

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)に関する調査研究班  
平成 19 年度総括・分担研究報告書

平成 20(2008)年 3 月

主任研究者

衛 藤 義 勝

# 目 次

はしがき .....	1
研究組織 .....	2
総括研究報告書 .....	3
ライソゾーム病(ファブリー病含む)に関する調査研究 主任研究者 衛藤義勝	
平成 19 年班会議プログラム .....	12
分担研究報告書	
I. ライソゾーム病の病像：自然歴、治療効果、QOL やスクリーニング関連調査	
1) ファブリー病患者における健康関連 QOL の調査研究 .....	15
坪井 一哉(名古屋セントラル病院血液内科)	
2) 尿 $\alpha$ galactosidase A 蛋白と globotriaosylceramide 測定による Fabry 病ハイリスク・スクリーニングに関する研究(第 2 報) .....	24
北川 照男((財)東京都予防医学協会)	
3) 糖原病 II 型(GSDII, Pompe 病)およびムコ多糖症 I 型 (MPSI 型, Hurler-Sceie 症候群)の新生児スクリーニング法の検討 .....	29
北川 照男((財)東京都予防医学協会)	
4) ムコ多糖症の包括的診断、治療に関する研究 .....	33
奥山 虎之(国立成育医療センター臨床検査部)	
5) ムコ多糖症 II 型重症型の自然歴と BMT の効果に関する検討 .....	35
鈴木 康之(岐阜大学医学部医学教育開発研究センター)	
6) 新生児聴覚異常スクリーニングを契機に発見された GM1 ガングリオシドーシスの一例 .....	37
高柳 正樹(千葉県こども病院代謝内分泌科)	
7) ろ紙血検体を用いたファブリー病診断の試み .....	39
遠藤 文夫(熊本大学大学院 医学薬学研究部小児科学分野 教授)	
8) 本邦におけるペルオキシソーム病診断例 .....	41
鈴木 康之(岐阜大学医学部医学教育開発研究センター)	
9) ペルオキシソーム病(ALD を除く)の全国調査(一次調査) .....	43
衛藤 義勝(東京慈恵会医科大学小児科学 DNA 医学研究所)	

## II. ライソゾーム病の病態：遺伝子解析、メカニズム

- 1) 日本人 I-cell 病の遺伝子解析と自然歴調査 ..... 45  
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)
- 2) ライソゾーム病(ファブリー病含む)に関する研究 ..... 47  
辻 省次(東京大学大学院脳神経医学専攻神経内科学)
- 3) ニーマンピック病に関する臨床的・分子遺伝学的解析 ..... 49  
高橋 勉(秋田大学医学部小児科学)
- 4) ニーマン・ピック病 C 型の神経変性に関する研究 ..... 51  
大野 耕策(鳥取大学医学部脳神経小児科学)
- 5) ゴーシェ病における骨粗鬆症の病態に関する研究 ..... 54  
芳野 信(久留米大学医学部小児科学教室)
- 6) ライソゾーム病(ファブリー病含む)に関する調査研究 ..... 56  
松田 純子(東海大学未来科学技術共同研究センター)

## III. ライソゾーム病の新規治療開発：遺伝子治療、細胞治療、シャペロン療法

- 1) ムコ多糖症 II 型における酵素補充療法と造血幹細胞移植との効果の比較研究 ..... 61  
田中あけみ(大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学)
- 2) ムコ多糖症 I 型患者由来の細胞に対するラロニダーゼの効果に関する研究 ..... 63  
桜庭 均(明治薬科大学分析化学教室)
- 3)  $\beta$ -ガラクトシダーゼ遺伝子変異解析とケミカルシャペロン療法に関する研究 ..... 66  
難波 栄二(鳥取大学生命機能研究支援センター)
- 4) ライソゾーム病の脳障害に対する新しい分子治療法の開発 ..... 68  
鈴木 義之(国際医療福祉大学大学院)
- 5) ライソゾーム病の遺伝子治療に関する研究 ..... 71  
島田 隆(日本医科大学生化学・分子生物学)
- 6) ムコ多糖症 VII 型、クラッベ病への遺伝子・細胞治療に関する基礎的研究 ..... 75  
衛藤 義勝(東京慈恵会医科大学小児科学 DNA 医学研究所)
- 7) ライソゾーム病の細胞療法におけるキャリアー細胞の開発研究 ..... 77  
桜川 宣男(北里大学医療衛生学部再生医学寄附講座)
- 8) 先天代謝異常症における造血幹細胞移植の後方視的研究と  
標準的移植法確立に関する研究 ..... 81  
加藤 俊一(東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学)

## は し が き

平成 19 年度は本研究班の新たな年となります。当研究班はライソゾーム病患者の予後改善のため多角的に研究を推進していくことを目的とし、今回も病像把握のための調査研究、更に基礎研究として病態解析、新規治療法開発を同時に進め、多方面にわたる成果をあげることができました。これも班員および研究協力者の皆様のお力によるものと深く感謝いたします。本研究がライソゾーム病患者の方々のためにお役に立てることを切に願ってやみません。

