

に cosmid contig を作製してプローブを用意し、サザンブロッティングを行い、数百 bp 以上の大きなゲノムの挿入や欠失の検索を行った。BAC/fosmid ライブラリーを作製しショットガンシーケンスを行うことで、患者の候補領域のゲノム塩基配列の完全解読を行った。これらの結果をデータベース (NCBI build 36.2) や日本人の正常対象例と比較を行い、疾患特異的な配列変化を検出した。

さらに、明らかとなった配列の変化について、多数の失調症家系での検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、文部科学省・厚生労働省・経済産業省より平成 13 年 3 月に告示されたヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 16 年 12 月 28 日全部改訂、平成 17 年 6 月 29 日一部改訂) に則って行った。また本学の倫理審査委員会の承認を得て行っており、倫理面にも充分配慮している。

C. 研究結果

ゲノムのコピー数の変化は認められなかった。患者の候補領域のゲノム塩基配列を完全に解読することができた。データベースとの比較では 400 以上の変化が明らかとなり、既に多型として報告されているものの除外や正常対象例での検討などにより、本疾患に特異的な変化は 5 つに絞られた。

既に特異的なハプロタイプを持つことから 16q-ADCA と診断されている全ての患者はこの 5 つの変化を有していたが、このうちの 3 つの変化のみをもつ遺伝子変異不明の失調症の 2 家系が見つかった。いずれの家系も高齢発症の緩徐進行性の純粋小脳失調を呈し、本症に合致する臨床型であり、特異性の高い 3 つの塩基配列変化をもつことから 16q-ADCA の家系であると考えられた。

以上より、16q-ADCA の原因遺伝子変異の候補は 3 つに絞り込まれた。現在、これらと疾患発症の関係について慎重に検討を行っており、間もなく原因遺伝子変異が判明すると思われる。

D. 研究発表

1. 論文発表

1. Tsunemi T, Ishikawa K, Jin H, Mizusawa H. Cell-type-specific alternative splicing in spinocerebellar ataxia type 6. *Neurosci Lett*. 2008 Dec 5;447(1):78-81.
2. Watase K, Barrett CF, Miyazaki T, Ishiguro T, Ishikawa K, Hu Y, Unno T, Sun Y, Kasai S, Watanabe M, Gomez CM, Mizusawa H, Tsien RW, Zoghbi HY. Spinocerebellar ataxia type 6 knockin mice develop a progressive neuronal dysfunction with age-dependent accumulation of mutant CaV2.1 channels. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Aug 19;105(33):11987-92.
3. Jiang X, Lin K, Ishikawa M, Sakamoto T, Tsunemi T, Ishiguro T, Amino S, Toru I, Kondo H, Mizusawa H. Direct and accurate measurement of CAG repeat configuration in the *ataxin-1 (ATXN-1)* gene by "dual-fluorescence labeled PCR-restriction fragment length analysis". *J Hum Genet* 2008;53(4):287-95.
4. K. Ishikawa, K. Flanigan, H. Mizusawa. 16q-ADCA and SCA4, the two distinct disorders linked to the same locus. In, *Spinocerebellar ataxias*. Y. Takiyama, M. Nishizawa, editors. Research Signpost Publishers, 2008: 57-68.

2. 学会発表

Ishikawa K, Amino T, Sato N, et al. Identification of specific genetic alteration in a 900kb critical region for the chromosome 16q22.1-linked autosomal dominant cerebellar ataxia. XXth International Congress of Genetics. ドイツ・ベルリン市, 2008 年 7 月 12-17 日 (発表日 7 月 16 日)

網野猛志, 石川欽也, 佐藤望, 石黒太郎, 水澤英洋. 16 番染色体長腕連鎖型優性遺伝性脊髄小脳変性症の原因遺伝子変異の検索.

第 49 回日本神経学会総会 横浜, 2008 年 5 月 17 日

佐藤望, 石川欽也, 浅川修一, 網野猛志, 石黒太郎, 清水信義, 水澤英洋. BAC の完全塩基解読による 16 番染色体長腕連鎖型優性遺伝性脊髄小脳変性症の原因探索. 第 49 回日本神経学会総会 横浜, 2008 年 5 月 17 日

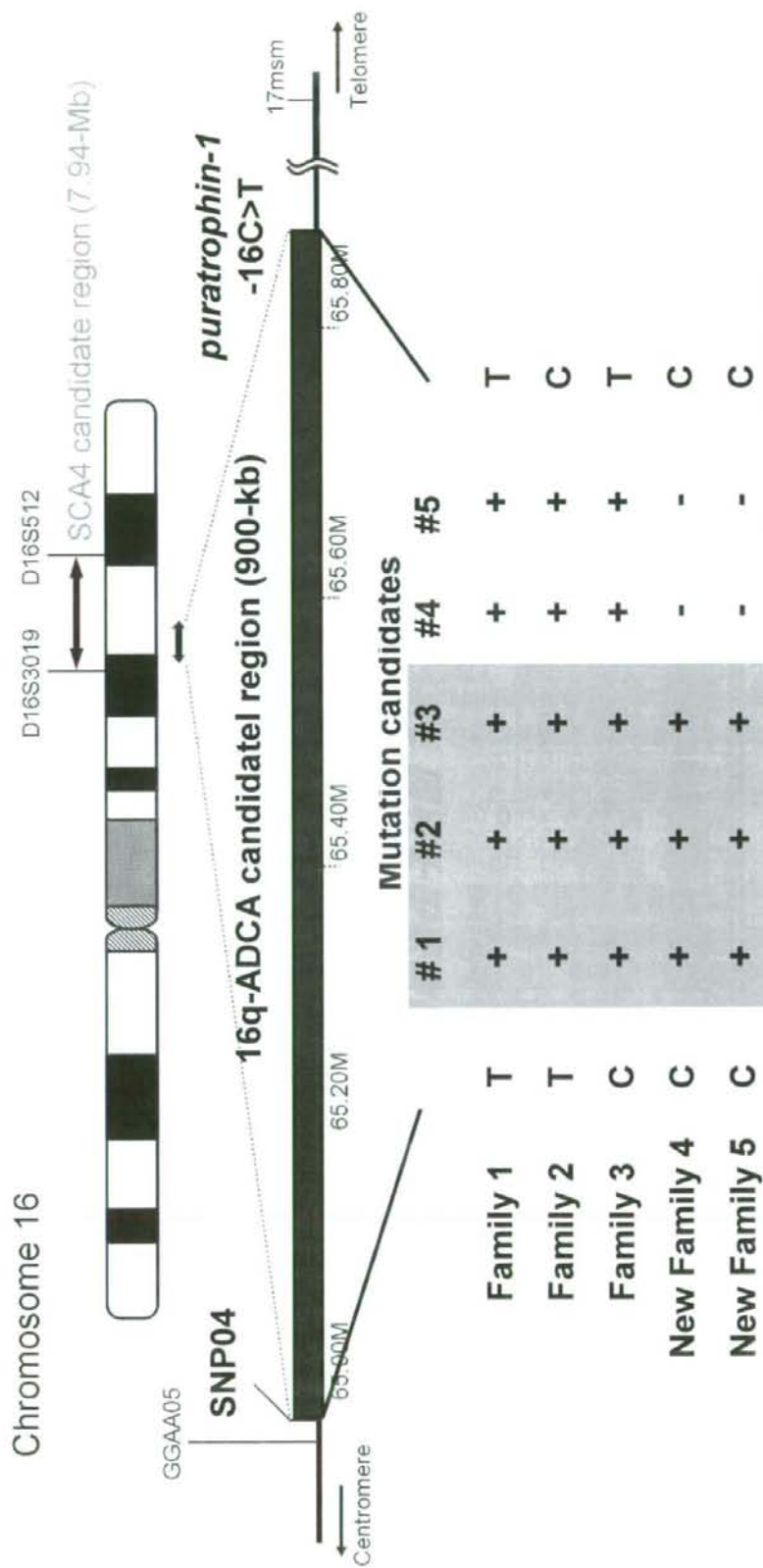
E. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)

