

13:40

Ⅱ. 病態解析

座長：高橋 勉、下澤 伸行

- 6) 分泌型ルシフェラーゼを用いたケミカルシャペロン探索のための新規細胞系の構築
：李林静、檜垣克美、難波栄二(鳥取大学生命機能研究支援センター)

- 7) I-celi 病の Autophagy の解析について
：大友孝信、酒井規夫(大阪大学大学院医学研究科内科系臨床医学専攻)

- 8) ニーマンピック病 A/B 型：細胞内脂質輸送に関する研究
：平井大士、小山千嘉子、高橋 勉(秋田大学医学部生殖発達医学講座小児科学分野)

- 9) Fabry 病の新規マーカーとしての Lyso-Gb3
：兎川忠靖、櫻庭 均(明治薬科大学分析化学教室)

- 10) パーキンソン病の疾患感受性遺伝子としての glucocerebrosidase 遺伝子
～メタ解析による検討～
：三井 純、辻 省次(東京大学神経内科)
水田依久子、戸田達史(神戸大学神経内科)

- 11) ペルオキシソーム代謝異常症研究の展開
：下澤伸行(岐阜大学生命科学総合研究支援センター)

- 12) ペルオキシソーム膜形成障害の分子機構
：今中常雄、柏山恭範、守田雅志(富山大学大学院・医学薬学研究部)

- 13) サポシン欠損マウスを用いたライソゾーム病の神経病態解明に関する研究
：松田純子(東海大学未来科学技術共同研究センター)

★☆☆ 休 憩 ☆★★

15:20

Ⅲ. 治療開発

座長：大野 耕策、島田 隆

- 14) ライソゾーム病に対する新しい治療法開発
：鈴木義之(国際医療福祉大学大学院)

- 15) ハンター症候群患児における酵素補充療法の効果
：大平智子、西村美穂、渡辺順子、芳野 信(久留米大学医学部小児科学)

- 16) 酵素製剤アガルシダーゼ・アルファとアガルシダーゼ・ベータの薬物動態について
：岡田志緒子、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)
- 17) ライソゾーム病疾患に対するレンチウイルスベクターを用いた遺伝子治療および
iPS 細胞を用いた解析・治療開発
：小林博司(東京慈恵会医科大学 DNA 研医学研究所)
衛藤義勝(東京慈恵会医科大学遺伝病講座)
- 18) AAV ベクターによるライソゾーム病の遺伝子治療
：島田 隆(日本医科大学生化分子生物学講座)
- 19) イソフラボンによるムコ多糖症の試験的治療：第 2 報
：鈴木康之、田中あけみ、奥山虎之、戸松俊治、折居恒治、折居忠夫
(岐阜大学医学教育開発研究センター、大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学、
国立成育医療センター、セントルイス大学、折居クリニック)
- 20) 東海大学における先天性代謝異常疾患に対する造血細胞移植
：高倉広充、矢部普正、矢部みはる、清水崇史、
森本 克、小池隆志、柳町徳春、加藤俊一
(東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学)

16 : 30

研究費経理の処理に関して

松本亜由美(東京慈恵会医科大学研究支援課)

分担研究報告書

I. 臨床像の把握

ライソゾーム病患者における健康関連 QOL の調査研究

研究分担者：坪井 一哉(名古屋セントラル病院 血液内科)

研究要旨

ライソゾーム病は、リソソーム内の様々な加水分解酵素の欠損または活性の低下により代謝が障害され、そのために発症する一連の先天性代謝異常症である。欠損している酵素の種類により約 30 疾患が知られ、代表的な疾患としてゴーシェ病、ファブリー病、ポンペ病、などが含まれている。今回、“ゴーシェ病患者及び親の会” “ファブリー病患者と家族の会” “ポンペ病の会” “日本ムコ多糖症親の会” の協力のもと、16 歳以上で同意の得られた方に SF-36ver2(日本語版)を使用し、ライソゾーム病患者における健康関連 QOL の評価を行った。解析の結果、身体的健康度で著明な低下が認められ、重要な因子として原疾患による臓器の障害が考えられた。また、精神的健康度に関しては、比較的、国民標準値と同等であった。

A. 研究目的

ライソゾーム病は、リソソーム内の様々な加水分解酵素の欠損または活性の低下により代謝が障害され、そのために発症する一連の先天性代謝異常症である。欠損している酵素の種類により約 30 疾患が知られ、代表的な疾患としてゴーシェ病、ファブリー病、ポンペ病、などが含まれている。本研究の目的は、臨床疫学調査としてライソゾーム病患者における健康関連 QOL の評価を行い、実態を把握することである。

B. 研究方法

1. 対象者

平成 17 年 1 月より、平成 20 年 3 月の調査期間中に、“ゴーシェ病患者及び親の会” “ファブリー病患者と家族の会” “ポンペ病の会” “日本ムコ多糖症親の会” に所属している方のうち、16 歳以上で同意および疫学調査に回答の得られた 128 症例を対象に解析を行った。

2. 方法

本研究では QOL の尺度として MOS 36 Short-Form Health Survey(SF-36)を使用した。算出方法は、マニュアルに従って素点を計算し、国民標準値によって調整したのち各下位尺度の偏差得点を算出した。この関数変換により、国民標準値は 50、標準偏差は 10 になり、標準得点からの乖離を比較することが可能となった。また、各下位尺度の値より身体的健康度、精神的健康度を算出し、国民標準値との比較を行った。

SF-36 は、全体で 36 項目からなり、以下の 8 つの下位尺度から構成されている；

- (1) 身体機能(PF), (2) 日常役割機能(身体)(RP),
- (3) 身体の痛み(BP), (4) 全体的健康感(GH), (5) 活力(VT), (6) 社会生活機能(SF), (7) 日常生活役割機能(RE), (8) 心の健康(MH)

(倫理面への配慮)