最後になりましたが、ご協力いただきました研究者各位、ならびに患者様、ご家族の方々に厚く御礼申し上げます。

平成二十年三月吉日  
主任研究者 衛藤 義勝

## 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・新しい治療法の開発
分担研究者 鈴木 義之	国際医療福祉大学大学院	教授	新しい治療法の開発(ケミカルシャペロン法)
芳野 信	久留米大学 医学部 小児科学	教授	バイオマーカーの開発
田中あけみ	大阪市立大学大学院医学研究科 医学部 発達小児医学	准教授	先天代謝異常症における造血幹細胞移植の後方視的調査研究と標準的移植法確立に関する研究
島田 隆	日本医科大学 生化学・分子生物学講座	教授	新しい治療法の開発(遺伝子治療)
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	講師	病態に関する研究
高橋 勉	秋田大学 医学部 小児科学	教授	臨床疫学的研究
高柳 正樹	千葉県こども病院	医療局長	臨床疫学的研究
大野 耕策	鳥取大学医学部 脳神経小児科学	教授	新しい治療法の開発(ケミカルシャペロン法)
辻 省次	東京大学大学院医学系研究科 医学部 神経内科学	教授	病態に関する研究
難波 栄二	鳥取大学 生命機能研究支援センター	教授	新しい治療法の開発(ケミカルシャペロン法)
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	ADL,QOL に関する研究
桜庭 均	明治薬科大学 分析化学研究室	教授	新しい治療法の開発(酵素補充療法)
北川 照男	東京都予防医学協会	理事長	新しい診断法の開発(マスキング法)
桜川 宣男	北里大学医療衛生学部 再生医学寄附講座	客員教授	新しい治療法の開発(細胞治療法)
奥山 虎之	国立成育医療センター 臨床検査部	部長	新しい治療法の開発(酵素補充療法)
坪井 一哉	名古屋セントラル病院 血液内科	主任医長	ADL,QOL に関する研究
松田 純子	東海大学 未来科学技術共同研究センター	准教授	新しい治療法の開発(骨髄移植)
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	先天代謝異常症における造血幹細胞移植の後方視的調査研究と標準的移植法確立に関する研究
遠藤 文夫	熊本大学大学院医学薬学研究部 小児科学	教授	新しい診断法の開発 (マスキング法)

# 総括研究報告書

## ライソゾーム病(ファブリー病含む)に関する調査研究

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

本年度はライソゾーム蓄積疾患(LSD)調査研究の再出発(第三クール)第一年目の報告として、従来の柱であるⅠ.臨床像の把握、Ⅱ.病態の解析、Ⅲ.治療法の開発、の三つのテーマを中心にさまざまな新しい検討が加えられた。臨床像に関してはファブリー病、ペルオキシソーム病における Quality of Life(QOL)の調査、新生児スクリーニングなどが検討され、現在の我が国における LSD に関する状況が明らかにされた。病態解析ではニーマンピックの分子遺伝学的検討と C 型の神経変性に関する検討、ゴーシェ病 Glucocerebrosidase 遺伝子と Parkinson 病の関連、osteoporosis の病態、神経型モデルマウス作成、βガラクトシダーゼ遺伝子変異解析などの研究報告がなされている。治療法の開発に関しては、ここ数年相次いで承認されたライソゾーム病に対する酵素補充療法と骨髄移植との比較研究、LSD に対する骨髄移植の包括的研究、そして遺伝子治療、ケミカルシャペロンといった新規治療研究と多彩な報告がなされている。以上のように臨床像の把握、病態の解析、治療法の開発の三つの柱を中心に LSD の予後の大幅な改善に向けて希望のもてる状況になりつつある。

### A. 研究目的

本研究の最終目的は LSD 患者の予後、ADL、QOL の改善にあり、そのために臨床的な病像を明らかにし、さらに病態を詳細に解析することにより、今後の診断および治療法の開発に結び付けていく必要がある。このような視点で LSD に関するさまざまな観点からの研究が行われた。

### B. 研究概要

#### Ⅰ. 臨床像の把握

#### 1) ファブリー病患者における健康関連 QOL の調査研究：

◆ 結果概要:ファブリー病患者における健康関連 QOL の調査を行った。包括的尺度として、身体機能、日常役割機能(身体)、身体の痛み、社会生活機能、全体的健康感、活力、日常役割機能(精神)、心の健康の各 8 つの下位尺度にお

いて、国民標準値よりも低値を示していた。また、サマリー・スコアとしても国民標準値を下回る傾向が認められた。これらの要因として、心臓や腎臓などの臓器障害による日常生活の制約による身体的健康度の低下に加え、病気や治療に対する不安に加え、結婚、遺伝、また、将来に対する不安などによる精神的健康度の低下などが考えられた。

- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：本研究により、ファブリー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、現在行われている酵素補充療法の有効性、古典型、ヘテロ型などなど各種の病態における治療の適応や開始時期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。
- ◆ 研究の実施経過：平成 16 年度は、当院通院中

のライソゾーム病患者を対象に基本的ADLおよび健康関連QOLの調査を行い、予備調査をもとに平成17年度より全国調査を開始した。平成17年度は、ポンペ病患者を対象に、平成18年度は、ゴーシェ病患者を対象に健康関連QOL調査を行った。また、本年度は、ファブリー病患者を対象にQOL調査を行った。今後、平成20年度には、ムコ多糖症患者における調査を予定している。また、ポンペ病患者に関しては基本的ADL調査を開始し、経年的にQOL調査およびADL調査を開始している。平成21年度に集計・解析予定である。)

## 2) 尿 $\alpha$ -galactosidase A蛋白と globotriaosylceramide 測定による Fabry 病ハイリスク・スクリーニングに関する研究(第2報)

- ◆ 結果概要:本年度は全国71施設の医療機関を受診し、Fabry病(FD)の家族歴のあるもの、あるいはFD病が疑われる何らかの症状を有する対象112例(男性57名、女性55名)の尿 $\alpha$ -galactosidase A蛋白( $\alpha$ -gal AP)を抗ヒト $\alpha$ -gal APに対するモノクローナル抗体を用いたELISA法で測定すると共に、尿globotriaosylceramide(GL-3)をタンデム質量分析計で測定しFDのハイリスク・スクリーニングを試みた。その後、各施設に各症例の確定診断名を尋ね、その結果と我々の測定結果との比較を行い、これらの検査法の有用性を検討し、FDおよびヘテロ接合体のスクリーニングに有用なことを明らかにした。
- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供: ELISA法およびタンデム質量分析法を用いて尿中の $\alpha$ -gal APとGL-3を同時に測定し、両者の値を総合的に検討すれば精度の高いFDスクリーニングが可能であった。特に、FDが疑われる症例を対象にしたハイリスク・スクリーニングには極めて有用であり、さらに例数の増加を図って、研究を継続する予定である。
- ◆ 研究の実施経過:本年度は、(財)東京都予防医

