQ と PIQ の乖離が目立った。A 型
の 5 例中 4 例でも同様の傾向を示した。

図 2 Frostig 視知覚発達検査

各型における 5 課題 (I: 視覚と運動の協応、
II: 図形と素地、III: 形の恒常性、IV: 空間にお
ける位置、V: 空間関係) の知覚年齢を示す。F
型、O 型ともに、形の恒常性課題での低成績
が目立った。

図 3 Raven 色彩マトリクス (RCPM)

RCPM の合計得点の SD 値を示す。F 型、O
型ともに -2SD 以下であり、とくに O 型で低か
った。

図 4 Rey の複雑図形

模写得点の SD 値を示す。O 型は -2.5SD
以下の低成績であったが、F 型、A 型はほぼ
正常であった。

図 5 閃光刺激視覚誘発電位潜時と振幅

F 型では P100 潜時に延長傾向が、O 型の
半数に潜時の延長を認めた。A 型では、潜時
はほぼ正常で、著明な高振幅を認める例が多
かった。

図 6 視覚誘発電位

a)-c) は各々、F 型、O 型、A 型の代表的な
閃光刺激 VEP 波形を示す。F 型、O 型各例は
潜時の延長 (+2.8SD、+3.2SD) と低振幅傾
向 (-1.3SD、-1.4SD) を認めた (a、b)。A 型
では P100 潜時は正常 (+0.4SD) なものの、著
明な高振幅 (65 μ V, +10SD) を示した (c)。

また A 型 3 例の PR-VEP 波形では
Steady-state VEP (10rev/sec) の P100 振幅
がそれぞれ 35、25、35 μ V と高値であったが、
Transient VEP (3rev/sec) による P100 潜時は
正常であった。なお、↑ は刺激提示時、▲ は
P100 を示す。

表 1 症例の内訳

	検査時 年齢	発症 年齢	初発 症状 / 診断の 契機
後頭優位型			
1	3y4m	2y10m	けいれん
2	6y2m	5y11m	性格変化
3	7y9m	6y10m	MRI異常のみ
4	8y4m	6y9m	斜視
5	8y4m	8y1m	視力低下・歩容異常
6	8y10m	8y2m	斜視・視力低下
7	10y6m	9y7m	斜視・視力低下
8	10y8m	10y	MRI異常のみ
9	10y9m	9y11m	聴力低下・学力低下
10	11y10m	10y	ADHD様・行動変化
前頭優位型			
1	10y1m	9y5m	ADHD様・異常行動
2	10y8m	8y6m	ADHD様
3	11y1m	8y	ADHD様
無症状型			
1	4y0m	-	はとこがALD
2	6y7m	-	兄がALD
3	8y11m	-	Addison病 兄がALD
4	11y4m	-	Addison病
5	12y11m	-	いとこがALD