当研究は、「ヘルシンキ宣言」および厚生労働省の「臨床試験に関する倫理指針」に従い、また、「疫学倫理指針(平成 16 年 12 月 28 日改訂 文部

科学省 厚生労働省)」に基づき、名古屋セントラル病院の倫理委員会の承認を得て行った。今回の調査は、対象患者の QOL を無記名アンケート調査形式で行うものであり、住所、氏名の記載欄は設けていない。また、匿名化により対象患者が特定できないようにし個人情報の保護対策を行い、アンケート結果を処理する際にも他施設へ持ち出すことはない。また、患者検体を用いるものではない。

C. 研究結果

1. 対象者の基本的属性

回答は、128名の会員の方から得られ、回収率は、約8割(16歳以上対象)であった。病型としてゴーシェ病34名(男性17名、女性17名)、ファブリー病48名(男性30名、女性18名)、ムコ多糖症31名(男性24名、女性7名)、ポンペ病13名(男性7名、女性6名)であった(Table 1)。

年齢層別分布は、16歳から60歳以上まで広く分布し、特に20歳代から30歳代に多く見られた。性別は、男性78名、女性48名で、男性が多く見られた(Table 2)。病型別年齢分布では、ゴーシェ

病は各年齢層に分布し、ファブリー病は30歳代から40歳代に分布していた。ムコ多糖症は10歳代から20歳代に分布していた。ポンペ病も同様の傾向が認められた(16歳以上対象)(Table 3)。

2. 下位尺度得点

各調査項目(36項目)を点数化し、疾患ごとに8つの下位尺度得点(0-100点)を算出した。ゴーシェ病では、身体機能(PF)70.3点、日常役割機能(身体)(RP)74.3点、身体の痛み(BP)74.1点、全体的健康感(GH)52.1点、活力(VT)57.5点、社会生活機能(SF)76.4点、日常生活役割機能(RE)75.5点、心の健康(MH)69.1点であった。ファブリー病では、PF77.5点、RP74.3点、BP74.1点、GH52.1点、VT57.5点、SF76.4点、RE75.5点、MH69.1点であった。ムコ多糖症では、PF24.8点、RP37.7点、BP68.9点、GH37.6点、VT50.4点、SF65.6点、RE54.4点、MH64.1点であった。また、ポンペ病では、PF6.9点、RP34.6点、BP54.2点、GH24.5点、VT34.6点、SF40.4点、RE53.2点、MH60.0点であった(Table 4)。

ライソゾーム病全体では、PF56.0点、RP62.8

Table 1 病型

年齢	男	女	合計	%
ゴーシェ病	17	17	34	27.0%
ファブリー病	30	18	48	38.1%
ムコ多糖症	24	7	31	24.6%
ポンペ病	7	6	13	10.3%
合計	78	48	126	100.0%

Table 2 性別・年齢層別分布

年齢	男	女	合計	%
16-19歳	14	6	20	15.9%
20-29歳	25	10	35	27.8%
30-39歳	16	13	29	23.0%
40-49歳	12	6	18	14.3%
50-59歳	7	10	17	13.5%
60歳以上	4	3	7	5.6%
合計	78	48	126	100.0%

Table 3 病型・年齢層別分布

年齢	ゴーシェ病	ファブリー病	ムコ多糖症	ポンペ病	合計	%
16-19歳	7	1	10	2	20	15.9%
20-29歳	7	8	14	6	35	27.8%
30-39歳	8	14	4	3	29	23.0%
40-49歳	6	9	2	1	18	14.3%
50-59歳	5	11	1	0	17	13.5%
60歳以上	1	5	0	1	7	5.6%
合計	34	48	31	13	126	100.0%

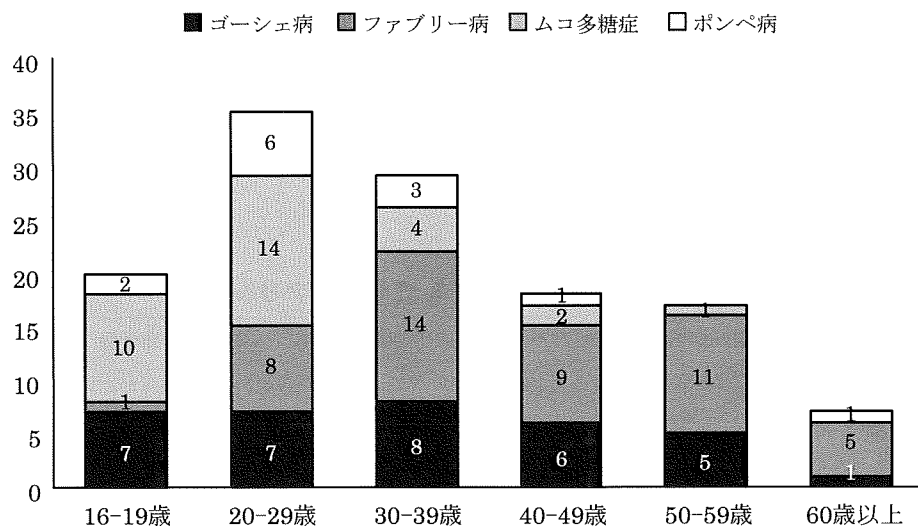


Table 4 下位尺度得点(0-100点満点)

下位尺度	ゴーシェ病	ファブリー病	ムコ多糖症	ポンペ病	全症例	標準値
身体機能(PF)	70.3±29.6	77.5±20.5	24.8±29.8	6.9±10.7	56.0±36.5	87.7±14.2
日常役割機能(身体)(RP)	74.3±29.5	77.0±23.0	37.7±39.7	34.6±28.0	62.8±35.1	88.6±18.3
身体の痛み(BP)	74.1±24.9	68.7±25.4	68.9±32.8	54.2±23.5	68.7±27.4	74.2±22.6
全体的健康感(GH)	52.1±20.7	42.0±21.1	37.6±24.1	24.5±18.5	42.0±22.1	64.0±18.5
活力(VT)	57.5±20.7	53.5±23.0	50.4±26.7	34.6±20.4	51.9±23.9	62.0±20.3
社会生活機能(SF)	76.4±30.7	74.2±28.5	65.6±35.0	40.4±21.5	69.3±31.9	86.5±19.0
日常生活役割機能(RE)	75.5±31.4	76.4±23.1	54.4±40.8	53.2±33.6	68.6±32.9	87.1±19.6
心の健康(MH)	69.1±22.3	62.9±21.8	64.1±23.5	60.0±21.5	64.9±22.4	71.7±18.8