学協会を受診した各年齢の健常対照群444名の随時尿、および全国の医療機関71施設から依頼された家族歴やFDが疑われる何らかの症状を有する112名を対象として研究を行った。 $\alpha$ -gal APもしくはGL-3のみを測定して診断した場合に比較して、 $\alpha$ -gal APとGL-3とを測定して両者の値を検討して診断した方が感度と特異度が高かった。特に、女性の場合は、 $\alpha$ -gal APまたはGL-3のみを測定してスクリーニングするよりも両者を測定してFDのスクリーニングの方が診断の感度と特異度が上昇した。)

## 3) 糖原病II型(GSD II型、Pompe病)およびムコ多糖症I型(MPS I型、Hurler・Scheie症候群)の新生児スクリーニング法の検討:

- ◆ 結果概要: GSD IIおよびMPS I型は、酵素補充療法が確立されたことによって何れも早期に発見し治療を開始すれば予後の改善、QOLの向上が期待される疾患である。そのため、我々は、Chamolesらの方法を用いてこれらの疾患、並びに多数の正常対照新生児濾紙血液中の酵素活性を測定し、これらの方法が両疾患の早期発見法に有用であることを明らかにした。
- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供: 本法を用いてGSD II型およびMPS I型を新生児期にスクリーニングすれば、患者の早期発見・早期診断および早期治療が可能であり、特に幼児期早期に死亡するGSD患者を救命することができるので、その意義は大きい。
- ◆ 研究の実施経過:本年度は、SD II型患者6例、MPS I型患者6例、遅発成人型1例および保護者からインフォームドコンセントの得られた正常対照214例を対象として検討を行った。  
GSD II型6例と正常対照172例の測定結果は、正常対照群で1例異常値を示したものが認められたが、それ以外は、いずれの場合も患者群とコントロール群の区別は明確で、患者を

検出することは容易であった。

MPS I 型患者 6 例と正常対象 42 例の活性測定値は、正常対象群では 72.4-233.5 pmol/hr/disk (mean ± SD : 139.2 ± 34.1 pmol/hr/disk) の範囲にあるのに対して、患者群では 3.3-233.5 pmol/hr/disk (mean ± SD : 7.9 ± 3.8 pmol/hr/disk) と著しく低値を示し、患者の判定は容易であった。

本法による GSD II 型および MPS I 型の診断は、ELISA 法などと比較してやや煩雑で、反応時間も 20 時間と長いが、感度・特異度も良好であり、患者を確実に捕捉することが可能であった。)

#### 4) ムコ多糖症の包括的診断、治療に関する研究：

- ◆ 結果概要：ムコ多糖症 I 型(ハーラー症候群 2 例、ハーラー・シャイエ症候群 1 例)に対して、酵素補充療法と平行して、対症療法を積極的に行っている。酵素補充療法により尿中ウロン酸の減少、肝脾腫の改善を認めるほかに、特に鼓膜チューブ留置、リハビリを積極的に行って、中耳炎、難聴の改善、関節可動域の拡大など良好な結果を得ている。
- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：対症療法と組み合わせることにより、酵素補充療法はより効果的になる。今後、その有効性について長期的に評価していく。また、有効性を高めるためにも早期治療が重要であり、早期診断するための診断能力の向上が重要である。また、遺伝子診断により、発端者診断はもとより保因者診断、出生前診断など多様なニーズに対応していくためにも、適切な遺伝カウンセリングが欠かせない。このように時間的、家系的にムコ多糖症を包括して診療していく体制を作り上げていく。
- ◆ 研究の実施経過：現在も酵素補充療法は継続して行っており、長期評価としての発達や QOL の向上について調査していく。発端者遺伝子解析について、症例を蓄積していき臨床症状と遺

伝子変異に相関があるかを調査していく。)

#### 5) ムコ多糖症 II 型重症型の自然歴と BMT の効果に関する検討：

- ◆ 結果概要：ムコ多糖症 II 型重症型 69 例について、自然歴と造血幹細胞移植の効果を検討した。言語能力、運動能力、介護度をスコア化したところ、重症型では運動能力に比べ、言語能力のスコア低下が顕著で、介護度は低年齢から低スコアであることが判明した。移植群もスコアの向上は認められず、15 歳を過ぎると全例が全介助となることが判明した。酵素補充療法も含め、早期診断・早期治療によるさらなる検討が必要と考えられた。
- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：造血幹細胞移植、酵素補充療法の効果判定に活用する
- ◆ 研究の実施経過：軽症ムコ多糖症 II 型重症型患者 69 例を対象とし、言語能力、運動能力、介護度をスコア化し、非移植群(自然歴)と移植群の比較を行った。

#### 6) 新生児聴覚異常スクリーニングを利用したライソゾーム病患者の早期発見方法についての検討：

- ◆ 結果概要：新生児聴覚異常スクリーニングで異常を指摘されたことがきっかけで、GM1 ガングリオシドーシスと診断された乳児例を経験した。  
新生児聴覚異常スクリーニング異常患者に小児科医が積極的に関与することで、GM1 ガングリオシドーシスをはじめとする、ライソゾーム病を早期発見できる可能性があると考えられた。
- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：ライソゾーム病を早期発見できれば、患者の QOL の向上に寄与すると考えられる。
- ◆ 研究の実施経過：千葉県こども病院に紹介されてくる、新生児聴覚異常スクリーニング異常症

