

## ムコ多糖症Ⅶ型、クラッペ病への遺伝子・細胞治療に関する基礎的研究

主任研究者:衛藤義勝(東京慈恵会医科大学教授)

### 研究要旨

ムコ多糖症Ⅶ型(MPSⅦ)、およびクラッペ病は、リソソーム性分解酵素欠損による常染色体劣性遺伝病である。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 MPSⅦ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。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。

### 研究協力者

小林博司(東京慈恵会医科大学講師)

有賀賢典(同大学助教)

横井貴之(同助教)

と抗生物質とを加えた DMEM(D-10)培地を用いて、5%二酸化炭素の環境下において、37℃で培養した。これに対し組替えウイルスを希釈を系列を作って感染させ、GFP および欠損酵素の力価を計測した。

### A. 研究目的

ムコ多糖症およびクラッペ病の根本的治療のひとつとしての有効な遺伝子治療の開発

3. 新生児マウスへの投与:

日令 0-2 の新生児マウスの顔静脈へ作成した組替えウイルスを静脈注射し、1 週間で臨床所見、病理、肝臓での欠損酵素およびレポーター遺伝子発現を評価した。

### B. 研究方法

#### 1. 組換えレンチウイルス

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 MPSⅦ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た。

4. 骨髄移植:

8 週令の若年正常マウスから採取した正常骨髄を日令 0-2 の新生児マウスの顔静脈を介して移植。

#### 2. 細胞培養

実験に使用する 293A 細胞は 10%ウシ胎児血清

### C. 結果

1. MPSⅦの欠損酵素 HBG を組み込んだウイルスを感染させた細胞株(293A)は HBG と GFP 両方の発現が容量依存性に見られ、FITC フィ

ルタを用いた蛍光顕微鏡では GFP 発現細胞を数多く確認できている。現在モデルマウスへの遺伝子導入を検討中である。

2. Krabbe 病の欠損酵素 GALC を組み込んだウイルスを感染させた細胞株(293A)では GALC, GFP 両方の発現が見られ、さらにモデルマウスへの新生児注射では 1 週間後の肝において正常の 10%の酵素活性が得られた。しかし病理上の改善は得られておらず、今後の検討が必要と考えられた。さらに Krabbe 病の新生児マウスへの骨髄移植は酵素活性の上昇のみで病理学的改善は得られなかった。

#### D. 考 察

今回我々は MPSVII、Krabbe の二疾患に対する遺伝子治療の検討を行ったが、レンチウイルスベクターのタイターが十分でなく、今後その改善に向けて検討を重ねていく。さらに ex vivo gene therapy として遺伝子導入した骨髄幹細胞を使用する方策も検討中である。

#### E. 健康危険情報

該当なし

#### F. 研究発表

1. 小林博司, 森田麻子, ほか: Lentivirus mediated gene therapy for Krabbe disease (口演). 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所 遺伝子治療研究部 第 13 回日本遺伝子治療学会(名古屋), 2007.6.30.
2. 有賀賢典, 小林博司, 大橋十也ほか: レンチウイルスベクターを用いたムコ多糖症VII型の遺伝子治療(口演). 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所 遺伝子治療研究部 第 49 回日本先天代謝異常学会(山形), 2007.11.16.
3. 横井貴之, 清水寛美, 飯塚佐代子, 小林博司, ほか: 新生児 Twitcher Mouse への BMT の効果の検討(口演). 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所 遺伝子治療研究部 第 49 回日本先天代謝異常学会(山形), 2007.11.15.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## 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

分担研究者：桜川宣男(北里大学医療衛生学部再生医学寄附講座)

### 研究要旨

ライソゾーム病の欠損遺伝子を導入した羊膜上皮細胞の移植による治療効果は動物実験(MPSVII型)にて証明された。我々は、羊膜間葉細胞から幹細胞(SP細胞)の分離、培養に成功した。さらに細胞の集率を高める方法を確立したので報告する。そして、SP細胞が、筋細胞への分化誘導実験を行い、示唆的な所見を得た。本細胞は神経、骨、軟骨、脂肪細胞への分化する細胞であることを報告したが、今回はさらに筋肉細胞への誘導の可能性が示唆された。羊膜由来の幹細胞は、他家移植による急性拒絶を誘発しなく、遺伝子導入も可能な細胞であることより、ライソゾーム病の細胞療法に有望な細胞と考える。

### A. 研究目的

羊膜細胞は他家移植による急性拒絶を誘発しない細胞であり、ライソゾーム病の細胞遺伝子治療に有望な候補遺伝子である。我々は羊膜間葉細胞(AMC)から幹細胞(SP細胞)の分離、培養に成功した。今回は、さらに集率を高める方法を開発し、筋肉への分化誘導を試みたので報告する。

### B. 研究方法

羊膜間葉細胞(AMC)およびそのSP細胞の分離、培養：従来の方法(論文1)で行った。胎盤は下記の倫理面に配慮して入手した。

#### 1. 細胞の集率を高める実験

AMCを分離後に、 $3\mu\text{m}$ の孔を有するTranswell® Insert (TI, Corning)上に播種して培養した。10日後に、TIの上および下から各々の細胞を回収し、FACSにてSP細胞を解析した。