※平均値±標準偏差

点、BP 68.7点、GH 42.0点、VT 51.9点、SF 69.3点、RE 68.6点、MH 64.9点、国民標準値の8つの下位尺度得点に比べ全て低値を示していた(Table 4, Fig.1)。

3. 国民標準値に基づくスコアリング

次にマニュアルに従い国民標準値に基づくスコアリングを算出した。ゴーシェ病では、PF 37.7

点、RP 42.2点、BP 49.9点、GH 43.6点、VT 47.8点、SF 44.7点、RE 44.1点、MH 48.6点であった。ファブリー病では、PF 42.8点、RP 43.7点、BP 47.6点、GH 38.1点、VT 45.8点、SF 43.5点、RE 44.5点、MH 45.3点であった。ムコ多糖症では、PF 5.7点、RP 22.3点、BP 47.7点、GH 35.7点、VT 44.3点、SF 39.0点、RE 33.1点、MH 46.0点であった。また、ポンペ病では、PF

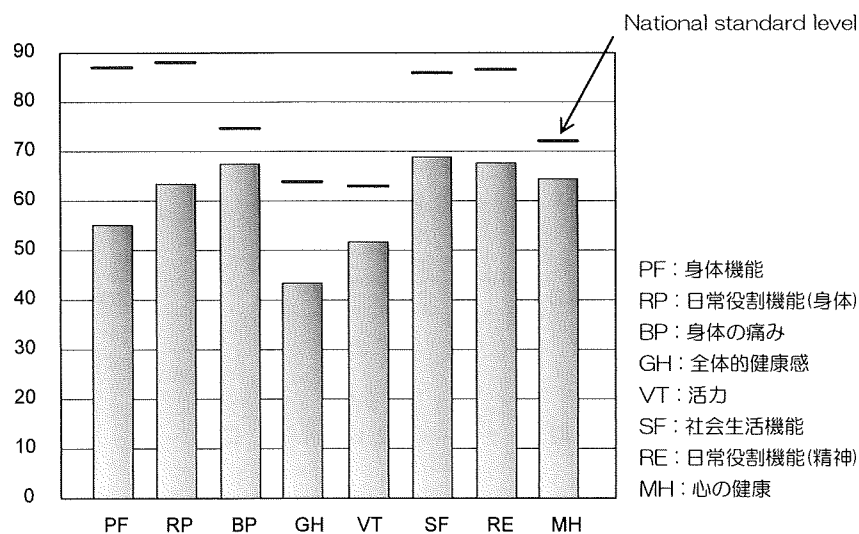


Fig.1 下位尺度得点(0-100点満点)

Table 5 国民標準値に基づくスコアリング

下位尺度	ゴースェ病	ファブリー病	ムコ多糖症	ボンペ病	全症例	国民標準値
身体機能(PF)	37.7±20.9	42.8±14.5	5.7±21.0	-6.9±7.5	27.7±25.7	50.0±10.0
日常役割機能(身体) (RP)	42.2±16.1	43.7±12.5	22.3±21.7	20.6±15.3	35.9±19.1	50.0±10.0
身体の痛み(BP)	49.9±11.0	47.6±11.3	47.7±14.5	41.2±10.4	47.6±12.1	50.0±10.0
全体的健康感(GH)	43.6±9.51	38.1±11.4	35.7±13.0	28.6±10.0	38.1±12.0	50.0±10.0
活力(VT)	47.8±10.2	45.8±11.3	44.3±13.1	36.5±10.1	45.0±11.7	50.0±10.0
社会生活機能(SF)	44.7±16.0	43.5±15.0	39.0±18.4	25.7±11.3	40.9±16.8	50.0±10.0
日常生活役割機能(RE)	44.1±16.0	44.5±11.8	33.1±20.8	32.7±17.1	40.6±16.8	50.0±10.0
心の健康(MH)	48.6±11.9	45.3±11.6	46.0±12.5	43.8±11.4	46.2±11.9	50.0±10.0

※平均値±標準偏差

-6.9点、RP 20.6点、BP 41.2点、GH 28.6点、VT 36.5点、SF 25.7点、RE 32.7点、MH 43.8点であった(Table 5, Fig.2)。

ライソゾーム病全体では、PF 27.7点、RP 35.9点、BP 47.6点、GH 38.1点、VT 45.0点、SF 40.9点、RE 40.6点、MH 46.2点、国民標準値の8つの下位尺度得点に比べ全て低値を示していた(Table 5, Fig.3)。特に身体機能(PF)および日常役割機能(身体) (RP)、全体的健康感(GH)で国民標準値に比べ著明な低下が認められた(Table 5, Fig.3)。

4. 健康度サマリースコア

国民標準値に基づくスコアリングを基に、各疾患における身体的健康度(PCS)、精神的健康度

(MCS)を算出した。ゴースェ病では、PCS 39.4点、MCS 50.3点であった。ファブリー病では、PCS 43.2点、MCS 44.9点であった。ムコ多糖症では、PCS 12.8点、MCS 55.5点であった。また、ボンペ病では、PCS 6.7点、MCS 49.2点であった(Table 6, Fig.4)。

ライソゾーム病全体では、PCS 31.4点、MCS 49.3点、国民標準値のサマリースコアに比べ精神的健康度は比較的保たれていたものの、身体的健康度は著明な低下を示していた(Table 6)。