例を、耳鼻科医と協力してライソゾーム病合併の有無をチェックしている。

#### 7) 本邦におけるペルオキシゾーム病診断例：

- ◆ **結果概要：**岐阜大学で診断したペルオキシゾーム病の特徴を明らかにした。Zellweger 症候群が最も多く、ついでβ酸化系酵素欠損症であった。頻度は20-30万人に1名と推定されたが、診断体制の確立により、増加すると考えられる。自然歴の調査と治療法開発が急務である。
- ◆ **研究により得られた成果の今後の活用・提供：**Zellweger 症候群では筋緊張低下、けいれん、顔貌異常、大泉門開大、肝障害、心奇形などが高頻度に認められ、極長鎖脂肪酸、plasmalogen、フィタン酸など多彩な代謝異常が認められた。今後全国調査によって自然歴を把握する予定である。
- ◆ **研究の実施経過：**1980年以降に岐阜大学で診断したペルオキシゾーム病患者について解析した。

#### 8) ペルオキシゾーム病(ALDを除く)の全国調査(一次調査)：

- ◆ **結果概要：**発送件数は1305であった。回答は625件で回収率は47%であった。ALDを除くと過去5年でもっとも多かったのはZellweger 症候群の12例で、次に肢根型点状軟骨異形成症の6例であった。またD-二頭酵素欠損症、高シュウ酸尿症I型もそれぞれ5例、認められた。最近の1年でも過去5年と同じ傾向を示した。
- ◆ **研究により得られた成果の今後の活用・提供：**Zellweger 症候群、肢根型点状軟骨異形成症、D-二頭酵素欠損症、高シュウ酸尿症Iが比較的多く認められた。来年度は2次調査を行い詳細な診療情報の調査を行う。
- ◆ **研究の実施経過：**今回は本邦における患者数を明らかにするために往復はがきを用いて調査を行い、過去1年ならびに5年の診療経験数

のみを調査した。発送先は全国大学付属病院の小児科、小児病院の各科、250床以上の病院の小児科である。

## II. 病態の解析

### 1) 日本人 I-cell 病の遺伝子解析と自然歴調査

- ◆ **結果概要：**リソゾーム病の一つであり、著明な骨病変、心弁膜症、神経症状を来す I-cell 病は我が国に多い疾患とされるが、日本人患者38人に対して原因遺伝子 GNPTAB の解析を行った。また、患者の臨床症状について調査を行い、遺伝子変異と臨床病型の比較を行なった結果、いくつかの高頻度変異についてその臨床病型との関連が判明した。
- ◆ **研究により得られた成果の今後の活用・提供：**I-cell 病は日本人に多い疾患であり、本研究において日本人における大多数の患者の変異解析の情報が解明され、遺伝子型表現型の相関関係が明らかになった。今後生化学的診断に続いて遺伝子診断の結果が臨床病型の推定に役立つと考えられる。

### 2) Glucocerebrosidase (GBA) 遺伝子の病原性ヘテロ接合変異はパーキンソン病(PD)患者と有意に関連する：

- ◆ **結果概要：**PD患者63例、若年性PD(JPD)患者11例、進行性核上性麻痺(PSP)患者16例、多系統萎縮症(MSA)患者30例、大脳皮質基底核変性症(CBD)患者6例、正常対照47例を対象にして、GBA 遺伝子の全エクソン及びエクソン・イントロン境界域の resequencing を行った。その結果、PD患者7例(RecNci 3例、R120W 2例、R329C 1例、R496C 1例)、PSP患者1例(N188S 1例)に病原性変異をヘテロ接合性に認め、対照群および他の疾患群には全く認めなかった。PD群と対照群の間に統計学的有意差を認め、PDに特異的な関連を考えた。GBA 変異を有するPD患者7例中、4例で家族歴を認め、PDの家族集積性に関与する

可能性を考えた。また、GBA 変異を有する PD 患者 7 例中、4 例で幻視、3 例で痴呆を認めており、GBA 変異が PD の臨床表現系に關与する可能性を考えた。

- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：本研究の成果は孤発性 PD の病因解明の重要な手がかりになると考えており、大規模な集団で解析を拡大することを考えている。また、病原性変異のキャリアー群の臨床的特徴を収集することで、適切な患者管理が図れるよう検討を続けていく。
- ◆ 研究の実施経過：大規模な集団で解析を拡大するため、大阪大学医学部臨床遺伝学教室 戸田達史らと共同で解析を行うことを計画している。

### 3) ニーマンピック病に関する臨床的・分子遺伝学的解析：

- ◆ 結果概要：国内におけるニーマンピック病症例の培養皮膚線維芽細胞を用いた診断を行った。これまで A 型 1 例、B 型 1 例、C 型 3 例を診断し、ASM 遺伝子および NPC1 遺伝子に関して新規遺伝子異常を同定した。その病態に関しては NPC1 遺伝子異常細胞において脂質輸送に関する ABC トランスポーター遺伝子の発現低下を見出した。
- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：ニーマンピック病の病態の一つである細胞内脂質蓄積による病態を説明するものとして ABC トランスポーターの遺伝子発現変化を見出した。これらのトランスポーターは、薬剤による調節を受けることが分かっているため、治療戦略として今後、展開してゆきたい。
- ◆ 研究の実施経過：ニーマンピック病に関して国内症例の診断を通じて遺伝疫学などを明らかとしてきた。また患者由来の培養細胞を用いて細胞内脂質蓄積がもたらす病態に関して、脂質輸送に関する ABC トランスポーターに着目して、特に遺伝子発現状態に関して解析してきた。