图 1 Wechsler 系知能検査

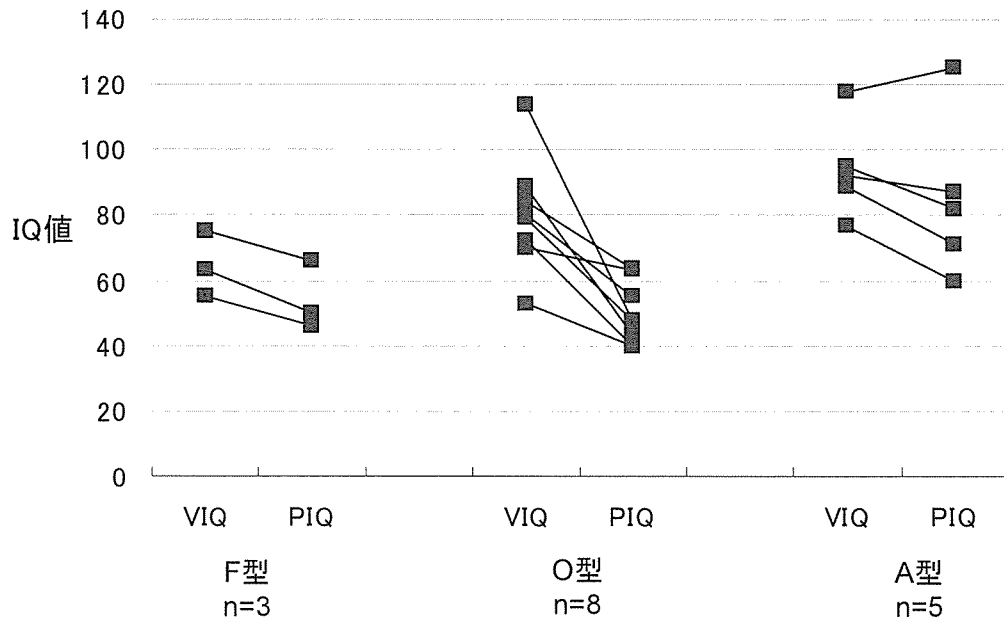


図 2 Frostig 視知覚発達検査

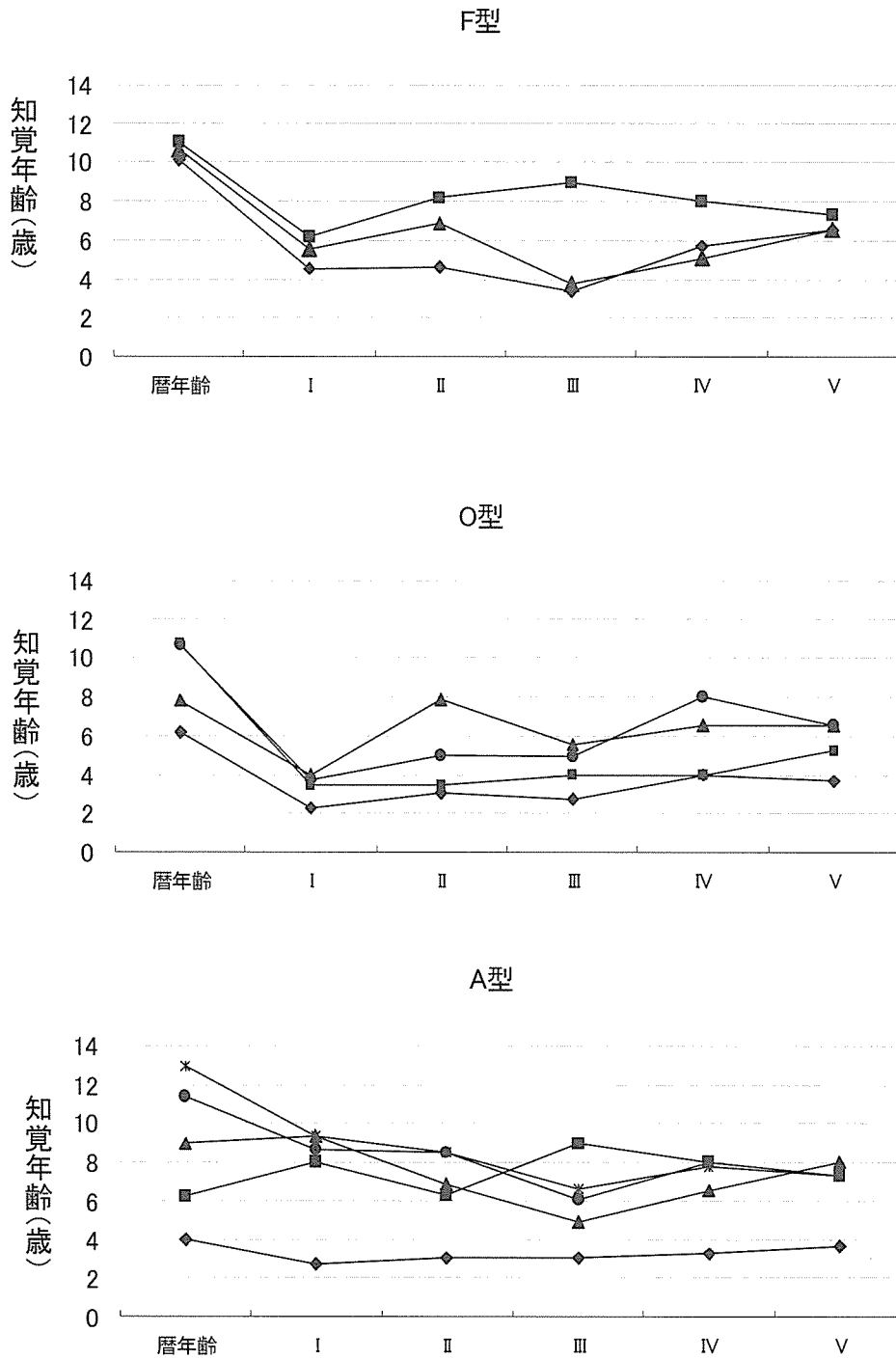


図 3 Raven 色彩マトリクス

図 4 Rey の複雑図形