D. 考 察

現在、ライソゾーム病における病状の評価の有効的な指標として、各疾患における障害臓器の病理検査、各臓器に特異性の高い血液検査、また、

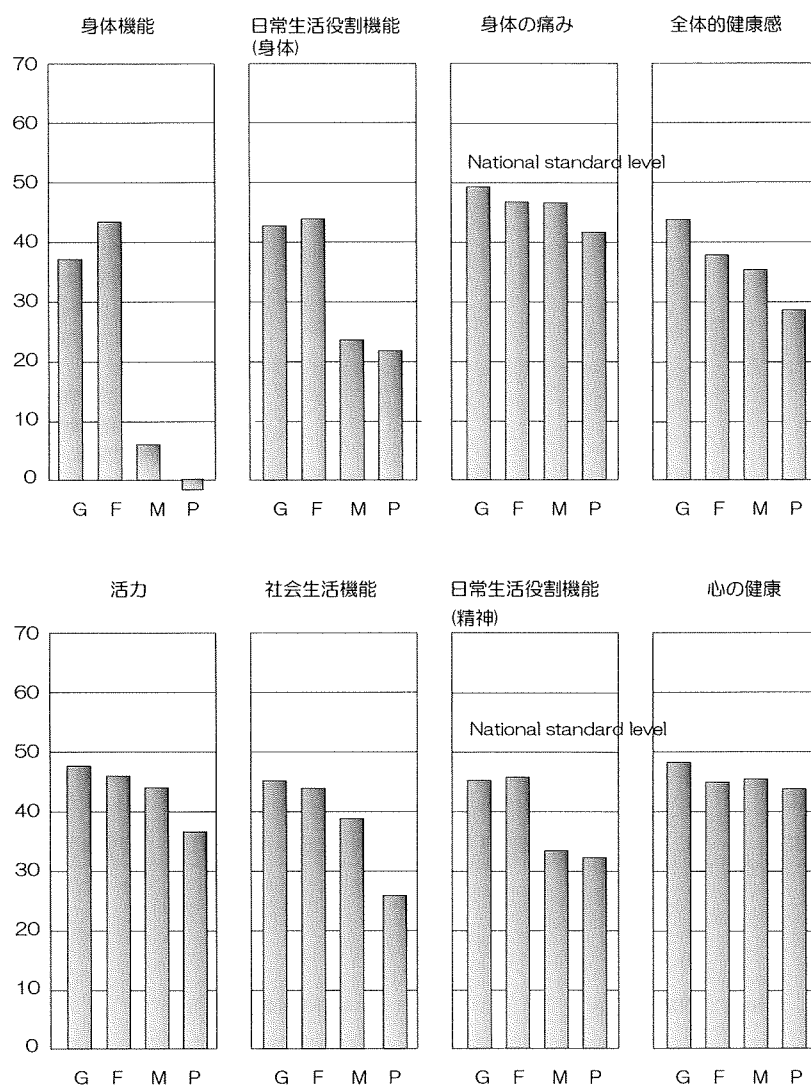


Fig.2 各疾患における国民標準値に基づくスコアリング

細胞や血漿中における代謝産物などが報告されている。しかし、近年では、医療の評価において医療の受け手である患者自身の視点に立った健康関連 QOL の評価が重要であると考えられるようになり、「医療アウトカム」の重要な指標として明確に位置付けされてきている。本研究は、現在、認可されているゴーシェ病、ファブリー病、ポンペ病、ムコ多糖症(I型,II型,VI型)に対する酵素補充療法の有効性、また、骨髄移植との比較、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。

平成16年度に予備調査として当院通院中のライソゾーム病患者における QOL 調査を行った。その後、これらの調査を基にして平成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、19年度は、ファブリー病患者を対象に、平成20年度は、ムコ多糖症患者を対象に、健康関連 QOL 調査を行った。また、本年度は、ライソゾーム病全体の QOL 調査および総括を行った。

◇ポンペ病

平成17年度の調査結果より、ポンペ病における臨床的特徴として筋力の低下、呼吸不全などが認められ、多くの方が呼吸不全に対して若年時より在宅酸素療法を導入され、終日、酸素の吸入を行っていた。筋力低下や呼吸不全が、日常生活の低下や制限をもたらす重要な原因の一つと考えられ、このことがポンペ病患者における QOL の低下、特に身体的健康度の低下を招いていると考えられた。

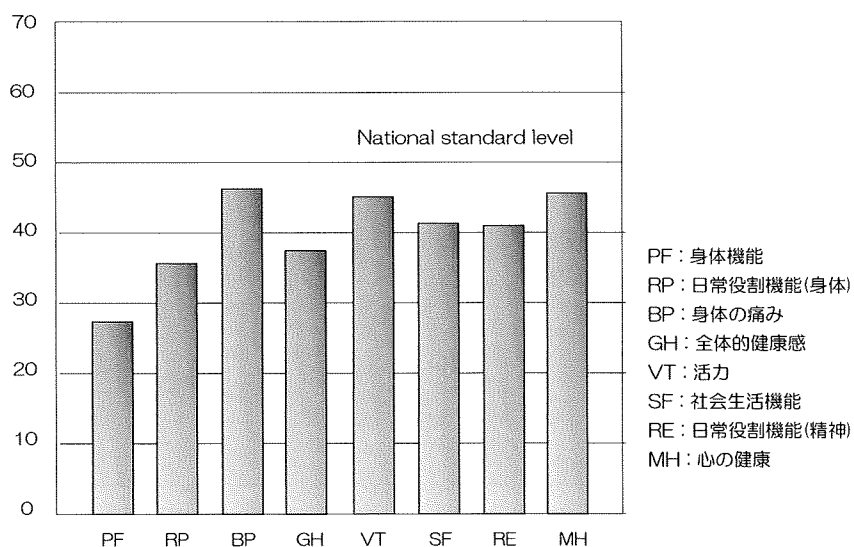


Fig.3 国民標準値に基づくスコアリング

Table 6 サマリースコア

下位尺度	ゴーシェ病	ファブリー病	ムコ多糖症	ポンペ病	全症例	国民標準値
身体的健康度(PCS)	39.4±19.6	43.2±13.2	12.8±21.9	6.7±13.1	31.4±22.7	50.0±8.6
精神的健康度(MCS)	50.3±10.5	44.9±11.1	55.5±12.8	49.2±8.3	49.3±11.8	50.0±9.6