なし

F. 健康危険情報

なし

第16番染色体長腕連鎖型優性遺伝性脊髄小脳変性症(16q22.1-linked ADCA)の原因遺伝子探索
 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科) 水澤英洋



全患者で共通するゲノムDNA塩基配列の変化は3箇所のみ。

ゲノム上の候補領域の完全な網羅的な解析により、
 原因遺伝子変異の候補が3つに絞られた。

副腎白質ジストロフィー治療研究グループ総括報告

プロジェクトリーダー 鈴木康之（岐阜大学医学教育開発研究センター）

ALD の病態としては極長鎖脂肪酸の分解低下と共に脂肪酸延長反応の亢進も示唆されているが、モデルマウスにおいても脂肪酸延長反応の亢進が証明され、今後、病態解明に役立つと期待される（今中常雄）。ALD の初期症状としては学習障害、心理的問題、視覚失認などが知られているが、聴覚失認（純音聴力は正常だが言語音が低下）も重要な初期症状であり、啓発が必要であることが示された（加我牧子）。ALD の治療法としては造血幹細胞移植が有効とされているが、効果をあげるためには早期診断と神経障害の少ない移植法を選択する必要がある。早期診断のためには家系診断が重要であるが、診断された発症前男児に対するフォローアップが重要であり、そのガイドライン案が作成された（鈴木康之）。高磁場 MRI は ALD の初期病変や移植効果を診断できることが示唆された（山田謙一）。骨髄非破壊的前処置（RIST, reduced intensity stem cell transplantation）は神経障害を抑えることが期待される前処置法であり、4 例を検討した結果、その有効性が示された（加藤剛二）。また ALD の進行病期別の移植効果を検討したところ、未発症期から病初期での移植においては移植関連死亡が少なく、大脳型で発症することが予知できた ALD に対しては、その時点で移植準備を整えつつ、早期の移植時期を検討すべきであることが示された（加藤俊一）。移植は従来、小児大脳型のみが適応と考えられてきたが、18 歳の大脳型患者に対する移植が行われ、有効であった。今後は成人に対する移植も視野に入れる必要がある（辻 省次）。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究年度終了報告書
運動失調症に関する調査研究

ABCD1 ノックアウトマウスの中枢神経系における極長鎖脂肪酸代謝に関する研究

分担研究者 今中 常雄 富山大学大学院医学薬学研究部
研究協力者 守田 雅志 富山大学大学院医学薬学研究部

研究要旨

本研究計画では、ALDモデルマウス（ABCD1欠損マウス）の脳および初代培養アストロサイトを用いて ABCD1 機能欠損による極長鎖脂肪酸代謝、特に脂肪酸延長反応に着目して解析した。ABCD1 欠損マウスの脳では極長鎖脂肪酸（C26:0）含量の増加が認められ、脳ミクロソーム画分における脂肪酸延長反応は野生型に比べ有意に増加していた。脂肪酸延長反応の律速酵素である ELOVL1 遺伝子の発現が ABCD1 欠損マウスの脳で有意に増加していた。一方、ABCD1 欠損マウス脳由来の初代培養アストロサイトにおいても、極長鎖脂肪酸含量の増加と、ELOVL1 遺伝子の発現増加が認められた。さらに、 $[2-^{14}C]$ 酢酸及び $[1-^{14}C]$ C24:0 からの C26:0 への放射活性の取り込みが ABCD1 欠損マウス由来のアストロサイトで有意に増加していた。このことから、中枢神経系での極長鎖脂肪酸の蓄積には脂肪酸伸長反応の亢進が関与していることが推察された。

A. 研究目的

副腎白質ジストロフィー（ALD）は極長鎖脂肪酸の異常蓄積を特徴とする神経変性疾患で、中枢神経系における極長鎖脂肪酸の蓄積はこの疾患の原因の一つと推察される。現在、極長鎖脂肪酸の蓄積は主にペルオキシソーム β 酸化活性の減少および脂肪酸延長反応の亢進が原因と考えられている。しかし、中枢神経系での蓄積のメカニズム、特に脂肪酸延長反応の亢進の詳細についてはわかっていない。

本研究では、特に脂肪酸延長反応の極長鎖脂肪酸蓄積への関与について検討することを目的とした。

B. 研究方法

ABCD1-KO マウスは国立長寿研究所の橋本博士より譲渡されたものを当大学で繁殖し使用した。初代培養アストロサイトは、生後1~2日のマウス脳から混合グリア細胞を調製し、さらにプラスチックシャーレへの吸着性を利用してミクログリアから分離することにより調製した。ABCD1 欠損マウス脳および初代培養アストロサイトから脂肪酸を抽出し、メチルエステル化後、ガスクロマトグラフィーで各脂肪酸含量を測定した。放射性酢酸及び放射性リグノセリン酸の各脂肪酸画分への取り込みは、代謝ラベルした細胞から抽出した脂肪酸をメチルエステル化し、精製後逆相 TLC で各飽和脂肪酸を分離した後、BAS

5000により定量化した。脂肪酸延長反応は、生後4ヶ月のマウス脳から調製したミクロソーム画分について、NADPH 存在下で放射性マロニル CoA から基質（C16:0-CoA, C20:0-CoA）への放射活性の取り込みを測定することにより行った。また脂肪酸伸長酵素 ELOVL の遺伝子発現は、リアルタイム PCR 法で定量化した。

C. 研究結果と考察

1) ABCD1-KO マウス脳における脂肪酸延長反応

ABCD1-KO マウスの脳および脊髄の飽和極長鎖脂肪酸（C26:0）含量を測定したところ、野生型に比べて2倍以上の増加が認められた。そこで、脳から調製したミクロソーム画分の脂肪酸延長反応を比較した。パルミチン酸（C16:0-CoA）及びアラキジン酸（C20:0-CoA）を基質とした脂肪酸延長反応を測定したところ、パルミチン酸を基質とした場合、野生型マウスに比べて KO マウスで約2倍の活性増加が認められた。一方、アラキジン酸を基質した場合には5~6倍の活性の増加が認められた。以上のことから ABCD1-KO マウス脳では脂肪酸延長反応の亢進が起こっていることが認められた。