### 4) ニーマン・ピック病 C 型の神経変性に関する研究：

- ◆ 結果概要：ニーマン・ピック病 C 型(NPC)では脳幹の機能障害によると考えられる症状が多く存在する。NPC のモデルマウスの脳幹部の病理学的変化について検討した。脳幹の特異な場所での神経細胞の脱落やグリオースがみられることを明らかにした。これらの病変は NPC の強剛、眼球運動障害、カタプレキシー、睡眠障害、嚥下障害、難聴などの症状と関係している可能性がある。
- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：NPC モデルマウスの脳幹で認められた神経核領域に特異的な変性のメカニズムを明らかにすることにより、モデルマウスの治療法の開発を目指す。
- ◆ 研究の実施経過：これまで、ニーマン・ピック病 C 型モデルマウスや細胞株を用い、ニーマン・ピック病 C 型の神経変性機構の研究を進めてきた。マウスの脳でおこるグリオースにはサイトカインシグナルの活性化が関係していることを明らかにし、この制御でマウスの生存を延長できた。しかし、この成果をヒトへ応用することは困難であり、さらに神経変性と関係する現象を見つけ出し、治療の標的を探す必要がある。

### 5) ゴージェ病における骨粗鬆症の病態に関する研究：

- ◆ 結果概要：ゴージェ病患者の骨粗鬆症の機序を検討する目的で 8 名のゴージェ病患者 (I 型 4 名、IIIa 型 1 名、IIIb 型 3 名)につき、血中サイトカイン、血中・尿中の骨形成マーカー、骨吸収マーカーを測定した。その結果、ゴージェ病では、macrophage-colony stimulating factor の過剰により骨吸収が亢進し、反面 transforming growth factor- $\beta$ 1 の過剰が骨吸収に対して抑制的に作用し、いっぽう interleukin-18 の増加により骨形成が亢進し

た状態であることが分かった。

- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：本研究を通じて、ゴーシェ病の骨病変のうち骨粗鬆症に関しては、今回の研究の結果から NF- $\kappa$ B を介した情報伝達が亢進している可能性が考えられるのでその過程の調整がよりよい治療法の開発につながると期待される。
  - ◆ 研究の実施経過：まずマクロファージ/単球の活性化で増加が予測される各種サイトカインなどを測定し、ついで、その中で上昇が見られたものについて骨代謝マーカーとの相関を検討した。その結果、対照症例がすべて酵素補充療法中の患者であるという限定条件下ではあるが、上記の結果を得た。
- 6) ライソゾーム病(ファブリーも含む)に関する調査研究：
- ◆ 結果概要：ゴーシェ病の欠損酵素 acid- $\beta$ -glucosidase の活性化たんぱく質であるサポシン C のノックアウトマウス(Sap-C<sup>-/-</sup>)の作成に成功した。Sap-C<sup>-/-</sup>は肝臓の脂質分析で HFA-glucosylceramide の有意な蓄積を認めたが、正常に出生、発育し、生後 3 ヶ月までの観察では明瞭な神経症状を呈さないことが明らかになった。
  - ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：ヒトのサポシン C 欠損症は遅発型のⅢ型ゴーシェ病様の表現型を呈することから、今後はサポシン C のノックアウトマウスの神経症状を引き続き観察するとともに、詳細な神経病理学的解析を進める予定である。
  - ◆ 研究の実施経過：マウスプロサポシン遺伝子のサポシン C 領域に、特異的変異をノックインするターゲティングベクターを構築し、サポシン C ノックアウトマウスの作成に成功した。現在、表現型の解析中である。

### Ⅲ. ライソゾーム病の新規治療法開発：遺伝子治療、細胞治療、シャペロン療法

#### 1) ムコ多糖症Ⅱ型における酵素補充療法と造血幹細胞移植との効果の比較研究：

- ◆ 結果概要：肝臓や皮膚においては、酵素補充療法、造血幹細胞移植ともに良好な効果が得られていた。関節可動域、心機能については、造血幹細胞移植では目だった病状の進行は認めず良好な効果を示していたが、酵素補充療法では改善が認められなかった。

- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：酵素補充療法は、危険性が少なく全ての患者に適応できるが、高額である上毎週の点滴を必要とするため、時間的、労力的負担が大きい。造血幹細胞移植は、ドナーを必要とし、時には生命の危険がある。しかしながら、適切なドナーがある場合には、医療経済的にも勧めるべき治療法と思われる。両治療法の効果を正確に比較判定することは、今後の治療法選択の指標となる。

- ◆ 研究の実施経過：酵素補充療法を行っているムコ多糖症Ⅱ型軽症型の患者 4 例と造血幹細胞移植を施行したムコ多糖症Ⅱ型軽症型 2 例、重症型 4 例の患者について臨床経過を観察した。酵素補充療法については、さらに患者を増やし、長期の経過観察をする予定である。

#### 2) ムコ多糖症Ⅰ型患者由来の細胞に対するラロニダーゼの効果に関する研究：

- ◆ 結果概要：ムコ多糖症Ⅰ型(MPSⅠ)に対する治療薬として承認された組み換えヒト $\alpha$ -L-イブロンダーゼ(ラロニダーゼ)の MPSⅠ患者由来培養線維芽細胞への投与効果を生化学的および病理学的に解析し、その効果を確認した。また、同酵素の細胞内への取り込みに関して、マウス骨芽細胞と線維芽細胞とで比較した所、前者で低いことを明らかにした。

- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：MPSⅠにおける主な障害組織の結合織と骨組

織を構成する代表的細胞である、それぞれ線維芽細胞と骨芽細胞に対するラロニダーゼの取り込みを調べた。その結果、前者では、ラロニダーゼはよく取り込まれ、その治療効果が確認された。一方、後者は、前者に比べて取り込み効率が低いこと、両者ともマンノース-6-リン酸受容体を介して細胞内に取り込まれることが明らかになった。従って、今後、骨組織に対して効果的な薬剤を開発するためには、マンノース 6-リン酸残基を多く含む組み換え酵素の生産が重要と考えられる。