※平均値±標準偏差

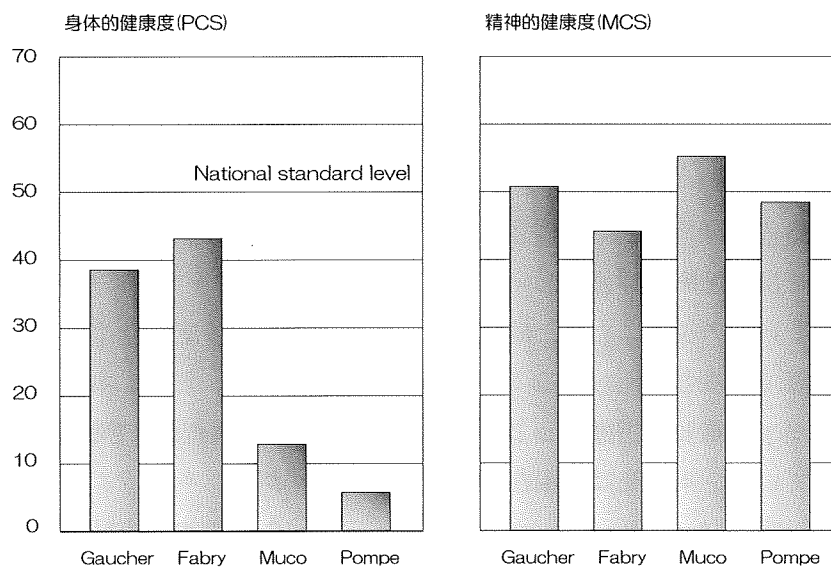


Fig.4 各疾患別サマリースコア

◇ゴーシェ病

平成 18 年度の調査結果より、ゴーシェ病における臨床的特徴として肝脾腫、骨病変、造血障害、神経症状などが認められ、日常生活の低下や制限をもたらす重要な原因の一つと考えられ

た。このことがゴーシェ病患者における QOL の低下、特に身体的健康度の低下を招いていると考えられた。

◇ファブリー病

平成 19 年度の調査結果より、ファブリー病に

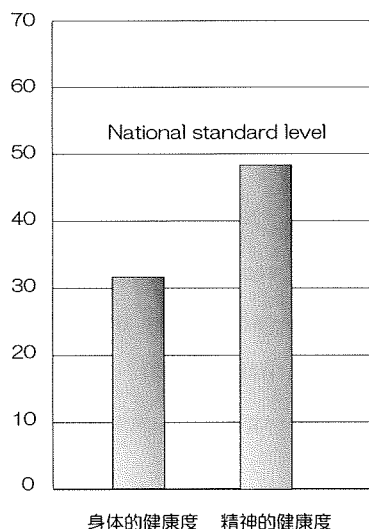


Fig.5 ライソゾーム病サマリースコア

における臨床的特徴として、四肢の疼痛、発汗障害、心機能障害、腎機能障害などが認められ、さらにはペースメーカーや血液透析が導入され、日常生活の低下や制限をもたらす重要な原因として考えられた。このことがファブリー病患者における健康関連 QOL の低下、特に身体的健康度の低下を招いていると考えられた。また、うつ病や抑うつ症状を伴う場合があるため、今回調査した 4 疾患において唯一精神的健康度の低下が認められた。

◇ムコ多糖症

平成 20 年度の調査結果より、ムコ多糖症における臨床的特徴として、骨病変や関節の異常などが認められ、日常生活の低下や制限をもたらす重要な原因として考えられた。このことがムコ多糖症患者における QOL の低下、特に身体的健康度の低下を招いていると考えられた。

ファブリー病以外の 3 疾患における精神的健康度に関しては国民標準値とほぼ同程度と考えられた。しかし、平成 17 年度から平成 20 年度までの調査結果より患者の多くは、病気や治療、結婚、遺伝などに関し様々な不安を抱えていることが明らかになった。また、ライソゾーム病は希少性疾患でもあるため、一般診療で診られる疾患とは多くの点で異なり、対応可能な医師や医療機関も少

なく治療を受ける患者自身にとって専門医の不足は深刻な問題であった。さらに患者自身の症状の自覚、病名の告知、現在の病状や治療の説明、また、本疾患が遺伝性疾患であるための婚姻や家族(子供)に対する不安、情報の不足など様々な要因が相互に作用し、精神的健康度に影響を及ぼしていると考えられた。

現在、ライソゾーム病患者における健康関連 QOL 調査に加え、当院通院中で同意の得られた対象者に対し個別にインタビューを行い、ライソゾーム病患者の抱えている生理的変動要素、心理的変動要素、社会文化的変動要素などの様々なニーズを明らかにするための調査も開始した。インタビューは、主治医および“ライソゾーム病看護チーム”で、対象者の外来受診時に個室にて行い、調査は、対象者 1 名につき 3-4 回関わり、時間は 1 回につき 15 分-1 時間以内で行っている。これらの解析が終了次第、順次報告を行ってゆく予定である。また、ライソゾーム病患者の QOL 調査における電子登録システム・解析システムも開発中である。

E. 結 語

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 の予備調査を行い、これらの調査をもとに平成 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、平成 19 年度は、ファブリー病患者を対象に、平成 20 年度は、ムコ多糖症患者を対象に、健康関連 QOL 調査を行った。また、本年度は、ライソゾーム病全体の QOL 調査および総括を行った。

現在、ポンペ病患者、ファブリー病患者に関しては基本的 ADL 調査を開始し、経年的に QOL 追跡調査および ADL 調査を予定している。平成 22 年度、ポンペ病の集計および解析予定である。

謝辞

今回の調査に御協力頂いた、“ゴーシェ病患者及び親の会” “ファブリー病患者と家族の会” “ポンペ病の会” “日本ムコ多糖症親の会” の会員の皆様に謝意を表します。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