#### 2. AMC-SP細胞の骨細胞への分化誘導

Passage Number(PN)5からPN7のAMC-SPを、20% FBS含有DMEM/F12にて培養面の9割となるまで培養し、骨格筋誘導培地に培地交換

した。14日間から21日間、誘導培養を行った。

またコントロール培地には5% FBS含有DMEM/F12を用いた。培養は全て $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 条件下で行った。

#### 3. ラット胸腺筋様細胞との共培養によるAMC-SPの分化誘導

PN9からPN11のAMC-SPとラット胸腺筋様細胞を、それぞれが2000個/ $\text{cm}^2$ となるように播種し、20% FBS含有DMEM/F12を用いて $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 条件下で共培養を行った。共培養開始3日後に1×Insulin/Transferrin/Selenium (ITS、GIBCO)含有DMEM/F12に培地交換し $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 条件下で培養を行った。10日目まで共培養を継続した。

#### 4. 骨格筋関連マーカーの発現解析

一次抗体は、抗Pax3抗体、抗MyoD1抗体、抗Myf-5抗体、抗Myogenin抗体、抗Desmin抗体、抗Myosin抗体、抗ヒト核抗体を用いて、従来の免疫染色法により解析した。

## 5. 骨格筋関連遺伝子の発現解析

発現解析対象とした遺伝子のプライマー(MyoD, Desmin, Myosin)を用いて、RT-PCRによる従来の方法に従って解析した。

(倫理面への配慮)

産婦人科医がインフォームドコンセントを施行し、予定帝王切開分娩時に胎盤の提供を受ける。

## C. 研究結果

### 1. 細胞の集率を高める実験

TI (Corning) 上に播種して培養し、TI上の細胞とTI下の細胞を回収してFACSで解析した。TIの上と下におけるSP細胞の割合はそれぞれ1.0%、0.6%であり、TI培養を行わないhAMCにおけるSP細胞の割合(0.2%)と比較すると、有意に上昇していた。FACSで解析において、Hoechst Blue染色の蛍光強度の低い細胞(未分化能が高い)が得られた。

### 2. AMC-SPの骨格筋細胞への分化誘導

骨格筋に関連するマーカーの発現を解析したところ、Pax3およびMyf-5の発現が確認された。骨格筋誘導培地(FBS, HS, Hyd, Dex, TGF-beta含有)を用いた場合に、誘導14日目に骨格筋様の形態が確認された。免疫染色では、誘導14日目においてDesminの発現が確認され、誘導21日目においてDesminの発現量の増加が確認された。一方、Control培地で培養した本細胞は、21日間培養した後でもDesminの発現が認められなかった。

### 3. ラット胸腺筋様細胞との共培養実験

骨格筋細胞への高い分化能を有することが報告されているラット胸腺筋様細胞との共培養による骨格筋分化誘導実験を行った。共培養10日目に骨格筋繊維構造が確認された。この細胞に対して抗ヒト核抗体を用いた免疫染色により、本細胞の1つの細胞質に多数の核が存在していることが認められた。また、共培養5日目の細胞に対して、

RT-PCRにより骨格筋分化関連遺伝子であるMyoD1、Desmin、Myosinの発現を解析した結果、AMC-SPとラット胸腺筋様細胞との共培養のみでMyoD1、Myosinの発現した。またDesminは、AMC-SPでも発現しているが、共培養では強発現した。

## D. 考察

骨髄細胞を3 $\mu$ mの孔を有するTranswell® Insert (TI) 上で培養(TI培養)すると、細胞のサイズと遊走性の違いによりTI上に多能性の幹細胞を分離できるとの報告がある。そこでSP細胞の集率を高める目的で、TI培養をAMCに応用した。AMCをTI培養したところ、TI培養を行わない場合と比べてSP細胞の集率が著明に増加した。即ち、通常は体細胞からのSP細胞は0.02~0.05%であり、AMC-SPは0.2%であることと比較すると、TI培養のSP細胞は約5倍に増加した。本方法を用いることにより、SP細胞(幹細胞を含む細胞集団)を高い集率で採取できることは、細胞療法の基礎技術として大きく貢献すると考える。

AMC-SPの骨格筋マーカー発現解析の結果、骨格筋分化のマスター遺伝子であるPax3、Myf-5の発現が確認された。また、骨格筋誘導培地によりAMC-SPは骨格筋繊維様の構造を示し、筋肉細胞マーカーであるDesminを発現した。さらに、ラット胸腺筋様細胞との共培養によりAMC-SPは多核構造と骨格筋繊維構造を示し、Desminと骨格筋分化のマスター遺伝子であるMyoD1、骨格筋構造タンパク質であるMyosinを発現した。これらのことから、AMC-SPは骨格筋細胞への分化能を有することが明らかとなった。

一方、筋ジストロフィーマウス(Mdxマウス)への骨髄由来の幹細胞の移植実験が有効であることが示されている。本研究において、AMC-SPとラット胸腺筋様細胞との共培養により、AMC-SPは骨格筋環境下において高い骨格筋分化能を示すことが考えられ、Mdxマウスへの移植による治療効果が期待される。

## E. 結 論

AMC を TI 培養することで SP 細胞を多く含む細胞集団を分離できることが明らかとなった。そして AMC-SP は骨格筋細胞への分化誘導できることが判明した。

AMC-SP は、他家移植による急性拒絶を誘発しない細胞である自己複製能をもつ細胞である。そして神経細胞、骨、軟骨、脂肪細胞へ分化誘導される細胞であることを報告したが、今回の研究からは筋細胞への分化する多分化能をもつ幹細胞であることを証明した。