- ◆ 研究の実施経過：ラロニダーゼを MPS I 患者由来の培養線維芽細胞に投与した所、欠損していた酵素活性が回復し、細胞内の封入体の数が減少した。また、マウス由来の培養骨芽細胞と線維芽細胞とを試料として、ラロニダーゼの取り込み効率を比較した所、前者で低い結果が得られた。両者におけるラロニダーゼの取り込みは、マンノース 6-リン酸により阻害された。

### 3) β-ガラクトシダーゼ遺伝子変異解析とケミカルシャペロン療法に関する研究：

- ◆ 結果概要：β-ガラクトシダーゼ欠損症遺伝子変異解析を行い、遺伝子変異型とケミカルシャペロン効果の相関について検討を行った。ケミカルシャペロン効果の分子機構の解明を行った
- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：β-ガラクトシダーゼ遺伝子変異型とケミカルシャペロン効果の検討は、将来的にこの療法が臨床応用のための重要な基礎的な知見となる。また、ケミカルシャペロン効果の分子機構の解明は新たな分子治療薬の開発へと発展することも期待される。
- ◆ 研究の実施経過：これまで 44 の変異型についてケミカルシャペロン効果を調べ 9 の変異型で有効性を見いだした。今後は他の変異型についてもモデルマウス細胞発現系などにより引き続き検討を行う。

### 4) ライソゾーム病の脳障害に対する新しい分子治療法の開発：

- ◆ 結果概要：GM1-ガングリオシドーシス治療のために開発した N-オクチル-4-エピ-β-バリエナミン (NOEV) をモデル動物に投与し、その形態、化学病変に対する有効性、臨床的効果を確認した。
- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：今後、異なった動物種に対する毒性を検討後、ヒト患者治療実験を行う予定である。
- ◆ 研究の実施経過：疾患モデルマウスを開発し、この治療法の有効性を細胞実験により確認後、経口投与実験を行った。

### 5) ライソゾーム病の遺伝子治療：

- ◆ 結果概要：AAV (Adeno-associated virus) 1-GFP ベクターの髄腔内注入により脳全域に渡る広範囲な遺伝子導入が可能であった。更に、脊髄神経節及び脊髄後索での高率な遺伝子導入を認めた。MLD モデルマウスに対し AAV1-ASA ベクターを注入する実験では ASA 活性の広範囲な発現とスルファチドの減少を確認した。AAV ベクターの髄腔内注射は脳実質内注射に比較して非侵襲的であり臨床応用可能な方法であると考えられた。
- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：中枢神経系の変性を伴うライソゾーム病の治療法は確立していない。AAV ベクターの髄腔内投与は非侵襲的に広範囲な脳組織への治療効果が期待できる方法であり、臨床応用に向けた発展が期待できる。
- ◆ 研究の実施経過：AAV1-GFP、AAV1-ASA ベクターを、C57BL/6 或いは ASA ノックアウトマウスの後頭蓋窩からの髄腔内投与を行ない 8 週後に解析した。GFP の発現は脳室上衣細胞、脈絡叢、嗅球、視床下部、脳幹部、小脳プルキンエ細胞、脊髄実質、脊髄神経節など脳全域で認められた。脳組織を 13 領域に分割し ELISA 法にて ASA 活性を、TLC 法にてスル

ファチドの測定したところいずれの領域でも酵素活性の上昇とスルファチドの減少を認めた。

#### 6) クラッペ病、ムコ多糖症に対する遺伝子治療

◆ 結果概要:我々は今回レンチウイルスを用いたこの二疾患に対する遺伝子治療の検討を進めた。まず MPSV II の欠損酵素 HBG を組込んだレンチウイルスを作成し、細胞への導入を試みたところ有意な活性上昇を見た。次にクラッペ病の欠損酵素 GALC を組込んだレンチウイルスも開発し、細胞株およびマウス新生児での肝臓での発現上昇を見たが、持続的発現および病理上の改善はまだ得られていない。さらに ex vivo gene therapy への布石としてクラッペ病新生児マウスへの骨髄移植を施行し、欠損酵素の発現を見たがやはり病理学的な改善には至っていない。

◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供:骨髄幹細胞への導入が有意に高い効率を呈するとされるレンチウイルスベクターを用いて今後、長期の安定した遺伝子発現を図ることでこれらの疾患の治療へつなげていく。

◆ 研究の実施経過:HIV 由来であり NEF,VIF などの副蛋白を除去し、IRES 配列を介してレポーター遺伝子として GFP を組込んだレンチウイルスベクターに MPSV II の欠損酵素 HBG、さらに Krabbe 病の欠損酵素 GALC をクローニングし、2 種類の組換えレンチウイルスを作成し、細胞株、動物実験を施行した。

#### 7) ライソゾーム病の細胞療法におけるキャリアー細胞の開発研究:

◆ 結果概要:羊膜間葉細胞由来の SP(AMC-SP)細胞の集率を高める方法の確立をした。骨格筋細胞への分化誘導実験により骨格筋繊維様構造を示し、筋細胞マーカーである Desmin を発現していた。ラット胸腺由来筋様細胞との共培養では、AMC-SP が骨格筋繊維構造と多核構造を示し、骨格筋細胞特異的遺伝子(MyoD1、

myosin heavy chain と Desmin)を発現することを示した。

◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供:AMC-SP 細胞は、他家移植により急性拒絶を誘発しない多分化能(神経細胞、骨、軟骨及び細胞細胞)をもつ幹細胞である。本研究では高い集率による採取法を確立し、筋細胞への分化能を証明した。今後はさらに他のライソゾーム病のモデル動物による細胞遺伝子治療実験を行うことが期待される。モデル動物による移植治療実験に対する細胞提供は可能である。