- 1) 野々村大地, 坪井一哉: ファブリー病ヘテロ型における臨床症状の検討. 第 78 回日本交通医学東海北陸地方会, 名古屋, 2009.12.26
- 2) 平野雅規, 坪井一哉, 山本浩志: 日本人ファブリー病の遺伝子型・表現型の相関. 第 78 回日本交通医学東海北陸地方会, 名古屋, 2009.12.26
- 3) 荘加 静, 坪井一哉, 古田祐子: ファブリー病における眼病変と血管病変の解析. 第 78 回日本交通医学東海北陸地方会, 名古屋, 2009.12.26
- 4) 山本浩志, 坪井一哉, 伊藤 太: ファブリー病と聴覚障害. 第 78 回日本交通医学東海北陸地方会, 名古屋, 2009.12.26
- 5) Yokoyama M, Sugiura Y, Tsuboi K, Niimi T, Akita K, Sato S, et al. : A case of

hypoventilation syndrome associated with Pompe disease using adaptive servo ventilation. The 3rd International Symposium of Lysosomal Storage Diseases, Nagoya, Japan, 2009.9.26-27

- 6) Yamamoto H, Ito F, Nakashima T, Tsuboi K : Auditory dysfunction in Fabry disease. The 3rd International Symposium of Lysosomal Storage Diseases, Nagoya, Japan, 2009.9.26-27
- 7) Tsuboi K, Nitta M, Ueda R : Investigation on Health Related QOL of Patients with Fabry disease in Japan. The 9th International Symposium on Lysosomal Storage Diseases, Frankfurt, Germany, 2009.4.24-25

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

【参考文献】

- 1) 福原俊一、鈴嶋よしみ: 健康関連 QOL 尺度 SF-36v2 日本語版マニュアル. NPO 健康医療評価研究機構, 2004
- 2) 福原俊一、鈴嶋よしみ: 健康プロファイル型尺度(SF-36を中心に). 臨床のための QOL 評価ハンドブック, 医学書院, 2001

ムコ多糖症の患者家族における酵素補充療法に関する意識調査

分担研究者：奥山 虎之(国立成育医療センター 臨床検査部 部長)

研究要旨

近年、ムコ多糖症 I 型、II 型、VI 型において酵素補充療法 (ERT) が可能となったことにより、様々な期待や問題に対する議論が重ねられている。本調査は、日本におけるムコ多糖症患者・家族の ERT に関する意識を評価し、心理社会的な側面から ERT の現状と問題点を明らかにすることを目的とした。『ムコ多糖症親の会』に所属する家族と成人患者を対象として実施した質問紙調査の結果を報告する。

研究協力者：

奥山 虎之(国立成育医療センター 臨床検査部)

田中 藤樹(国立成育医療センター 遺伝診療科)

田尾絵里子(国立成育医療センター 臨床検査部)

A. 研究目的

2006 年より、ムコ多糖症 (MPS) I 型、II 型、VI 型において、酵素補充療法 (ERT) が可能となった。ERT の開発により、MPS の治療の可能性は広がったが、毎週約 3 時間の点滴を受けるため通院しなければならないなど、患者家族に与える治療そのものの負担が大きい。また、中枢神経系の問題の改善が期待できないなど、その成果にも限界がある。

本調査は、日本におけるムコ多糖症患者・家族の ERT に関する意識を評価し、心理社会的な側面から ERT の現状と問題点を明らかにすることを目的とした。アメリカ合衆国とオーストラリアで行われた先行研究を参考に、日本における患者家族の酵素補充療法に対する意識調査を実施した。(先行研究：① David J. Coman, et al : Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidoses : opinions of patients and families. *J Pediatr* 152(5) : 723-7, 2008. ② Hayes IM, et al : Newborn screening for mucopolysaccharidoses :

opinions of patients and their families. *Clin Genet* 71 : 446-450, 2007.)

B. 研究方法

郵送による質問紙調査を実施した。研究対象者は、「ムコ多糖症 親の会」に所属している両親・保護者(180 家族)と成人患者(27 人)である。成人患者は、18 歳以上の知的障害を伴わない軽症型であることを条件とした。郵送手続きは、「ムコ多糖症 親の会」事務局に依頼し、説明文書および質問紙を「ムコ多糖症 親の会」に所属している両親・保護者と MPS 成人患者に郵送した。質問紙内容は、回答者の情報に関する質問項目、*臨床像を仮定したシナリオ形式の質問項目を含む。ERT を実際に受けている患者家族に対しては、ERT にかかる通院時間や不安についての質問項目を追加した。各家族に、両親・保護者用の質問紙を 2 部ずつ郵送し、対象となるムコ多糖症成人患者には、別個で郵送した。質問紙回答は、返信用封筒にて郵送にて回収、集計し、統計学的処理 (χ^2 検定など) を用いて分析した。

*臨床像を仮定したシナリオ形式の質問例：

A ちゃんは 11 歳の女の子で、MPS による重症の身体的な問題を抱えています。彼女は歩くことができずに車いすに乗っています。MPS による知

的な問題はありませぬ。酵素補充療法によって、彼女の余命が大きくのびることが期待できます。Aちゃんは、ERTを受けた方がいいと思われませんか？①はい、②いいえ、のいずれかを選択。

C. 研究結果

回収結果は、全体では 208 人(回収率：54%)、家族数では 125 家族(回収率：69%)、MPS 成人患者は 23 人(回収率：85%)、両親・保護者は 185 人(回収率：51%)であった。両親保護者の内訳は、母親 116 人、父親 66 人、その他 3 人。平均年齢は、成人患者 29.3 歳(range：19 歳～59 歳)、両親・保護者 47.6 歳(range：25 歳～75 歳)。MPS の病型は、MPS I 型 16 人、II 型 112 人(重症型 68 人、軽症型 44 人)、III 型 22 人、IV 型 28 人、VI 型 3 人、ムコリピドーシス II 型 13 人、ムコリピドーシス III 型 11 人、不明 3 人であった。

臨床像の仮定シナリオ形式を用いた質問では、シナリオを 7 例提示したが、いずれの臨床像に対しても、身体的な問題と知的な問題の重軽症を問わず、ERT を受けた方が良いという肯定的な意見が多かった。身体的な問題が重症で、知的な問題がない(シナリオ 1)では 94%、身体的な問題が軽症で、知的な問題もない(シナリオ 2)では 68%、身体的な問題が重症で知的な問題がある(シナリオ 3)では 75%の回答者が、ERT を受けた方が良いと回答した。