胎盤から分離、培養される羊膜由来細胞は、倫理的に問題が少なく、供給も豊富であり、遺伝子導入も容易であることより、細胞遺伝子療法の有望な候補細胞である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kobayashi M, Yakuwa T, Sasaki K, Sato K, Kikuchi A, Kamo I, Y. Yokoyama Y, Sakuragawa N : Multilineage potential of side population cells from human amnion mesenchymal layer. *Cell Transplantation*, In press.
- 2) Parolini O, Alviano F, Bagnara GP, Bilic G, Büuhring HJ, Evangelista M, Hennerbichler S, Liu B, Magatti M, Mao N, Miki T, Marongiu F, Nakajima H, Nikaido T, Portmann-Lanz CB, Sankar V, Soncini M, Stadler G, Surbek D, Takahashi TA, Redl H, Sakuragawa N, Wolbank S, Zeisberger S, Zisch A, Strom SC. Concise review : isolation and characterization of cells from human term placenta : outcome of the first international Workshop on Placenta Derived Stem Cells. *Stem Cells*. 2008 Feb ; 26(2) : 300-11.

### 2. 学会発表

- 1) 小林 護、横山安伸、菊池愛子、加茂 功、佐

藤嘉兵、桜川宣男：可溶化羊膜コーティングは間葉系細胞の増殖を促進する。第 25 回日本ヒト細胞学会。2007.8.3. 東京

- 2) 小林 護、佐藤嘉兵、桜川宣男：ヒト羊膜からの未分化能細胞の分離とその多分化能。第 25 回日本受精着床学会、仙台、2007.8.30.
- 3) 小林 護、辻 麻美、佐藤嘉兵、櫻川宣男：羊膜上皮細胞を用いたマウス GV 期卵子の体外成熟に関する検討。第 22 回日本生殖免疫学会総会、東京、2007.12.1
- 4) Yamasaki J, Okahara-Narita J, Iwatani C, Tsuchiya H, Sakuragawa N, Torii R : Effect of epidermal growth factor of in vitro maturation of cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) oocytes. USA, 2008.1
- 5) Yuki Kitahara, Mamoru Kobayashi, Ming Cong Wang, Hiroko Taniguchi, Shuhei Kameya, Hiroshi Takahashi, Norio Sakuragawa, Junko Hori : Antigenicity of human amnion mesenchyme cell-derived side population cells in xenogeneic subretinal transplantation. ARBO , Florida, USA, 2008.4
- 6) 丸山直子、大金由香里、北堀泰広、小久保健一、小林 護、桜川宣男、小林弘祐：低酸素下におけるヒト羊膜間葉系幹細胞の血管内皮細胞への分化誘導。第 7 回 日本再生医療学会総会、名古屋、2008.3.13

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

- 1) 歯の製造方法および歯形成用間葉細胞  
出願人：東京理科大学、北里学園、(株)ニデック  
発明者：辻 孝、桜川宣男  
特 願：2007-049128  
出願日：2007/2/28
- 2) サイドポピュレーション細胞分画の濃縮方法  
出願人：北里学園、(株)ニデック  
発明者：横山安伸、桜川宣男

特 願：2007-107812

出願日：2007/4/17

3) 可溶化羊膜組成物およびその用途

出願人：北里学園、(株)ニデック

発明者：加茂 功、桜川宣男

特 願：2007-108077

出願日：2007/4/17

4) 未成熟卵子の体外成熟培養用添加剤及びそれを用いた成熟卵子の作出方法

出願人：滋賀医科大学、北里学園、(株)ニデック

発明者：鳥居隆三、桜川宣男、小林 護

特 願：2007-165929

出願日：2007/6/29

2. 実用新案登録：なし

3. その他：なし

## 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

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(東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学・講師)

研究協力者：清水崇史(東海大学医学部専門診療学系小児科学・講師)

研究協力者：高倉広充(東海大学医学部専門診療学系小児科学・助教)

### 研究要旨

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)、全体の約半数を占めていた。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。

初回移植のドナーは77例が血縁者(同胞64例、父親7例、母親6例)、72例で非血縁者であり、111例でHLAが一致していた。移植細胞源は122例で骨髄、1例は末梢血幹細胞、1例で骨髄+末梢血幹細胞、25例で臍帯血であった。

115例(77.2%)では初回移植でドナー由来の生着が得られ、24例(16.1%)では拒絶されていたが、15例で再移植、1例では再々移植が行われ、最終的には120例(80.5%)が生存中で、29例(19.5%)が死亡していた。

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。

### A. 研究目的

本分担研究における目的は先天代謝異常症における造血幹細胞移植の成績を後方視的に解析し、標準的治療法を開発することにある。本年度はこれまでわが国において実施された先天性代謝異常疾患に対する造血幹細胞移植について詳細な解析を行うことを目的とした。