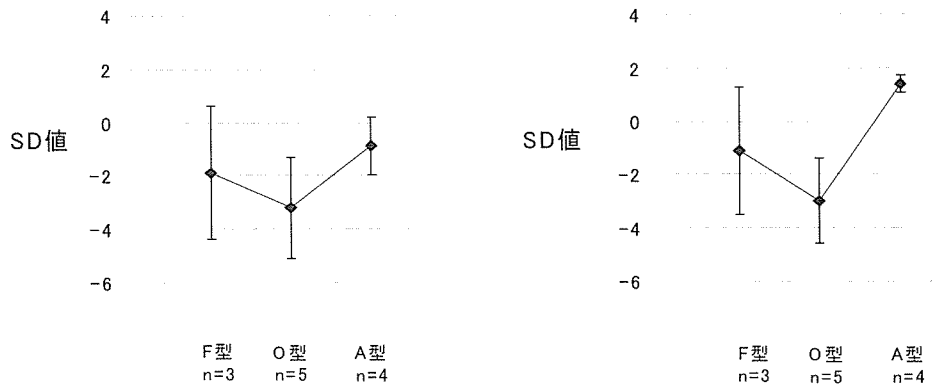


図 5 閃光刺激視覚誘発電位 (f-VEP) の潜時と振幅

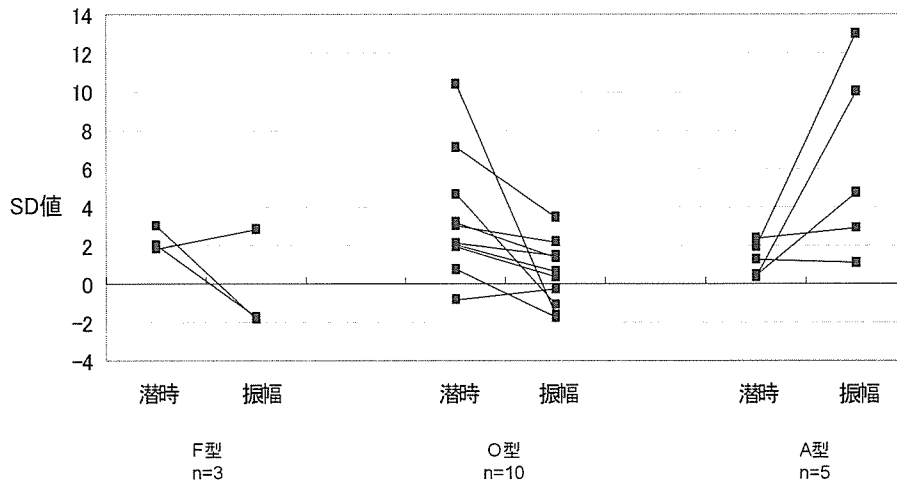
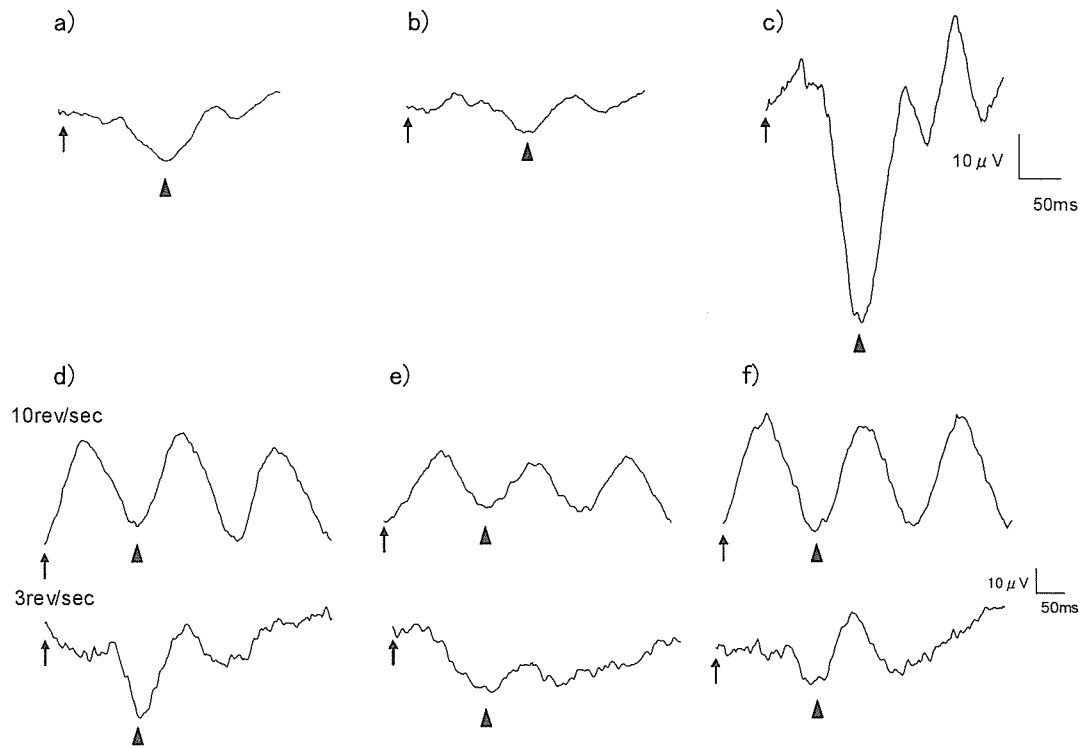