ERT を実際に受けている患者・家族に対してのみ行った、ERT の通院状況についての質問項目への回答は、87 人であった。交通手段は、95%の回答者が車で通院していた。通院にかかる平均時間は、36 分であった。通院の付き添いは、成人患者が一人で通院している例を除いた全員が、母親が付き添っていた。母親と共に父親や祖父母、きょうだい児が付き添っていた例が複数あった。ERT を受ける際に不安あるいは負担と感じることにについては、「治療の継続」が最も多く、「治療の効果」、「MPS 患児の学業や仕事への影響」が次いで多かった。それ以外では、「通院の際の移動」、「経

済的負担」、自分自身の仕事への影響」、「きょうだい児への影響」などがあつた。

D. 考察

大多数の回答者は、知的な問題が改善されないとしても、ムコ多糖症の酵素補充療法(ERT)を肯定的に捉えていることが示唆された。この結果は、回答者の性別、患児の病型や知的障害の有無において比較検討した結果も同様であつた。アメリカ合衆国とオーストラリアで行われた先行研究では、両国間に有意差は得られなかったと報告されていたが、本研究と先行研究を比較検討したところ、シナリオ 3 において、日本の 75%に対し、アメリカ合衆国とオーストラリアでは 47%と、ERT に対して否定的な意見が多かった。身体的な問題と知的な問題の両方において重症な場合に対しても、日本の患者家族がより肯定的に捉えている背景には、治療方針、医療保険制度、社会制度、文化や宗教などの違いが考えられる。

実際に ERT を受けている回答者の多くは、母親一人の付き添いであり、毎週半日以上が ERT の通院と治療にかかっていた。「治療の継続」が不安であるという回答では、患児本人の負担だけではなく、両親の高齢化や、きょうだい児への影響なども含まれており、通院そのものが家族全体に与える心理社会的な負担が大きいことが示唆された。

詳細については、今後具体的な分析を進めていく必要がある。

E. 結論

両親・保護者は、患児にできる限りの治療を受けさせたいと思う気持ちと同時に、酵素補充療法にともなう時間的・精神的・身体的な問題や、家族機能の消耗など、様々な負担に対し、不安を感じている。患者・家族に対する適切なフォローアップ体制、遺伝カウンセリングのあり方を検討したい。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

患者家族における酵素補充療法と新生児マス・スクリーニングに関する意識調査. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会, 東京, 2009. 11

2. 学会発表

- 1) 田尾絵里子, 四元淳子, 小須賀基通, 田中藤樹, 大森美香, 川目 裕, 奥山虎之: ムコ多糖症の

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

ライソゾーム病(ファブリー病含む)に関する研究

分担研究者：遠藤 文夫(熊本大学大学院 生命科学研究部小児科学分野 教授)

研究要旨

ファブリー病はX連鎖性遺伝形式の先天代謝異常症であり、 α ガラクトシダーゼの欠損によって発症する。われわれは、酵素活性のろ紙血測定法を用いて、説明と同意に基づいたファブリー病の新生児マススクリーニングのパイロットスタディを行った。

A. 研究目的

ファブリー病はX連鎖性遺伝形式の先天代謝異常症であり、リソゾーム酵素である α ガラクトシダーゼの欠損によって発症する。近年この疾患に対して酵素補充療法が導入され、患者のQOLの改善が可能になった。そのため、ファブリー病の早期発見と早期治療が重要となってきた。しかし、ファブリー病の症状は多様であるため、早期の診断は困難であることも少なくない。われわれは、新生児ろ紙血検体を用いたファブリー病のマススクリーニングを行った。

B. 研究方法

われわれは、新生児ろ紙血検体を用いたファブリー病のマススクリーニングを行った。Chamolesらの方法を改変し、ろ紙血検体の α ガラクトシダーゼ酵素活性を測定した。新生児ろ紙血検体中の α ガラクトシダーゼ酵素活性測定法を用いたファブリー病のマススクリーニングを試みた。平成18年8月から熊本県、その後、福岡市、宮崎県、佐賀県、広島市、香川県などの自治体において、現行の新生児マススクリーニングに加えて、説明と同意に基づいたファブリー病のマススクリーニングを開始した。このスクリーニング陽性者とその家族に遺伝カウンセリングをおこなったうえで、ダイレクトシーケンス法を用いた α -ガラクトシダーゼ遺伝子解析を行った。また、

この測定法を利用した成人のファブリー病ハイリスク者の酵素活性の測定を開始した。

(倫理面への配慮)

本研究は熊本大学倫理委員会の承認と保護者への説明と同意に基づいて活性低値の新生児に対して、ファブリー病の説明と遺伝カウンセリングを行った。

C. 研究結果

熊本県、福岡市、佐賀県、宮崎県、広島県、香川県と、神戸市の一部、沖縄県の一部の産科施設において、現行の新生児マススクリーニングに加えて、ファブリー病の新生児におけるスクリーニングのパイロットスタディを行った。ろ紙血を用いた α ガラクトシダーゼ活性測定法を用いて、説明と同意に基づいたファブリー病の新生児スクリーニングを行った。

遺伝子解析を含めた精密検査を行った。これまでに新生児において1年間に約70,000名の酵素活性の測定を行った。これまでの研究において約182,000名中33名の酵素活性の異常低値者が明らかになった。活性低値の新生児と家族に対して、遺伝カウンセリングを行い、 α ガラクトシダーゼ遺伝子解析を行った。その中で古典型ファブリー病に認められる変異は4名の男児に認められた。そのことから、ファブリー病のわが国における頻

度は、男性の約 5,700 名に 1 名、古典型ファブリー病の頻度は、男性の約 23,000 名に 1 名であると推定された。

D. 考 察

このスクリーニングによってわが国におけるファブリー病の頻度を推定することができた。また、簡便で安価な酵素測定法を用いることで、ファブリー病の発症前の診断も容易となった。同様の方法を用いることで、成人のファブリー病についても酵素活性の診断を簡便に安価に行うことが可能となった。