### B. 研究方法

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。

なお、データの利用にあたっては日本小児血液学会造血幹細胞移植委員会ならびに造血幹細胞移植全国収集データ管理委員会の承認をえて、匿名化されたデータのみを解析した。

## C. 研究結果

### 1. 移植概況

1985～2005年の期間にわが国において実施された先天性代謝異常疾患における造血幹細胞移植症例は149例で、再移植が15回、3回目の移植が1回行われていた。

移植実施施設は35施設で、1施設あたりの移植回数は40回以上が1施設、15～20回が2施設、5～10回が3施設、5回未満が29施設であった。

### 2. 症例概要

対象となった疾患はムコ多糖症(以下 MPS)72例(I型12例、IS型4例、II型44例、III型2例、IV型4例、VI型4例、VII型2例)、副腎白質ジストロフィー(以下 ALD)45例、I-cell病6例、異染色性ロイコジストロフィー(以下 MLD)7例、Gaucher病4例、GM1 gangliosidosis 4例、Krabbe病4例、Nieman-Pick病3例、その他4例(Galacto-sialidosis, Alfa-Mannosidosis, Pompe病, multiple sulfatase deficiency)であった。

患者の性別は男性121例、女性28例で、初回移植時の年齢は0歳6例、1歳11例、2歳24例、3歳12例、4歳17例、5歳11例、6歳13例、7歳12例、8歳11例、9歳8例、10歳以上24例であった。

### 3. ドナーおよび移植細胞源

初回移植時のドナーは77例が血縁者(同胞64例、父親7例、母親6例)、72例で非血縁者であり、111例でHLAが一致していた。

移植細胞源は122例で骨髄、1例は末梢血幹細胞、1例で骨髄+末梢血幹細胞、25例で臍帯血であった。

### 4. 生着

115例(77.2%)では初回移植でドナー由来の生着が得られ、24例(16.1%)では拒絶され、10例では評価不能であった。生着に対して有利に有意の相関を示していた因子としては、移植細胞源と

しての骨髄(臍帯血に対して)、同胞ドナー、HLA適合ドナーなどであった。

### 5. 生存率

149例中120例(80.5%)が生存中で、29例(19.5%)が死亡した。

初回移植の粗生存率(OS)と無イベント生存率(EFS、ドナー細胞の永続的な生着が得られた生存率)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。

## D. 考察と結論

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は1985年のI-cell病に始まり、以後徐々にではあるが移植症例数が増加し、2005年までに149例での移植が報告されている。

諸外国と比較をすると、移植の対象となった疾患構成の比率に特徴がある。

最も多数を占めるMPSでは、白人集団ではI型のHurler病の頻度が高いのに対して日本などのアジア人ではII型のHunter病の頻度が高い。そのため、MPSの移植全体に占めるII型の割合が61%と半数以上となっている。

MPSIIと次いで多数を占めるALDはともにX連鎖劣性遺伝形式をとり、男児にのみ発症することから、全体の男女比において圧倒的に男性が多くを占める結果となっている。

移植実施施設をみると、40例以上の移植を実施している施設が1施設、15～20例の移植が2施設で、これら3施設で全体の半数以上を実施している。先天性代謝異常疾患における移植では白血病などとは異なった特殊性があることから、一部の施設に集中することは当然のことと考えられる。

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。

#### E. 健康危険情報

該当なし。

#### F. 研究発表

##### 1. 学会発表

- 1) Kato S, Yabe H, Takakura H, et al. H SCT for inborn errors in metabolism ; A national survey in Japan. International Symposium of Lysosomal Storage Diseases. November 30, 2007, Tokyo.
- 2) Takakura H, Shimizu T, Kato S, et al. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for inborn errors in metabolism ; A national survey in Japan. ASBMT, February 14, 2008, San Diego.

##### 2. 論文

- 1) 加藤俊一. 副腎白質ジストロフィーにおける造血幹細胞移植. BRAIN and NERVE、59 : 339-346, 2007.
- 2) Ishiguro H, Yasuda Y, Tomita Y, Shinagawa T, Shimizu T, Morimoto T, Hattori K, Matsumoto M, Inoue H, Yabe H, Yabe M, Shinohara O, Kato S. Gonadal shielding to irradiation is effective in protecting testicular growth and function in long-term survivors of bone marrow transplantation during childhood or adolescence. Bone Marrow Transplant 39 : 483-90, 2007.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得 なし