2) 初代培養アストロサイトでの極長鎖脂肪酸代謝 中枢神経系細胞での ABCD1 の発現は、神経細胞で

は少なく、オリゴデンドロサイトやアストロサイトなどに発現が高いことがマウスで報告されている。今回は中枢神経系で最も細胞数の多いアストロサイトについて、極長鎖脂肪酸代謝の検討を行った。K0アストロサイトではC24:0/C22:0の値が野生型に比べて高い値を示した。リグノセリン酸を基質として脂肪酸の β 酸化活性を測定するとK0アストロサイトでは野生型の75%まで減少していた。一方、K0アストロサイトを[1- 14 C]AcOHで72時間代謝ラベルし、C24:0画分への放射活性の取り込みを定量した結果、野生型に比べて有意に高い値を示した。また同様に[1- 14 C]C24:0で代謝ラベルした場合にはC26:0への取り込みの割合が約2倍増加していた。このことから、K0アストロサイトでは極長鎖脂肪酸 β 酸化活性の減少と共に脂肪酸延長反応も亢進している可能性が推察された。

3) 脂肪酸延長酵素の発現

極長鎖脂肪酸延長反応の律速酵素は小胞体に存在する脂肪酸延長酵素 (ELOVL) と考えられている。中でもELOVL 1や6は飽和極長鎖脂肪酸の合成に関与していることが報告されている。そこで各ELOVL遺伝子の発現について検討したところ、マウス脳及び初代培養アストロサイトにおけるELOVL遺伝子の発現はELOVL 1で増加が認められた。

4) 考察

中枢神経系での極長鎖脂肪酸蓄積が脂肪酸 β 酸化の減少だけでなく、脂肪酸延長反応の亢進も原因であることが裏付けられた。小胞体に存在する脂肪酸延長反応の亢進がどのようなメカニズムで起こるか分かっていない。ペルオキシソームにおけるABCD1の機能欠損により本来代謝される生理活性脂質分子が代謝されなくなり、そのために増加もしくは減少した分子が、転写因子等を介して脂肪酸延長反応に関わる酵素(例えばELOVL1など)を発現誘導している可能性が考えられる。今後、脂肪酸延長反応の亢進に関わる酵素を特定し、そのメカニズムを解析することにより、脂肪酸延長反応をターゲットとしたALD治療薬開発の可能性が考えられる。

D. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Morita M., Kanai M., Mizuno S., Iwashima M., Hayashi T., Shimozawa N., Suzuki Y., and

Imanaka T.: Baicalein 5, 6, 7-trimethyl ether activates peroxisomal but not mitochondrial fatty acid β -oxidation. *J. Inher. Metab. Dis.* 31, 442-449, 2008.

- 2) 守田雅志, 今中常雄: 極長鎖脂肪酸代謝と疾患. *生化学*, 80, 434-439, 2008.
- 3) Kashiwayama Y., Seki M., Yasui A., Murasaki Y., Morita M., Yamashita Y., Sakaguchi M., Tanaka Y., and Imanaka, T.: 70-kDa peroxisomal membrane protein related protein (P70R/ABCD4) localizes to endoplasmic reticulum not peroxisomes, and NH₂-terminal hydrophobic property determines the subcellular localization of ABC subfamily D proteins. *Exp. Cell Res.* 315, 190-205, 2008.

2. 学会発表

- 1) 守田雅志, 岩島誠, 林利光, 下澤伸行, 鈴木康之, 今中常雄: 植物フラボノイド Baicalein 5, 6, 7-trimethylether はペルオキシソームの脂肪酸 β 酸化を活性化する. 日本薬学会第128年会, 2008, 3, 27, 横浜.
- 2) 小松史明, 守田雅志, 田村文, 渡辺志朗, 今中常雄: ペルオキシソーム膜ABCタンパク質ABCD1欠損における極長鎖脂肪酸代謝. 日本薬学会北陸支部第118回例会, 2008, 11, 9, 金沢.
- 3) 小松史明, 守田雅志, 田村文, 渡辺志朗, 下澤伸行, 今中常雄: ペルオキシソーム膜ABCタンパク質ABCD1機能欠損における極長鎖脂肪酸蓄積の分子機構. 第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会合同大会, 2008, 12, 9, 神戸.
- 4) 守田雅志, 今中常雄: U87 グリオブラストーマ細胞におけるペルオキシソーム膜ABCタンパク質ABCD1機能欠損によるコレステロール代謝異常. 第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会合同大会, 2008, 12, 12, 神戸.

E. 知的所有権の出願・登録状況 (予定含む)

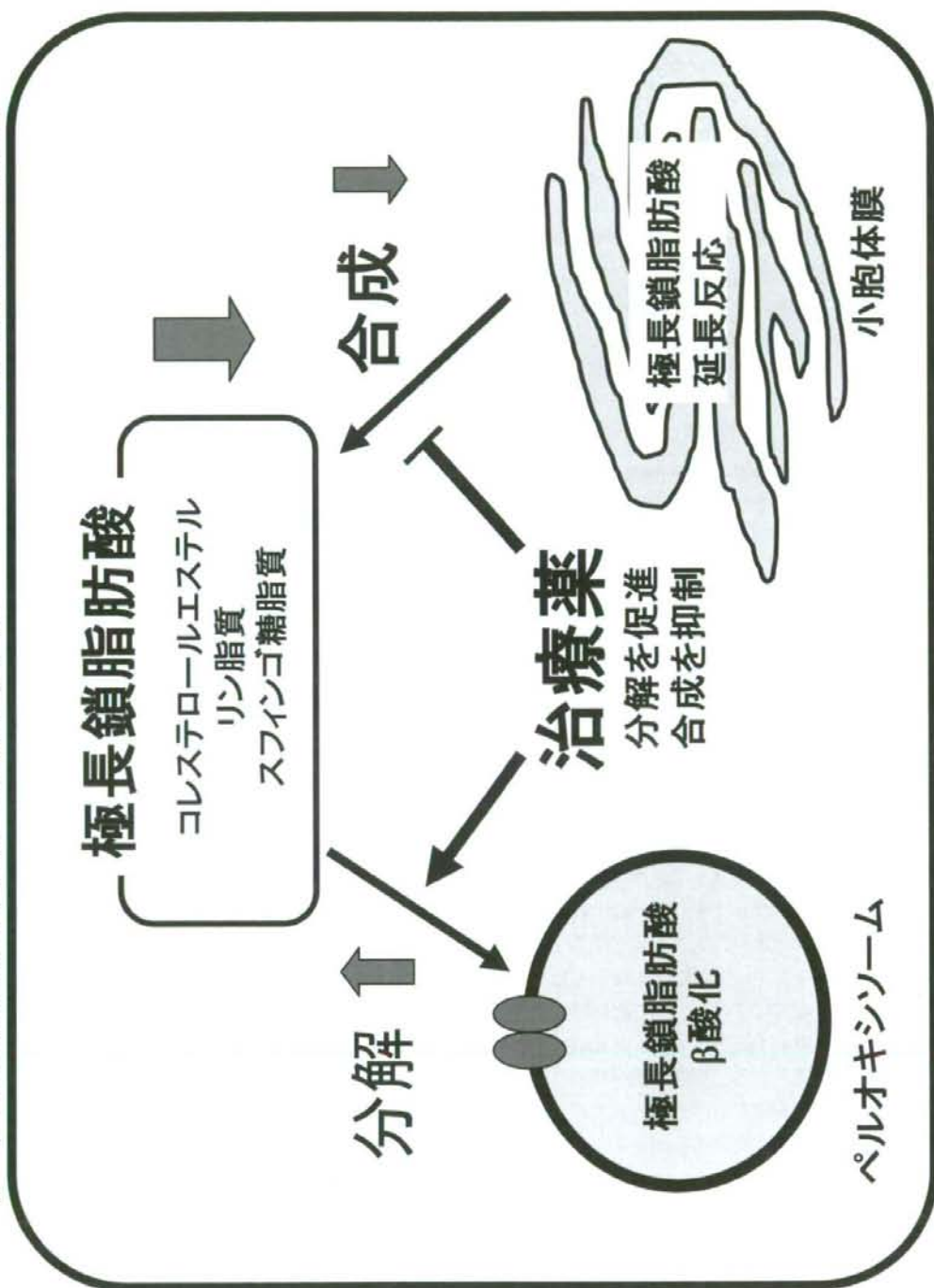
(特許取得・実用新案登録・その他)