◆ 研究の実施経過:AMC-SP 細胞の集率を高める方法の確立をした。そして AMC-SP 細胞の骨細胞への分化誘導実験を行った。またラット胸腺筋様細胞との共培養による AMC-SP の分化誘導を行った。骨格筋関連マーカーの発現解析および骨格筋関連遺伝子の発現解析を行った。

#### 8) 先天代謝異常症における造血幹細胞移植の後方視的研究と標準的移植法確立に関する研究:

◆ 結果概要:わが国において 1985 年~2005 年に造血幹細胞移植が施行された先天性代謝異常疾患の患者 149 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。移植の対象となった疾患としてはムコ多糖症が最も多く(72 例)、次いで副腎白質ジストロフィー(ALD)が 45 例であった。男女比では男性が 121 例、女性が 28 例で圧倒的に男性が多かった。ドナー細胞の生着が得られた上での生存(無イベント生存)に有意に有利に相関していた因子としては移植細胞源としての骨髄、同胞ドナー、HLA 適合、非照射前処置(ブスルファン主体の前処置)などであったが、多変量解析では移植細胞源が骨髄であるか臍帯血であるかのみが有意な因子となっていた。以上より、現時点では HLA 適合の同胞または非血縁者からの骨髄移植が最も安定した成績が期待されるという結論が得られた。

- ◆ 研究により得られた成果の今後の活用・提供：  
現在これらの移植例について詳細な解析を行っているところであり、造血幹細胞移植による治療効果を明確にし、一部の疾患で開始された酵素補充療法との比較を行っていく予定である。
- ◆ 研究の実施経過：今年度の分担研究では、日本造血細胞移植学会と日本小児血液学会が共同で行っている造血幹細胞移植全国集計データを基にして、わが国において1985年～2005年に造血幹細胞移植が施行された先天性代謝異常疾患の患者149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。

### C. 総合的考察

今回も臨床病像の把握、病態解析、治療開発の三つの柱を中心に様々な検討が為された。まず臨床病像の把握ではファブリー病、糖原病Ⅱ型(Pompe病)、ムコ多糖症に加え、新たにペルオキシゾーム病の調査が加わった。スクリーニングやQOLに関して新たな知見が得られつつあり、今後の診療にあたって重要になるものと思われる。病態解析ではニーマンピック病、ゴーシェ病(神経型モデルマウス、パーキンソン病との関連、骨粗しょう症)、I-cell病に主に焦点が当てられた。更に治療開発に関してはここ数年で保険承認された酵素補充療法に関連する研究が主にムコ多糖症(I,

Ⅱ型)についてなされ、更に骨髄移植の包括的な研究報告、AAV, lenti-virusを用いた遺伝子治療、ケミカルシャペロン療法といった基礎研究も進展が見られている。今後もこれらの結果を総合的に活用し、ライソゾーム病の予後改善に向けて調査研究を発展的に続けていく方針である。

### D. 結論

今回もライソゾーム疾患に苦しむ患者の方々の方々の予後、QOLの改善を目指しさまざまな検討を行った。これまでの長い基礎研究の結果、ここ数年のいくつかのライソゾーム疾患の酵素治療薬の保険承認が実現し、未来に大きな展望が開けたように、今後も現在のわが国における臨床病像の把握、各疾患の病態解析、治療法の開発といった柱を中心に精力的、持続的、かつ総合的に研究を進めていく必要がある。

### E. 健康危険情報

なし

### F. 研究発表

各分担研究者の報告書を参照

### G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

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会議

日 時：平成 19年6月21日(木)12時～  
場 所：東京慈恵会医科大学 GH 会議室

総合司会：小林 博司

12:00

班長挨拶 衛藤 義勝(東京慈恵会医科大学)

ご挨拶 林 修一郎(厚生労働省健康局疾病対策課 課長補佐)

12:10

I. ライソゾーム病のスクリーニング法の開発

座長：鈴木 康之(岐阜大学・医学部医学教育開発研究センター)

- 1) ファブリー病のスクリーニングに関する研究  
：中村公俊 服部希世子 三淵 浩 遠藤文夫(熊本大学医学部附属病院小児科)
- 2) ライソゾーム病スクリーニングの研究  
：北川照男、鈴木 健、石毛信之((財)東京都予防医学協会)
- 3) パーキンソン病及び関連疾患における Glucocerebrosidase (GBA) 遺伝子の resequence 解析  
：三井 純、高橋祐二、伊達英俊、岩田 淳、後藤 順、辻 省次  
(東京大学医学部附属病院・神経内科学)

12:40

II. 新規治療法の開発 I

座長：加藤 俊一(東海大学医学部・基盤診療学系再生医療科学)

- 1) 神経変性を伴うライソゾーム病の治療  
：島田 隆、三宅紀子、岩本直高(日本医科大学・生化学・分子生物学講座)
- 2) ライソゾーム病に対する新しい治療法の開発  
：一ノ宮悟史、鈴木義之(国際医療福祉大学・大学院)
- 3) GM1-ガングリオシドーシス神経変性分子機構に基づく新しい治療法の開発  
：檜垣克美、難波栄二(鳥取大学・生命機能研究支援センター)

13 : 10

Ⅲ. 新規治療法の開発Ⅱ

座長：難波 栄二(鳥取大学・生命機能研究支援センター)

- 1) ラロニダーゼ(組み換えヒト $\alpha$ -L-イズロニダーゼ)の酵素学的性状と細胞への投与効果  
：櫻庭 均(明治薬科大学・分析化学教室)
- 2) 細胞遺伝子療法のカリヤー細胞の開発研究：羊膜サイドポピュレーション細胞分画の濃縮方法  
：桜川宣男(北里大学医療衛生学部・再生医学寄附講座)
- 3) ムコ多糖症の包括的診断、治療に関する研究  
：田中藤樹、奥山虎之(国立成育医療センター、遺伝診療科)

13 : 40

Ⅳ. ライソゾーム病の疫学

座長：酒井 規夫(大阪大学・医学研究科小児科学)