実用新案登録 なし

その他 なし

# 研究成果一覽

## 衛藤 義勝

### 【論文発表】

1. Ohashi T, Iizuka S, Ida H, et al : Reduced  $\alpha$ -Gal A enzyme activity in Fabry fibroblast cells and Fabry mice tissues induced by serum from antibody positive patients with Fabry disease. *Mol. Genet. Metab.* in press, 2008.
2. Shiba H, Okamoto T, Futagawa Y, et al : Adenovirus vector-mediated gene therapy using iodized oil esters for hepatocellular carcinoma in rats. *Anticancer research* 28 : 51-54. 2008
3. 衛藤義勝 : 質疑応答『ムコ多糖症の概要と治療』 日本医事新報 第 4371 号 1 月号 : 95~6, 日本医事新報社, 2008 年
4. Kobayashi M, Ohashi T, Sakuma M, et al : Clinical manifestations and natural history of Japanese heterozygous females with Fabry disease. *J Inherit Metab Dis.* 2008 Jan 21
5. 藤原優子, 大橋十也, 小林正久, 他 : Fabry 病の心病変に対する酵素補充療法の効果 : 男女間での臨床経過の比較. *東京慈恵会医科大学雑誌* 122 : 295-304, 2007
6. Fujimoto K, Sasaki T, Hiki Y, et al : In vitro and Pathological Investigations of MODY5 with the R276X-HNF1beta (TCF2) Mutation. *Endocr J.* Dec 54 : 757-64, 2007
7. Nemoto M, Nishimura R, Sasaki T, et al : Genetic association of glutathione peroxidase-1 with coronary artery calcification in type 2 diabetes : a case control study with multi-slice computed tomography. *Cardiovasc Diabetol.* 7 : 6 : 23, 2007
8. Ohashi T, Sakuma M, Kitagawa T, et al : Influence of antibody formation on reduction of globotriaosylceramide (GL-3) in urine from Fabry patients during agalsidase beta therapy. *Mol Genet Metab.* 92 : 271-3, 2007
9. Miyata I, Yoshikawa H, Ikemoto M, et al : Right testicular necrosis and left vanishing testis in a neonate. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 20 : 449-54, 2007
10. 衛藤義勝 : Fabry 病の酵素療法はどのくらい有効か. *EBM 神経疾患の治療 2007-2008*, 中外医学社, 279-283, 2007 年
11. 衛藤義勝 : 蛋白尿, 頭痛, 四肢の激痛で来院した 26 歳男性, *New 専門医を目指すケース・メソッド・アプローチ 5 腎臓疾患*, 106-113, 日本医事新報社 2007 年
12. 衛藤義勝 : リソゾーム病. *月間臨床神経科学*, 第 25 卷 11 号, 1280-1282, 中外医学社, 2007 年.
13. 衛藤義勝 : 脳治療は可能か? 遺伝性脳変性疾患の治療の最近の進歩, *脳と発達*, 第 39 卷 2 号 87-92, 2007 年.

### 【講演】

1. Eto Y : Enzyme Replacement Therapy in Fabry Disease, UCLA Children Hospital Seminar, USA, Feb.2007
2. Eto Y : Recent advances of the treatment for Genetic diseases, Asian Congress of Pediatrics, Colombo, Mar. 2007
3. Eto Y : Treatment for Lysosomal Storage Disease, Chinese Society meeting of Lysosomal Storage Disease, Shanghais , Mar. 2007
4. 衛藤義勝 : 遺伝性神経疾患の治療は可能か? 南東北講演会. 郡山, 2007.6.14
5. Eto Y : New Strategy for the Treatment of Genetic Disease, the 24th International Congress of

Pediatrics, Athens, Greece, 2007.9.1

6. 衛藤義勝：ファブリ病の酵素治療の進歩. 第52回日本人類遺伝学会講演. 東京, 2007.9.14
7. 衛藤義勝：ポンペ病の最近の進歩. 厚生労働省難病克服事業. 筋ジストロフィー班会議 講演, 浦和, 2007.9.22
8. 衛藤義勝：ファブリ病の最近の進歩. 東日本皮膚科学会. 札幌, 2007.9.23
9. 衛藤義勝：ファブリ病の酵素補充療法—最近の進歩. 住友ファブリ病フォーラム. 東京, 2007.9.30
10. Eto Y : Current Status of Enzyme Replacement Therapy of LSD in Japan, International Symposium of LSD, Maihama, Nov. 2007
11. 衛藤義勝：ファブリ病の酵素補充療法—最近の進歩. 第28回日本小児脂質研究会, 東京. 2007.12.8

#### 【学会発表】

1. 小林博司, 大橋十也, 森田麻子, 衛藤義勝 : Lentivirus mediated gene therapy for Krabbe disease. 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部 第13回日本遺伝子治療学会. 名古屋, 2007.6.30
2. 有賀賢典, 小林博司, 大橋十也, 森田麻子, 飯塚佐代子, 衛藤義勝 : レンチウイルスベクターを用いたムコ多糖症Ⅶ型の遺伝子治療. 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部 第49回日本先天代謝異常学会. 山形, 2007.11.16
3. 横井貴之, 清水寛美, 飯塚佐代子, 小林博司, 大橋十也, 福田隆浩, 衛藤義勝 : 新生児 Twitcher Mouse への BMT の効果の検討. 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部. 第49回日本先天代謝異常学会. 山形, 2007.11.15

鈴木 義之

#### 【論文発表】

1. Ichinomiya S, Watanabe H, Maruyama K, et al : Neurological assessment of GM1-gangliosidosis model mice. *Brain Dev* 29 : 210-216, 2007.
2. Ogawa S, Kanto M, Suzuki Y : Development and medical application of unsaturated carboglycosylamine glycosidase inhibitors. *Mini-Rev Med Chem* 7 : 679-691, 2007.
3. Lei K, Ninomiya H, Suzuki M, et al : Enzyme enhancement activity of N-octyl- $\beta$ -valienamine on  $\beta$ -glucosidase mutants associated with Gaucher disease. *Biochim Biophys Acta* 1772 : 587-596, 2007
4. Suzuki Y, Ichinomiya S, Kurosawa M, et al : Chemical chaperone therapy : clinical effect in murine GM1-gangliosidosis. *Ann Neurol* 62 : 671-675, 2007 (Online, November 9, 2007).
5. Suuki Y : Chemical chaperone therapy for GM1-gangliosidosis. *Cell Molec Life Sci Online*, January 18, 2008.
6. Takamura A, Higaki K, Kajimaki K, et al : Enhanced autophagy and mitochondrial aberrations in murine GM1-gangliosidosis. *Biochem Biophys Res Commun*, in press.