なし

F. 健康危険情報

なし

極長鎖脂肪酸代謝制御に基づく治療薬開発



厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

分担研究年度終了報告書

運動失調症に関する調査研究

聴覚症状で気づかれた小児/思春期大脳型 ALD の検討

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
研究協力者	稲垣真澄	国立精神・神経センター精神保健研究所知的障害部
	古島わかな	同上
	軍司敦子	同上
	井上祐紀	同上
	中村雅子	同上、東京大学医学部耳鼻咽喉科

研究要旨

小児大脳型 ALD は視覚症状や行動異常などで発症することが多いが、中枢性聴覚障害での発症例も知られている。本研究班を通じて評価した大脳型既発症男児 24 例中 3 例は、9-13 歳時に聴覚症状で異常に気づかれていた。3 例ともに、純音聴力、聴性脳幹反応 (ABR) では聴力低下はとらえられず、語音聴力、環境音弁別能、音像定位能、両耳分離能に異常を認め、聴覚失認と診断した。純音聴力正常かつ ABR 検査で異常がない場合に心因性聴覚障害と即断することなく、本症の存在を念頭に置いて広範な聴覚検査や頭部 MRI を行う必要がある。耳鼻科医や一般小児科医に本疾患への理解を深めるための働きかけを行う必要があると考えられる

A. 研究目的

小児大脳型 ALD は視覚症状や行動異常などで発症することが多いが、中枢性聴覚障害での発症例も知られている。今回我々は、音声に対する反応不良で気づかれた大脳型 ALD の臨床および検査所見を検討し、ALD における中枢性聴覚障害の特徴を明らかにすることにした。

B. 研究方法

2001 年 1 月から 2008 年 10 月に評価目的で紹介され、来院した大脳型 ALD 既発症例 24 例中、聴覚症状で異常に気づかれた男児 3 例 (10-13 歳) を対象とした。2 例は、聞き返しの増加、呼びかけに対する反応低下があり、耳鼻科を受診したが、末梢聴力検査で正常と判断された。その後、症状が増悪し、小児科において頭部 MRI 異常と極長鎖脂肪酸高値を指摘され ALD と診断された。あと 1 例は、話しが

聞きとりにくい、話をすると疲れると訴えた。聴覚以外の症状として書字の乱れ、衣服を前後逆に着るなどの変化があり、心療内科について小児科を受診した。ABR は正常であったが、頭部 MRI 異常と極長鎖脂肪酸高値により ALD と診断された。

3 例に対し、Wechsler 系知能検査など心理検査・神経心理検査に加えて標準純音聴力検査、語音聴力検査、単語の復唱、環境音認知検査、Token テスト、音像定位検査、両耳分離能検査、耳音響放射、ティンパノグラム、アブミ骨筋反射、電気生理学的検査として ABR、Slow Vertex Response (SVR)、事象関連電位を施行した。

(倫理面への配慮)

紹介もと病院での主治医の説明に加えて、当院来院時に患児および保護者に、上記検査について説明し、同意を得て検査を実施した。

C. 研究結果

純音聴力検査とABRのV波閾値はいずれも正常であったが、語音聴力、単語復唱能力、環境音弁別能の著しい低下と視覚マッチングによる改善、音像定位の低下、両耳分離聴能検査の左耳聴取率低下が3例ともに確認され、聴覚失認と診断した。2例ではABRのI-V波間潜時延長を伴った。一方、耳音響放射等の末梢性聴覚機能検査は正常であった。SVR、事象関連電位では皮質成分波形の形成不良あるいは潜時遅延を認めた。

認知に時間を要するものの、ひとたび語音が認知できれば、内容の理解や言語の表出は可能であることより、失語ではなく聴覚失認と診断した。

小児に発症する聴覚失認は成人の脳血管障害における聴覚失認以上にまれな病態であり、ヘルペス脳炎、もやもや病などによる両側聴覚皮質あるいは皮質下病変あるいはLandau-Kleffner症候群などきわめて限られた病因による。特に小学校高学年以降の男児において徐々に出現する音声反応不良や環境音認知の低下は、ALDによる聴覚失認の可能性を否定できず、純音聴力正常かつABR検査に著変を認めない場合、心因性聴覚障害と即断することなく、中枢性聴覚障害を念頭に置いた検査や頭部MRIを行うことが診断確定に必須である。

これまで、眼科医、内分泌専門医、児童精神科医、教育関係者、心理専門職などに本疾患の存在を周知する必要性を報告してきたが、中枢性聴覚障害による発症も念頭におき、耳鼻科医や一般小児科医にも本疾患への理解を深めるための働きかけを行う必要があると考えられる。

D. 研究発表

1. 論文発表

(1)古島わかな, 稲垣真澄, 軍司敦子, 加我牧子, 山崎広子, 堀口寿広. 小児大脳型副腎白質ジストロフィーの聴早期発症診断に関する研究 ~視覚系心理検査および視覚誘発電位の有用性~. 脳と発達 40:301-306,2008.

(2)古島わかな. 行動異常をきたした Addison

病の10歳男児. 脳と発達 40:357-358,2008.

2. 学会発表

(1)古島わかな, 稲垣真澄, 軍司敦子, 井上祐紀, 加我牧子. 小児大脳型ALDの視覚性事象関連電位P1成分の検討~発症極早期診断における有用性~. 第50回日本小児神経学会総会, 東京, 2008.5.29.

(2)加我牧子: 小児副腎白質ジストロフィー症の早期診断・治療のための認知機能評価. 第13回認知神経科学会学術集会, 東京, 2008.7.12.