- 1) ファブリー病ヘテロ患者の臨床像  
：小林正久、井田博幸、大橋十也、衛 藤義勝(東京慈恵会医科大学 小児科/DNA 医学研究所)
- 2) ムコ多糖症Ⅰ型/Ⅱ型の疫学  
：鈴木康之(岐阜大学・医学部医学教育開発研究センター)
- 3) ムコ多糖症の知能障害の臨床像  
：田中あけみ(大阪市立大学大学院・医学研究科発達小児医学)
- 4) ファブリー病患者における健康関連 QOL の調査研究  
：坪井一哉(名古屋セントラル病院・血液内科)

★ ☆ 休 憩 ☆ ★

14 : 35

Ⅴ. ライソゾーム病治療のバイオマーカーの開発

座長：高橋 勉(秋田大学・医学部生殖発達医学)

- 1) ライソゾーム病の診断、治療に関する研究  
：芳野 信(久留米大学・医学部小児科学)

## VI. ライソゾーム病への造血幹細胞移植の評価、ガイドラインの作成

座長：高橋 勉(秋田大学・医学部生殖発達医学)

### 1) わが国における先天性代謝異常疾患に対する造血幹細胞移植

：加藤俊一(東海大学医学部・基盤診療学系再生医療科学)

14 : 55

## VII. ライソゾーム病の病態の解析

座長：桜川宣男(北里大学医療衛生学部・再生医学寄附講座)

### 1) I-cell 病の病態解析

：大友孝信、酒井規夫(大阪大学・医学研究科小児科学)

### 2) ニーマンピック病 A/B 型細胞における脂質輸送調節

：高橋 勉(秋田大学・医学部生殖発達医学)

### 3) 新生児聴覚スクリーニングを契機に発見された、GM1 ガングリオシドーシスの一例

：高柳正樹(千葉県こども病院・医療局)

### 4) Brainstem pathology of a model mouse of Niemann-Pick disease type C.

：Luan Zhuo<sup>1)</sup>、齊藤義朗<sup>1)</sup>、大濱栄作<sup>2)</sup>、大野耕策<sup>1)</sup>(鳥取大学医学部脳神経小児科<sup>1)</sup>、脳神経病理<sup>2)</sup>)

### 5) スフィンゴ糖脂質代謝異常モデルマウスの作成と脳病態の解析

：松田純子(東海大学・未来科学技術共同研究センター)

終了予定 16 : 00

# 分担研究報告書

I. ライソゾーム病の病像：自然歴、治療効果、  
QOL やスクリーニング関連調査

## ファブリー病患者における健康関連 QOL の調査研究

分担研究者：坪井 一哉(名古屋セントラル病院 血液内科)

### 研究要旨

ファブリー病はリソソーム水解酵素の1つである $\alpha$ -galactosidase活性が正常値より不足あるいは欠損しているため、全身の血管壁、血管内皮系細胞、一部の神経系など多くの組織・体液中に globotriaosylceramide (GL-3) などの糖脂質が蓄積する糖脂質代謝異常症である。遺伝子座は X 染色体 (Xq21.33-q22) で、遺伝形式は X 連鎖劣性遺伝である。ヘミ接合体の男性では四肢疼痛、被角血管腫、低汗症、角膜混濁、心・腎および脳血管障害などが出現し、ヘテロ接合体の女性では無症状のものから重症のものまで多様である。今回、“ファブリー病患者と家族の会”の協力のもと、無記名アンケート形式にて健康関連 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 Fabry-QOL 調査票を作成し使用した。また、16 歳以上の方に対しては包括的尺度として SF-36ver2 日本語版を使用し、ファブリー病患者における健康関連 QOL の評価を行った。解析の結果として平成 17 年度に報告したポンペ病、および、平成 18 年度に報告したゴーシェ病患者と同様に本疾患においても、国民標準値に比べ身体的健康度および精神的健康度は共に低下が認められた。身体的健康度の低下の要因としては、四肢の疼痛、発汗障害、心機能障害、腎機能障害などが重要な因子として考えられた。また、精神的健康度の低下に関しては、病気や治療、結婚、遺伝など多くの不安を抱えていることが以前報告したポンペ病患者、およびゴーシェ病患者と同様に今回の調査でも明らかになった。

### A. 研究目的

ファブリー病はリソソーム水解酵素の1つである $\alpha$ -galactosidase活性が正常値より不足あるいは欠損しているため、全身の血管壁、血管内皮系細胞、一部の神経系など多くの組織や体液中に globotriaosylceramide (GL-3) などの糖脂質が蓄積する糖脂質代謝異常症である。遺伝子座は X 染色体 (Xq21.33-q22) で、遺伝形式は X 連鎖劣性遺伝である。ヘミ接合体の男性では四肢疼痛、被角血管腫、低汗症、角膜混濁、心・腎および脳血管障害などが出現し、ヘテロ接合体の女性では無症状のものから重症のものまで多様である。本疾患の推定発症率は、欧米男性において、およそ 4 万人に 1 人と報告されている。

酵素補充療法は 1998 年に米国で遺伝子組換えヒト $\alpha$ -galactosidaseの第 1/2 相臨床試験が開始さ

れ、翌年には欧米で第 3 相臨床試験が開始となった。その後、2001 年には欧州で、2003 年には米国で承認され発売が開始された。本邦では 1999 年に希少疾病用医薬品の指定を受け、2000 年に臨床試験が開始され、2004 年 1 月に承認、4 月に販売された。現在(2008 年 2 月)、本邦では約 300 名の方が酵素補充療法を受けている。

本研究の目的は、臨床疫学調査として、ファブリー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、現在行われている酵素補充療法の有効性、古典型、ヘテロ型などなど各種の病態における治療の適応や開始時期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、生命に関与する疾病・症状の除