## 芳野 信

### 【論文発表】

1. Yoshino M, Watanabe Y, Tokunaga Y et al : Roles of some cytokines in bone remodeling and hematopoiesis in Gaucher disease. *Pediatr Int* 49 : 959-965, 2007.

### 【学会発表】

1. Otomo T, Muramatsu T, Inui K, Yorifuji T, Nakabayashi H, Ohura T, Yoshino M, Tanaka A, Okuyama T, Ozono K, Sakai N : Mutation analysis of GNPTAB gene in 24 Japanese mucopolipidosis II and III patients. Annual symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism 2007. 9. 4-7 (Hamburg)
2. Yoshino M, Watanabe Y, Tajima A, Ida H, Eto Y : Cytokines and Bone remodeling in Gaucher disease. International Symposium of Lysosomal Storage Diseases 2007.11.29-11.30 (Makuhari)
3. Otomo T, Muramatsu T, Inui K, Yorifuji T, Nakabayashi H, Ohura T, Yoshino M, Tanaka A, Okuyama T, Ozono K : Mutation analysis of GNPTAB gene in 36 Japanese mucopolipidosis II and III patients : genotype phenotype correlation? International Symposium of Lysosomal Storage Diseases 2007.11.29-11.30 (Makuhari)

## 田中あけみ

### 【論文発表】

1. 田中あけみ : ムコ多糖症治療法の進歩. *日本小児科学会雑誌* 111(10) : 1255-62, 2007.

### 【書籍】

1. 田中あけみ, *小児内科 2007 増刊号 「小児中枢神経疾患の画像診断」* ガングリオシドーシス pp. 488-92

## 島田 隆

### 【論文発表】

1. Kurai, T., Hisayasu, S., Kitagawa, R., et al. : AAV1 mediated co-expression of formylglycine-generating enzyme and arylsulfatase A efficiently corrects sulfatide storage in a mouse model of metachromatic leukodystrophy. *Mol. Ther.* 15 : 38-43, 2007.
2. Yasuda, T., Miyachi, S., Kitagawa, R., et al. : Neuronal specificity of  $\alpha$ -synuclein toxicity and effect of Parkin co-expression in primates. *Neuroscience* 144 : 743-745, 2007.
3. Kitagawa, R., Miyachi, S., Hanawa, H., et al. : Differential Characteristics of HIV-based vs. SIV-based lentiviral vector systems : gene delivery to neurons and axonal transport of expressed gene. *Neuroscience Res.* 57 : 550-558, 2007.
4. Miyake, K., Miyake, N., Shimada, T. : Development of targeted gene transfer into human

- primary T lymphocytes and macrophages using high-titer recombinant HIV vectors. *J. Biotech.* 129 : 532-8, 2007.
5. Watanabe, A., Yamamasu, S., Shinagawa, T., et al. : Prenatal genetic diagnosis of severe perinatal (lethal) hypophosphatasia. *J Nippon Med Sch.* 74 : 65-9, 2007.
  6. Watanabe A., Kosho, T., Wada, T., et al. : Genetic aspects of the vascular type of Ehlers-Danlos syndrome (vEDS, EDSIV) in Japan. *Circ J.* 71 : 261-5, 2007.
  7. Tahara, I., Miyake, K., Hanawa, H., et al. : Systemic Cancer Gene Therapy Using Adeno-associated Virus Type 1 Vector Expressing MDA-7/IL24. *Mol Ther.* 15 : 1805-1811, 2007.
  8. Miyake, K., Inokuchi, K., Miyake, N., et al. : HIV vector mediated targeted suicide gene therapy for adult T-cell leukemia. *Gene Ther.* 14 : 1662-1667, 2007.
  9. Kato, s., Inoue, K., Kobayashi, K., et al. : Efficient Gene Transfer via Retrograde Transport in Rodent and Primate Brains by an HIV-1-Based Vector Pseudotyped with Rabies Virus Glycoprotein. *Hum. Gene Ther.* 18 : 1141-1151, 2007.
  10. Kawakami, T., Kanazawa, H., Satoh, T., et al. : AAV-PGIS gene transfer improves hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 363 : 656-661, 2007.

#### 【書籍】

1. 島田 隆 : レトロウイルスベクター「バイオ医薬品の開発と品質・安全性確保」早川堯夫監修, エル・アイ・シー, 東京, p578-598, 2007.

#### 酒井 規夫

##### 【論文発表】

1. Shimotori M, Maruyama H, Nakamura G, et al : Novel mutations of the GLA gene in Japanese patients with Fabry disease and their functional characterization by active site specific chaperone., *Hum Mutat.* 29(2) : 331. 2008
2. 酒井規夫 : 先天代謝異常, ムコ多糖症, *小児内科*, 38 : 169-170, 2006
3. 酒井規夫 : 日常診療での先天代謝異常症, 神経症状で見つかる先天代謝異常症, *小児科診療*, 69(11) : 1579-1583, 2006
4. 酒井規夫 : ムコリポドーシス, *小児内科*, 39 増刊号 : 505-507, 2007

#### 高柳 正樹

##### 【学会発表】

1. 高柳正樹, 村山 圭, 水落弘美 : 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. 第 49 回日本先天代謝異常学会. 山形, 2007. 11

2. 村山 圭, 水落弘美, 高柳正樹 : 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. 第 34 回日本マススクリーニング学会. 千葉, 2007. 09