(3)Kaga M: Auditory perception in patients with childhood adrenoleukodystrophy. Joint Symposium of Child neurology Germany-Japan 2008, Munich, September 9, 2008.

E. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)

なし

F. 健康危険情報

なし

聴覚障害で気づかれた小児 大脳型ALDの検討



国立精神・神経センター精神保健研究所
加我牧子、古島わかかな、稲垣真澄、軍司敦子、中村雅子

★ 呼びかけへの反応性低下などで気づかれる

★ 耳鼻科を受診しても純音聴力検査・ABR正常のため、異常なしと判断されがちである

★ しかし純音聴力検査、ABRの結果の割には語音聴力、環境音認知は著しく低下する(聴覚失認)

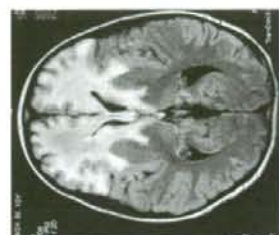
★ 年長児で、知能も保たれているため
疑えば検査ができ、診断できる

後頭型



視覚障害
運動機能障害
成績低下等 で発症

前頭型



落ち着きがなくなる
多動・注意力欠如
異常行動等で発症



聴覚障害に注目されておらず診断が遅れがち



診断の遅れ→治療の遅れに直結
寝たきり・重症化・死へ

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

分担研究年度終了報告書

運動失調症に関する調査研究

思春期発症の大脳型 ALD に対する造血幹細胞移植の臨床的効果についての検討

分担研究者 1) 松川 敬志, 1) 高橋 祐二, 1) 後藤 順, 1) 辻 省次

1) 東京大学医学部附属病院神経内科

研究協力者 2) 片岡 圭亮, 2) 熊野 恵城, 2) 瀬尾 幸子, 2) 高橋 強志, 2) 黒川 峰夫

2) 東京大学医学部附属病院血液・腫瘍内科

研究要旨

副腎白質ジストロフィー (ALD) の小児大脳型 ALD に対する造血幹細胞移植 (HSCT) の有効性は確立されているが、成人大脳型 ALD に対する HSCT の有効性は確立されていない。今回我々は成人大脳型 ALD に対して、造血幹細胞移植を経験し、症状の安定化、頭部 MRI 上増強効果の消失を認めた。今後症例の蓄積とともに成人例に対する造血幹細胞移植における条件の最適化についての検討が必要と考えられる。

A. 研究目的

小児大脳型 ALD においては HSCT が早期の場合、唯一の長期的に有効な治療法とされているが、成人大脳型 ALD に対する HSCT の報告は 2 症例に留まっており、有効性は確立されていない。今回我々は当院で遺伝子診断がなされた思春期発症の大脳型 ALD に対する造血幹細胞移植を経験し、その臨床効果の検討を行った。

B. 研究方法

HSCT に先立ち ALD 思春期/成人例に対する造血幹細胞移植評価プロトコルの作成を行い、プロトコルに則って検査及び評価を行った。症例は 18 歳男性。2006 年末頃からやる気の低下が出現。2007 年から呂律不良、歩行時のふらつきを自覚。10 月近医入院し、頭部 MRI で小脳歯状核と側脳室三角部背側に T2WI、FLAIR で高

信号を認めた。さらに極長鎖脂肪酸の増加を認め、副腎白質ジストロフィーが疑われた。2008 年 1 月当科外来を受診し、頭部 MRI では新たに中脳病変に明瞭化を認めた。原因遺伝子 *ABCD1* に既知のミスセンス変異 (p. R518W) を検出。造血幹細胞移植適応の検討目的に 1 月から当科第 1 回入院。肉親の HLA typing では full match が得られず、骨髄 Bank に依頼。HSCT に先立ち ALD 思春期/成人例に対する造血幹細胞移植評価プロトコルの作成を行い、プロトコルに従って、検査及び評価を行った。3 月、病状の再評価目的に当科第 2 回入院。MRI 上増強効果範囲の若干の拡大が認められ、病状の進行期にあると考えられた。HLA full match の donor が見付き、骨髄移植目的に 2008 年 5 月当科第 3 回入院となった。

(倫理面への配慮)

事前に当院における倫理委員会の承認を得た。遺伝子診断に関しては、ご本人、ご家族に対する十分な説明、同意の上で行った。また造血幹細胞移植についてもご本人、ご家族に対する十分な説明、同意の上で行った。

C. 研究結果

2008年5月(初回入院から4ヶ月)、非血縁者間同種骨髄移植施行。移植後17日目に生着を確認。移植後50日目に皮膚及び消化管に急性GVHD症状認めるも、ステロイド治療で軽快。移植後99日目に退院。移植後158日目より呼吸苦出現。閉塞性細気管支炎が考えられ、 β stimulant 及びクラリスロマイシンによる治療で症状軽快。今後ステロイド治療施行予定となっている。移植後神経症状の安定化、頭部MRI上Loes scoreの安定化及び増強効果の消失を認めた。

D. 研究発表

1. 学会発表

日本人類遺伝学会第53回大会 演題名「当院において遺伝子診断がなされた副腎白質ジストロフィー症例及びその家族についての臨床遺伝学的検討」

E. 知的財産権の出願・登録状況(予定含む)

特記事項なし。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

副腎白質ジストロフィー症に対する骨髄非破壊的造血細胞移植

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

研究要旨：副腎白質ジストロフィー（以下 ALD）に対しては造血細胞移植が唯一有効な治療とされてきたが移植関連合併症や神経学的進行例における移植後の神経症状の悪化が大きな問題であった。しかしながら近年国内において本症に対して骨髄非破壊的前処置を用いた造血細胞移植が行われ、その有効性と安全性を示唆する結果が得られている。本法は本症の治療において今後の方向性を検討する上で重要と考えられるので報告する。

A. 研究目的

副腎白質ジストロフィー症（以下 ALD）に対する造血細胞移植はこれまで骨髄破壊的前処置で実施されることが多かったが移植関連合併症や移植後の神経症状の悪化が少なからず認められた。それに対して本症に Fludarabine (Flu), Melphalan (Mel), 低線量 TBI（全身放射線照射）の骨髄非破壊的前処置による造血細胞移植成績が実施されており、その有効性と安全性を検討した。

B. 研究方法

1. 症例

対象は上記の前処置にて造血細胞移植が施行された小児大脳型 ALD の 4 例である。

2. 結果

症例 1.（徳島大学小児科）発症時および移植時年齢は 1 歳、移植前の神経症状は左下肢の痙性。頭部 MRI score は 2.5。前処置は Flu125mg/m², Mel 140mg/m², TBI (2Gy) で血清学的 6/6HLA 一致ドナーから非血縁者間骨髄移植を施行した結果、生着が得られ、1 年後のキメリズムはドナー100%であ