図 6 視覚誘発電位



神経症状発症前のALD男児の早期診断→早期治療へ！

家族歴と極長鎖脂肪酸高値があつてMRIに異常がない時に—

★神経心理学的検査で異常が見つかることがあります

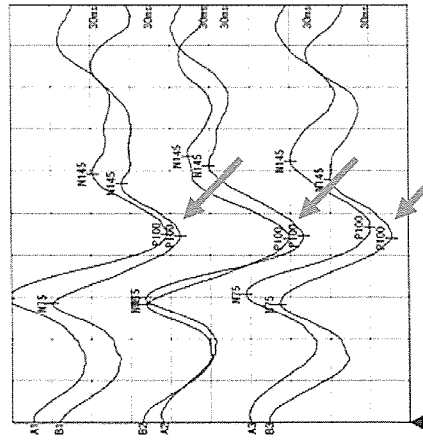
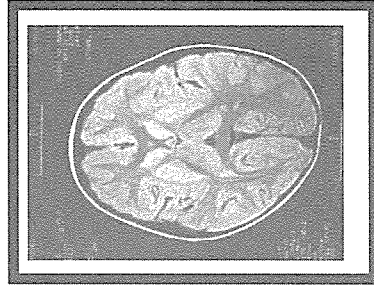
--例えは---

Wechsler系知能検査で言語性IQ>>動作性IQ

K-ABCで視覚性項目低値

Frostig視知覚発達年齢の低値 など

★ 視覚誘発脳波が高振幅化する異常が先行することがあります



絵の統合課題の遂行が困難



厚生科学研究費補助金(特定疾患対策研究事業)

分担研究報告書

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2006年6月までに46例の副腎白質ジストロフィー症に対し49回の造血幹細胞移植がなされ、ドナー別では血縁者間22例(骨髄移植21例、臍帯血移植1例)、非血縁者間24例(骨髄移植13例、臍帯血移植11例)であった。前者では22例に対して23回の移植がなされ18例が生着生存中であり、後者では24例に対して26回の移植がなされ13例が生着生存中であった。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東海大学と名古屋第一赤十字病院の移植データを基に解析した。1988年9月から2006年6月までに46例に対して49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. ドナー及び移植細胞の種別と移植細胞数:血縁者間22例(同胞間骨髄移植18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24例(骨髄移植13例、臍帯血移植11例)であり、移植細胞数の中央値は骨髄移植で $3.6 \times 10^8/\text{kg}$ 、臍帯血移植で $2.9 \times 10^7/\text{kg}$ であった。

3. 表1. 診断から移植までの期間

	血縁者間	非血縁者間
骨髄移植	92(32-623)	456(218-1842)
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。

4. 移植前処置:血縁者間骨髄移植ではBU + CY(9例)、BU + CY + ATG(3例)、

L-PAM+TAI+ATG(6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)、L-PAM+TAI+ATG (4例)、その他3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8例であった(2回目移植も含む)。

5. 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、倫理面での問題はないと考えられる。

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/mm³ 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):HLA 一致血縁者間骨髄移植では16例中13例生着し、15例が生存、12例が生着生存であった。HLA 不一致血縁者間骨髄移植では5例に対して6回の移植を行い、5回生着し5例が生着生存であった。非血縁者間骨髄移植では13例中10例が初回移植で生着し、10例が生着生存、3例が死亡であった。非血縁者間臍帯血移植では11例に対して13回の移植を行い、8例で生着、6例生存、3例が生着生存であった。

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。とりわけ副腎不全(アジソン病)と診断され、その治療過程で神経症状が発言して頭部MRI等にて本症と診断される場合も稀ではない。そのため内分泌専門医との連携も重要である。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。

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

副腎白質ジストロフィーの診断と治療