## 大野 耕策

### 【論文発表】

1. Luan Z, Saito Y, Miyata H, Ohama E, et al : Brain Nueropathology in a mouse model of Niemann-Pick disease type C. J Neurol Sci. in press, 2008.
2. Takamura A, Higaki K, Kajimaki K, et al : Enhanced autophagy and mitochondrial aberrations in murine GM1-gangliosidosis. Biochem Biophys Res Commun, in press. 2008.
3. Lei K, Ninomiya H, Suzuki M, et al : Enzyme enhancement activity of N-octyl-beta-valienamine on beta-glucosidase mutants associated with Gaucher disease. Biochim. Biophys. Acta 1772(5) : 587-96, 2007.
4. Suzuki Y, Ichinomiya S, Kurosawa M, et al : Chemical chaperone therapy : clinical effect in murine GM1-gangliosidosis. Ann Neurol. 62(6) : 671-5, 2007
5. Suzuki M, Sugimoto Y, Ohsaki Y, et al : Endosomal accumulation of Toll-like receptor 4 causes constitutive secretion of cytokines and activation of signal transducers and activators of transcription in Niemann-Pick disease type C (NPC) fibroblasts : a potential basis for glial cell activation in the NPC brain. J Neurosci. 27(8) : 1879-91, 2007

## 辻 省次

### 【学会発表】

1. 三井 純, 高橋祐二, 伊達英俊, 岩田 淳, 後藤 順, 辻 省次 : パーキンソニズムを呈する疾患患者における Glucocerebrosidase 遺伝子の解析. 第 48 回日本神経学会総会. 名古屋, 2007.5.

## 難波 栄二

### 【論文発表】

1. Suzuki Y, Ichinomiya S, Kurosawa M, et al : Chemical chaperone therapy : clinical effect in murine GM1-gangliosidosis. Ann Neurol 62 : 671-675, 2007
2. Takamura A, Higaki K, Kajimaki K, et al : Enhanced autophagy and mitochondrial aberrations in murine GM1-gangliosidosis. Biochem Biophys Res Commun 28 : 482-486, 2008

## 鈴木 康之

### 【論文発表】

1. Kato T, Kato Z, Suzuki Y et al : Evaluation of ADL in patients with Hunter disease using FIM score. *Brain and Development* 29 : 298-305,2007
2. Ochiai T, Suzuki Y, Kato T, et al : Natural history of extensive Mongolian spots in mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome) : a survey among 52 Japanese patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 21 : 1082-5, 2007.
3. Kuratsubo I, Suzuki Y, Orii KO, et al : Psychological Status of Patients with Mucopolysaccharidosis Type II and their Parents. *Pediatrics International*, in press, 2008.

## 桜庭 均

### 【論文発表】

1. Kawashima I, Ohsawa M, Fukushige T, et al. : Cytochemical analysis of storage materials in cultured skin fibroblasts from patients with I-cell disease. *Clin Chim Acta* 378 : 142-146, 2006.
2. Tajima Y, Matsuzawa F, Aikawa S, et al. : Structural and biochemical studies on Pompe disease and a "pseudodeficiency of acid alpha-glucosidase". *J Hum Genet* 52 : 898-906, 2007.
3. Kawashima I, Watabe K, Tajima Y, et al. : Establishment of immortalized Schwann cells from Fabry mice and their low uptake of recombinant alpha-galactosidase. *J Hum Genet* 52 : 1018-1025, 2007.

## 北川 照男

### 【論文発表】

1. Ohashi T, Sakuma M, Kitagawa T, et al : Influence of antibody formation on reduction of globotriaosylceramide (GL-3) in urine from Fabry patients during agalsidase beta therapy. *Mol Genet Metab*, 92 : 271-3, 2007
2. 北川照男 : Fanconi 型腎性くる病を伴う肝腎型高チロジン血症をめぐって, *小児内科* 39 : 1421-1429, 2007
3. 北川照男 : 糖尿病と私 -学童糖尿病検診の経験から-, 「肥満と糖尿病」, 6 : 533-536, 2007
4. 鈴木健, 笹島薫, 大和田操, 他 : 尿によるウィルソン病スクリーニング法の研究, *日本マススクリーニング学会誌* 17(1) : 21-26, 2007

## 桜川 宣男

### 【論文発表】

1. Kobayashi M, Yakuwa T, Sasaki K, et al. : Multilineage potential of side population cells from



human amnion mesenchymal layer. Cell Transplantation, In press.

2. Parolini O, Alviano F, Bagnara GP, et al. : Concise review : isolation and characterization of cells from human term placenta : outcome of the first international Workshop on Placenta Derived Stem Cells. Stem Cells. 26(2) : 300-11, 2008.