り、移植に伴う合併症はなかった。また移植後 22 ヶ月での神経症状はなく、MRI score は 1.5 であった。

症例 2（岐阜大学小児科）発症時および移植時年齢は共に 13 歳。移植前の神経症状は両側同名半盲と軽度の感音性難聴。MRI score は 4。移植前処置は Flu125mg/m², Mel 140mg/m², TBI (4Gy) で HLA 一致同胞より骨髄移植を施行した。移植後生着が得られ、day28 のキメラはドナー98%であった。移植後 2 ヶ月の時点では神経症状なし。

症例 3.（京都大学小児科）発症時年齢は 7 歳、移植時年齢は 8 歳。移植時の神経症状は視力低下、多動で MRI score は 11。全前処置は Flu 100mg/m², Mel 80mg/m², TBI (4Gy) で血清学的 6/6HLA 一致ドナーからの非血縁者間臍帯血移植を施行した。移植後生着が得られ、2 年 9 ヶ月を経て神経症状の進行はない。頭部 MRI も軽度改善。

症例 4.（京都大学小児科）発症時年齢は 8 歳、移植時年齢は 9 歳。移植前の神経症状は歩行障害、発語及び嚥下困難で MRI

score は 4。前処置は Flu 100mg/m², Mel 80mg/m² で血清学的 6/6HLA 一致ドナーからの非血縁者間臍帯血移植を施行した。移植後生着が得られキメリズムはドナー95%以上であるが移植後 1 ヶ月で神経症状の進行が認められる。

D. 考察

副腎白質ジストロフィー症に対して造血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。とりわけ生着を確実にするためにこれまで骨髓破壊的前処置が施行されてきたが移植後の移植関連合併症の発症が常に問題であった。しかしながら近年血液悪性腫瘍領域において骨髓非破壊的前処置による造血細胞移植が多数施行され、移植後の合併症軽減に効果が認められてきた。ALD に対する造血細胞移植においても近年骨髓非破壊的移植前処置による造血細胞移植が試みられてきたがその成績は必ずしも安定していた訳ではなく、またその中には神経症状の悪化を来たす可能性のある Busulfan の投与例もあった。本報告では近年国内において施行された骨髓非破壊的移植の内、Flu+Mel+low dose TBI による前処置にて実施された症例の臨床経過につき述べた。いずれの症例も観察期間が短いが大きな移植関連合併症もなく生着が得られており、今後の進むべき

方向性を示唆している。またこれまで本症に対する臍帯血移植成績は生着不全や移植関連合併症のために不良であった。しかしながら 2 例とはいえ血清学的 6/6 一致ドナーからの非血縁者間臍帯血移植において 2 例とも生着していることは今後本症に対する臍帯血移植の可能性を示唆しているものと思われる。いずれにしても今後は症例数を重ねて本法の妥当性を検証する必要がある。

E. 結論

本報告は ALD に対する骨髓非破壊的前処置を用いた造血細胞移植の有用性を示唆するものであり。今後の継続的は検討が重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

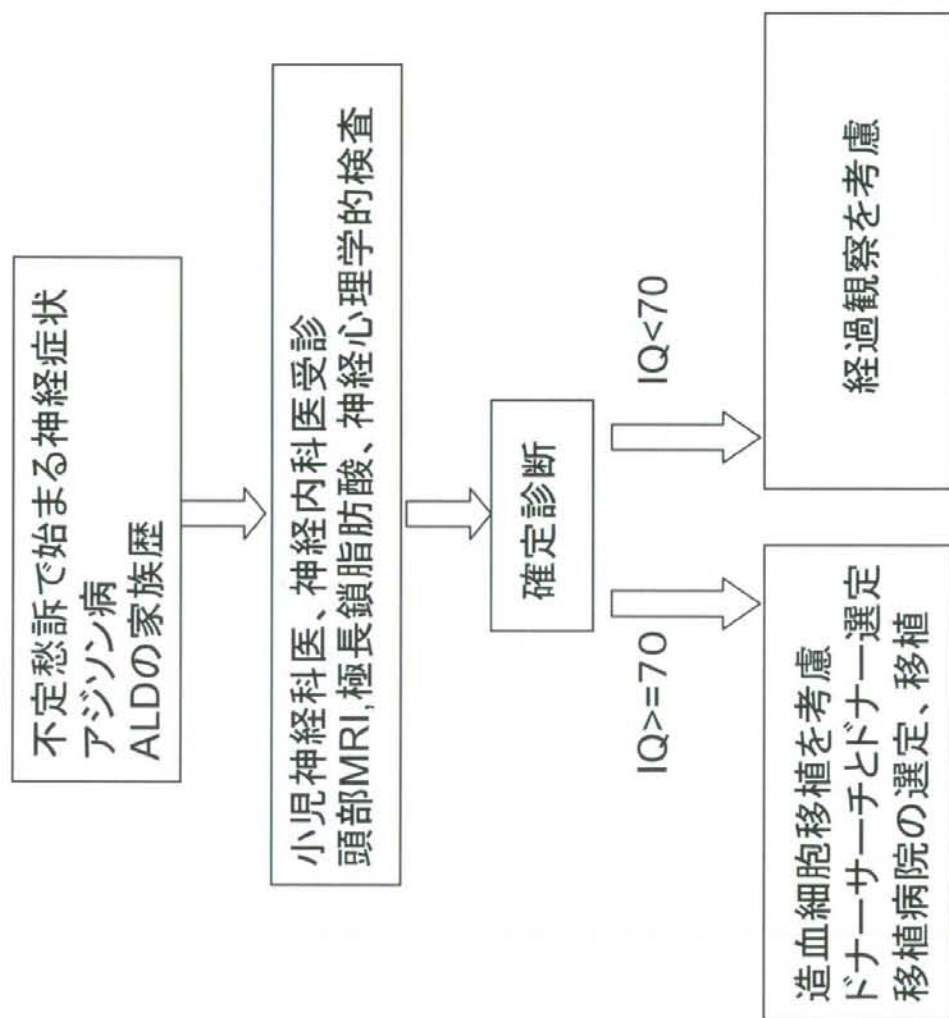
H. 健康危険情報

なし。

I. 謝辞

本報告に際し、症例の詳細を御連絡いただきました徳島大学小児科 渡辺力氏、岐阜大学小児科 小関道夫氏、京都大学小児科 足立杜一氏に深謝いたします。(敬称略)

副腎白質ジストロフィーの診断と治療



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究年度終了報告書

運動失調症に関する調査研究

副腎白質ジストロフィー（ALD）における造血幹細胞移植に関する研究

分担研究者	加藤 俊一	東海大学医学部基盤診療学系・教授
研究協力者	矢部 普正	東海大学医学部基盤診療学系・准教授
	矢部 みはる	東海大学医学部基盤診療学系・准教授
	柳町 徳春	東海大学医学部基盤診療学系・講師
	森本 克	東海大学医学部専門診療学系・講師
	清水 崇史	東海大学医学部専門診療学系・講師
	高倉 広充	東海大学医学部専門診療学系・助教