#### 【学会発表】

1. 小林 護, 横山安伸, 菊池愛子, 加茂 功, 佐藤嘉兵, 桜川宣男 : 可溶化羊膜コーティングは間葉系細胞の増殖を促進する. 第 25 回日本ヒト細胞学会. 2007.8.3. 東京
2. 小林 護, 佐藤嘉兵, 桜川宣男 : ヒト羊膜からの未分化能細胞の分離とその多分化能. 第 25 回日本受精着床学会, 仙台, 2007.8.30.
3. 小林 護, 辻 麻美, 佐藤嘉兵, 桜川宣男 : 羊膜上皮細胞を用いたマウス GV 卵子の体外成熟に関する検討. 第 22 回日本生殖免疫学会総会, 東京, 2007.12.1
4. Yamasaki J, Okahara-Narita J, Iwatani C, et al. : Effect of epidermal growth factor of in vitro maturation of cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) oocytes. USA, 2008.1
5. Yuki Kitahara, Mamoru Kobayashi, Ming Cong Wang, et al. : Antigenicity of human amnion mesenchyme cell-derived side population cells in xenogeneic subretinal transplantation. ARBO , Florida, USA, 2008.4.28.
6. 丸山直子, 大金由香里, 北堀泰広, 小久保健一, 小林 護, 桜川宣男, 小林弘祐 : 低酸素下におけるヒト羊膜間葉系幹細胞の血管内皮細胞への分化誘導. 第 7 回 日本再生医療学会総会, 名古屋, 2008.3.13

#### 奥山 虎之

##### 【論文発表】

1. 田中藤樹, 奥山虎之 : ムコ多糖症 II 型の酵素製剤の承認と治療の実際. 難病と在宅ケア in press

#### 坪井 一哉

##### 【論文発表】

1. Tsuboi K : Enzyme Replacement Therapy in Patients with Fabry's Disease The Journal of INTERNATIONAL MEDICAL RESEARCH vol. 35(4) ; 574-581, 2007
2. 坪井一哉 : 本邦における Gaucher 病の病態・診断・治療の現状. 血液フロンティア vol. 17(5) ; 78-87, 2007

##### 【書籍 小冊子】

1. 坪井一哉, 井田博幸 監修 : ゴーシェ病ハンドブック genzyme japan, 東京, 2007
2. 坪井一哉 監修 : ファブリー病と上手につきあう ファブリー病ハンドブック 大日本住友製薬, 東京, 2007

### 【学会発表】

1. 片岡智史, 坪井一哉 : 遅発型 Pompe 病に対する酵素補充療法 : 症例報告. 第 76 回日本交通医学会東海北陸地方会 名古屋, 2007
2. 坪井一哉 : ゴーシェ病における NK 細胞活性および LAK 細胞活性の定量的検討. 第 49 回日本先天代謝異常学会 山形, 2007
3. 片岡智史, 坪井一哉 : 糖原病 II 型(Pompe 病)における酵素補充療法の導入. 第 86 回東海臨床遺伝代謝懇話会 名古屋, 2007
4. 坪井一哉 : ゴーシェ病における NK 細胞活性および LAK 細胞活性の検討. 第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会 合同総会 横浜, 2007
5. 坪井一哉 : ファブリー病 11 症例に対する酵素補充療法の検討. 第 104 回日本内科学会講演会 大阪, 2007
6. 坪井一哉, 鈴木貞夫 : ライソゾーム病患者における公費負担医療に対する調査. 第 17 回日本疫学会 学術総会 広島, 2007

### 松田 純子

#### 【論文発表】

1. Sun Y, Witte DP, Zamzow M, et al. : Combined saposin C and D deficiencies in mice lead to a neuronopathic phenotype, glucosylceramide and  $\alpha$ -hydroxy ceramide accumulation, and altered prosaposin trafficking. *Hum. Mol. Genet.* 16 : 957-971, 2007
2. Matsuda, J., Yoneshige A., Suzuki. K : The function of sphingolipids in the nervous system : Lessons learnt from mouse models of specific sphingolipid activator protein deficiencies. *J. Neurochem.* 103 : 32-38, 2007

#### 【単行本】

1. Matsuda J, Suzuki K. : Krabbe disease (Globoid cell leukodystrophy). *Lysosomal Storage Disorders* edited by Barranger, J., Cabrera-Salazar, M.A., Springer, New York. p269-283, 2007

### 加藤 俊一

#### 【論文発表】

1. 加藤俊一 : 副腎白質ジストロフィーにおける造血幹細胞移植. *BRAIN and NERVE*, 59 : 339-346, 2007.
2. Ishiguro H, Yasuda Y, Tomita Y, et al. : Gonadal shielding to irradiation is effective in protecting testicular growth and function in long-term survivors of bone marrow transplantation during childhood or adolescence. *Bone Marrow Transplant* 39 : 483-90, 2007.

#### 【学会発表】

1. Kato S, Yabe H, Takakura H, et al : H SCT for inborn errors in metabolism ; A national survey in

- Japan. International Symposium of Lysosomal Storage Diseases. November 30, 2007, Tokyo.
2. Takakura H, Shimizu T, Kato S, et al : Hematopoietic Stem Cell Transplantation for inborn errors in metabolism ; A national survey in Japan. ASBMT, February 14, 2008, San Diego.

遠藤 文夫

【論文発表】

1. Nakamura K, Mitsubuchi H Endo F et al : Animal model of tyrosinemia. *J. Nutrition* 137, 1573S-1575S (2007)
2. Matsumoto S, Nakamura K and Endo F et al : Isolation of Tissue Progenitor Cells from Duct-Ligated Salivary Glands of Swine. *Cloning and Stem Cells*. 9:176-190, 2007.
3. Hattori K, Nakamura K, Endo F et al : Arrhythmia Induced by Spatiotemporal Overexpression of Calreticulin in the Heart. *Mol. Genet. Metab.* 91:285-293, 2007.