研究要旨

21 例の ALD に対する同種造血幹細胞移植例における、移植後合併症、予後について、未発症期移植群、病初期移植群、進行期移植群に分けて検討した。GVHD や細菌感染症、CMV 感染症の頻度は移植時病期と相関しなかったが、真菌感染症や発熱期間の延長は進行期群で多く認められた。GVHD と感染症を除いた移植関連合併症は進行期群に多く、一部は直接死因につながった。未発症から病初期までに移植した 8 例における合併症としては生着症候群が 1 例、真菌肺炎が 1 例に合併したがいずれも軽快し、ドナーの種類にかかわらず全例が生存している。ALD の確定診断が得られかつ大脳型と判断されれば、比較的早期の移植を検討すべきと考える。

A. 研究目的

副腎白質ジストロフィー (ALD) においては同種造血幹細胞移植 (SCT) が根治を望める唯一の治療法とされるが、病期の進行した例においては、効果が得られにくいばかりでなく、痙攣を始めとして様々な合併症が認められる。SCT を施行した ALD 症例において、移植時の神経学的状態を臨床的に未発症期、病初期、進行期に分け、それぞれの群の移植後合併症と転帰について比較検討した。

B. 研究方法

対象は 1996 年 2 月より 2008 年 8 月までに東海大学小児科・細胞移植科で SCT を施行した 21 例で、未発症群が 6 例、初期群が 2 例、進行期

群が 13 例であった。それぞれの年齢の中央値(範囲)は 9 歳 (5~15 歳)、7 歳 (4~10 歳)、9 歳 (6~12 歳) であった。移植細胞ソースは未発症群で HLA 一致同胞骨髄が 1 例、HLA 一致同胞臍帯血が 1 例、非血縁骨髄が 4 例、病初期群で HLA 不一致同胞骨髄が 1 例、非血縁骨髄が 1 例、進行期群で HLA 一致同胞骨髄が 4 例、HLA 不一致両親骨髄が 3 例、非血縁骨髄が 2 例、非血縁臍帯血が 4 例であった。移植前処置は未発症群で放射線胸腹部照射 (TAI)+メルファラン (L-PAM)+抗胸腺細胞グロブリン (ATG) を用いたのが 5 例、ブスルファン (Bu)+シクロフォスファミド (CY)+ATG を用いたのが 1 例、病初期群で TAI+Bu+CY+ATG が 1 例 (拒絶のため Bu+CY+ATG

で再移植し生着)、Bu+CY+ATGが1例、進行期群でTAI+L-PAM+ATGが7例、Bu+CY+ATGが3例、Flu+L-PAM+ATG、TAI+Flu+L-PAM+ATG、TAI+CY+ATGがそれぞれ1例であった。移植片対宿主病(GVHD)予防は移植細胞ソースによって選択した。

C. 研究結果

1. 生着の状況

生着は未発症群の6例中6例、病初期群の2例中2例、進行期群の13例中10例で得られたが、病初期群の1例と進行期群の1例でそれぞれ初回移植後3ヵ月に晩期拒絶と初回移植後20ヵ月に本人優位の高度混合キメラを認めたため、再移植あるいは末梢血幹細胞追加輸注を行い、100%ドナータイプに復帰した。その他、ドナータイプ優位の混合キメラは未発症群の3例、病初期群の1例、進行期群の1例に認め、観察期間の短い未発症群の1例を除いて、免疫抑制剤の早期中止により100%ドナータイプに転換している。

2. GVHD

急性GVHDは未発症群の2例でgrade Iおよびgrade IIを認め、病初期群の1例が免疫抑制剤の中止後にgrade Iを合併、進行期群の3例でgrade Iが2例、grade IIが1例に合併した。慢性GVHDは未発症群の2例で、限局型と広汎型を1例ずつ、病初期群の1例で限局型を認めたが、いずれも治療により改善している。

3. 感染症

細菌感染症としては血液培養陽性が未発症群6例中3例、病初期群2例中1例、進行期群16例中6例(1例は蜂窩織炎)に認め、未発症群と進行期群のCRPの平均値は 7.3 ± 5.7 mg/dlと 7.4 ± 5.9 mg/dlで、両群に差を認めなかった。真菌

感染症としては β -D-グルカンが11pg/mlを超えた症例数が未発症群5例中2例、進行期群10例中9例と、進行期群に多い傾向が認められた。CMV抗原血症の陽性例は未発症群の5例中4例、病初期群の1例中1例、進行期群の11例中4例に認め、内10/150000以上の陽性例は未発症群、進行期群でそれぞれ1例であったが、すべて治療により軽快した。38°Cを超える発熱期間は未発症群で 4.7 ± 3.5 日、進行期群で 16.1 ± 15.1 日と、進行期群で延長する傾向が認められた。

4. 他の合併症

GVHDや感染症以外で全身状態に影響する合併症は、未発症群の1例で生着症候群を認め、病初期群では認めず、進行期群では痙攣を3例、意識障害を4例、出血性膀胱炎を3例、出血性腎炎および血球貪食症候群を1例、ARDSを2例に認めた。

5. 生命予後

未発症群および病初期群の計8例は全例が生存中であるが、進行期群では5例が移植関連合併症および原病の進行で死亡している。

D. 考察

ALDに対するSCTにおいて、進行期の移植例では、痙攣や意識障害などの中枢神経系合併症のみでなく、出血性膀胱炎や呼吸器系合併症など多臓器にわたる合併症が認められた。また進行期の移植例では、38°C以上の発熱期間が延長する傾向が見られ、全身状態の悪化や長期の安静臥床による日常生活動作の低下につながっているものと推測された。発熱の遷延する原因としては、細菌感染症やCMV感染症は否定的で、真菌感染症が関与している例も認められるが、中枢神経障害の進行による筋肉の過緊張など、複

合的な要因が考えられる。それに対して未発症期あるいは病初期に移植した例では、生命予後に関わるような移植関連合併症が少なく、持続的な全身状態の悪化を伴うこともなかった。

E. 結論

少数例の解析ではあるが、未発症期から病初期での SCT においては移植関連死亡が少なく、大脳型で発症することが予知できた ALD に対しては、その時点で SCT の準備を整えつつ、早期の移植時期を検討すべきと考える。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yabe M, Kato S, et al. Fatal giant cell myocarditis after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2008;41(1):93-4.

Yasuda Y, Kato S, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy after allogeneic bone marrow transplantation for Wiskott-Aldrich syndrome. *Pediatr Int.* 2008;50(2):238-40.

Narimatsu H, Kato S, et al. Chronic graft-versus-host disease following umbilical cord blood transplantation: retrospective survey involving 1072 patients in Japan. *Blood.* 2008;112(6):2579-82.

Nagamura-Inoue T, Kato S, et al. Unrelated cord blood transplantation in CML: Japan Cord Blood Bank Network analysis. *Bone Marrow Transplant.* 2008;42(4):241-51.

Yoshimi A, Kato S, et al. Unrelated cord blood transplantation for severe aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008;14(9):1057-63.

Yahata T, Kato S, et al. Quiescent human hematopoietic stem cells in the bone marrow niches organize the hierarchical structure of hematopoiesis. *Stem Cells.* 2008;26(12):3228-36.

Kawase T, Kato S, et al. HLA mismatch combinations associated with decreased risk of relapse: Implications for molecular mechanism. *Blood.* 2008 Nov 7.

加藤俊一. 臍帯血移植の今後. *総合臨床*, Vol157, No. 4, 632-638, 2008.

2. 学会発表

Suganuma E, Kato S, et al. Bone Mineral Density(BMD) in survivors who underwent Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) during childhood. A long term follow-up and effectiveness of Hormone Replaced Therapy (HRT). *Pediatric Academic Societies and Asian Society for Pediatric Research Joint Meeting, May 2008 (Hawaii)*
Kato S. Cord blood banking and cord blood transplantation. *ISBT XXXth International Congress, June 2008 (Macao)*.

Kato S. Report from Japan and Asia. *First Cord blood Transplant 20th Anniversary Netcord bank organization 10th Anniversary.* Oct 2008 (Canne)

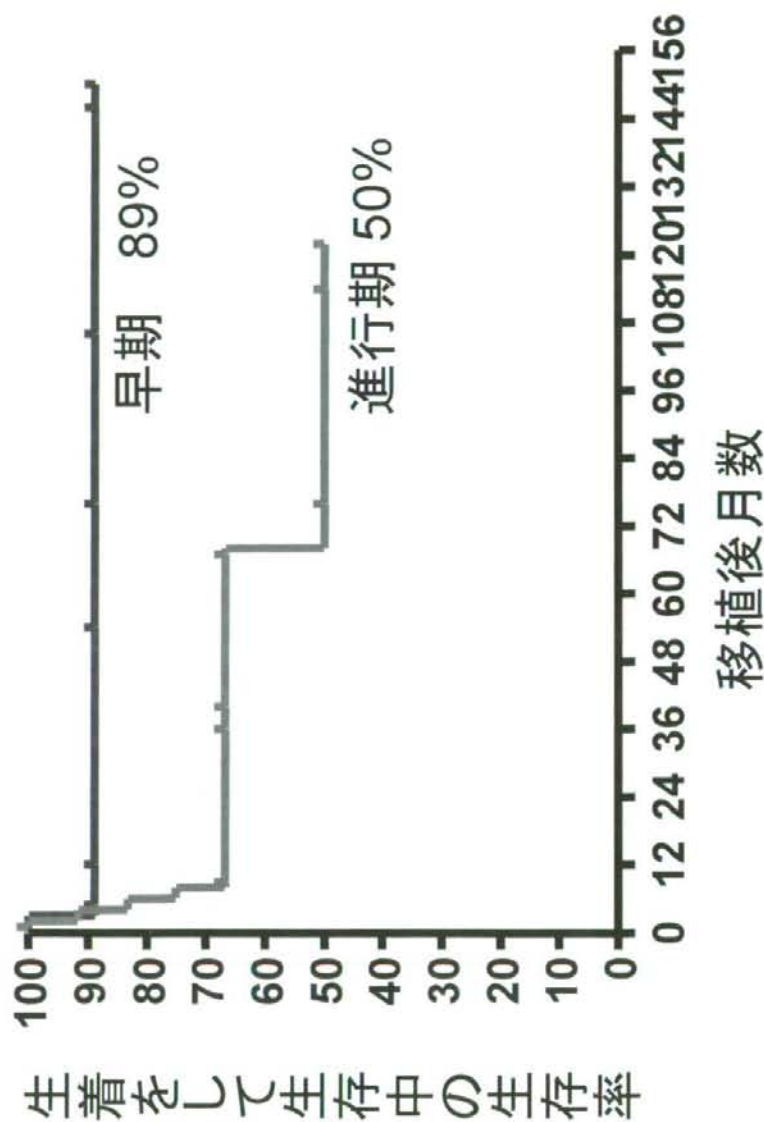
G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

H. 健康危険情報

特記すべき事項はない。

ALD移植時期別の生着生存率 (東海大学 加藤俊一、矢部普正)



厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

分担研究年度終了報告書

運動失調症に関する調査研究

副腎白質ジストロフィー克服への取組みに関する研究

—発症前診断に関するガイドライン作成に向けて—

分担研究者 鈴木康之 岐阜大学医学部医学教育開発研究センター
研究協力者 下澤伸行 岐阜大学生命科学総合研究支援センターゲノム研究分野

研究要旨

小児大脳型副腎白質ジストロフィーにおける唯一の治療法は発症早期の造血幹細胞移植であり、本研究班においても早期診断体制を整備するとともに啓蒙活動を行い、効果を挙げている。今年度はさらに保因者診断から家系解析により発症前からの診断体制を整備して、より早期に治療へ結びつける取組みを行った。

A. 研究目的

小児および思春期大脳型 ALD に対する唯一の治療法は発症早期の造血幹細胞移植である。本研究班では ALD の周知活動から診断・評価・治療体制を確立し、発症が疑われた患者に対しては診断確定から進行度評価、移植等に至るまで各班員がそれぞれの専門分野において協力し、迅速に対応してきている。一方で、その状況下においても実際、移植に至る症例は半数に満たない現状がある。今回、発端者からの家系解析により、発症前も含めてより早期に ALD 患者を診断することにより早期治療を可能にして、本症の克服を目指している。

B. 研究方法

発端者での極長鎖脂肪酸分析および ABCD1 遺伝子解析による ALD の診断確定後、主治医には ALD に関する医療情報を提供するとともに、治療計画等を考慮した上で、十分な遺伝カウンセリングのもと早期診断・早期治療による有効性を説明してもらい、本人又は代諾者の同意が得られた場合において解析を進める。同意書とともに送付された EDTA 血を用いて、極長鎖脂肪酸の蓄積ならびに発端者で同定された ABCD1 遺伝子変異の有無を確認する。

(倫理面への配慮)

X 連鎖劣性遺伝病である本症の保因者診断ならびに発症前診断に際しては下記パンフレットを作成するとともに、十分な遺伝カウンセリングの必要性を周知する。

小児大脳型副腎白質ジストロフィーの
早期診断・治療のために
—ご家族・主治医の皆様へ—

小児大脳型副腎白質ジストロフィーの唯一の治療法は発症早期の骨髄移植で、1日も早い診断が大切です。

早期に骨髄移植をするためには、家系内の患者をより早く発見する事も大切です。

そのためには十分な遺伝カウンセリングが必要です。

・親族で同じ病気に苦しむ人が再び出ないようにすることの大切さを理解してもらいましょう。

・骨髄移植には準備期間が必要です。移植の適応となる人となるべく早く見つけましょう。

・保因者や発病していない人を診断するか否かは、慎重な判断が求められますが、治療の可能性があることを理解してもらいましょう。

家系解析・発症前診断には十分な遺伝カウンセリングとインフォームド・コンセントが必要です。

ALDP 遺伝子解析 / 極長鎖脂肪酸分析
で診断できます。

岐阜大学 生命科学総合研究支援センター ゲノム研究分野 下澤伸行
【ペルオキシソーム病診断研究プロジェクト】
<http://www1.gifu-u.ac.jp/~isrc/ogri/shimozawa-hpl/index.html>