ファブリー病の新生児におけるスクリーニングは臨床的にも研究対象として有用であるため、今後もパイロットスタディを継続する予定である。さらに、成人のファブリー病のハイリスク者とされる心疾患・腎疾患・脳血管障害患者における本法を用いたファブリー病のスクリーニングは、早期発見と治療に有用と考えられる。本研究では先天代謝異常症の専門家のネットワークを用いることで対象地域を限った効率的な研究を行うことができた。

E. 結 論

ろ紙血を用いたファブリー病のスクリーニングは、簡便で安価なファブリー病の検査法として有用であると考えられた。安定で輸送が容易であるろ紙血検体を用いた酵素測定法は、ファブリー病の診断法として有用である。さらにファブリー病の安価で簡便な診断法の開発とわが国におけるファブリー病の頻度の推定を行った。また、本疾患を疑ったときに簡便に試みることができる検査法としても利用されている。一方でファブリー病のスクリーニングや遺伝カウンセリングにおいて配慮すべき点も少なくない。スクリーニング検査を慎重に行うことによってファブリー病患者の予後を改善できると考えている。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 中村公俊, 遠藤文夫: 遺伝性高チロシン血症. 小児疾患診療のための病態生理 2. 小児内科, 41(増), 2009
- 2) 大浦敏博, 新宅治夫, 高柳正樹, 呉 繁夫, 大和田操, 松原洋一, 芳野 信, 岡野善行, 伊藤哲也, 奥山虎之, 中村公俊, 松尾雅文, 遠藤文夫: テトラヒドロビオプテリン(BH4)反応性高フェニルアラニン血症に対する天然型 BH4 製剤塩酸サプロプテリンの適正使用に関する暫定指針 日本先天代謝異常学会: BH4 反応性高フェニルアラニン血症の診断と治療に関する専門委員会. 日本小児科学会雑誌, 133 : 649-653, 2009
- 3) 中村公俊, 遠藤文夫: 血中アミノ酸分析によって診断できる先天性アミノ酸代謝異常症 「広範囲 血液・尿化学検査 免疫学的検査」 III 生化学的検査. 日本臨床, 67 : 625-629
- 4) Kumamoto S, Katafuchi T, Nakamura K, Endo F, Oda E, Okuyama T, Kroos MA, Reuser AJ, Okumiya T : High frequency of acid alpha-glucosidase pseudodeficiency complicates newborn screening for glycogen storage disease type II in the Japanese Population. Mol. Genet. Metab, 97 : 190-5, 2009
- 5) Fujii H, Kono K, Goto S, Onishi T, Kawai H, Hirata KI, Hattori K, Nakamura K, Endo F, Fukagawa M : Prevalence and Cardiovascular Features of Japanese Hemodialysis Patients with Fabry Disease. Am J Nephrol, 16 : 527-535, 2009
- 6) Nakamura Y, Matsumoto S, Mochida T, Nakamura K, Takehana K, Endo F : Glycine regulates proliferation and differentiation of salivary-gland-derived progenitor cells. Cell Tissue Res, 336 : 203-12, 2009

濾紙血液を用いた蛍光的免疫補足酵素活性測定法による GSD II型(Pompe病)スクリーニング法の研究

分担研究者：北川 照男((財)東京都予防医学協会 理事長)

研究要旨

我々は、ライソゾーム病のうちで酵素補充療法が認可されている GSD II型、ファブリー病、MPS I型、MPS II型 4 疾患のハイリスク患者を対象としたスクリーニングを試み、その結果を報告してきた。

これらのスクリーニング法の中で、Chamoles らの GSD II型スクリーニング法は、酸性 α -glucosidase ($A\alpha G$) および中性 α -glucosidase ($N\alpha G$) を測定し、各々の比率によって診断する方法のために操作が比較的煩雑で、検体の大量処理が困難であった。そこで、我々は $A\alpha G$ ポリクローナル抗体を固相化したマイクロプレートを用いて、試料中の酵素を捕捉し、これに 4methylumbelliferyl- α -D-glucopyranoside (4MU-glu) を作用させて $A\alpha G$ 活性を測定する方法を開発した。本法は、検体の大量処理が可能で、従来法と同様に正常対照者と患者の区別が明らかであり、GSD II型スクリーニング法として有用であることを確認したので、これを用いた GSD II型のスクリーニング成績を報告する。

研究協力者

鈴木 健((財)東京都予防医学協会)
藤川 研人((財)東京都予防医学協会)
石毛 信之((財)東京都予防医学協会)
穴澤 昭((財)東京都予防医学協会)
田中あけみ(大阪市立大医学部小児科)
大橋 十也(東京慈恵医科大学小児科)
井田 博幸(東京慈恵医科大学小児科)
小林 博司(東京慈恵医科大学小児科)
衛藤 義勝(東京慈恵医科大学小児科)
大和 田操(女子栄養大学小児栄養学)

A. 研究目的

GSD II型をスクリーニングするために、従来の Chamoles らの方法よりも操作が簡便で、検体の大量処理が可能で、検査精度が高い $A\alpha G$ ポリクローナル抗体を用いた蛍光的免疫捕捉酵素活性

測定法を開発したので報告する。

B. 研究対象および方法

1) 対象

GSD II型患者 4 名、pseudo $A\alpha G$ deficiency 1 名、正常新生児対照者 12 名の濾紙血液を対象に本研究を行った。

2) 蛍光的免疫捕捉酵素活性測定による GSD II型スクリーニング法(図 1)

① $A\alpha G$ ポリクローナル抗体の固相化

- a. 0.2mol/L グリシン緩衝液(pH 10.7)に $A\alpha G$ ポリクローナル抗体(2 μ g/well) を溶解し、この溶液 100 μ l を各 well に加える。
- b. 25 $^{\circ}$ C、24~48 時間反応させて、 $A\alpha G$ ポリクローナル抗体をマイクロプレート(NUNC 269620)に固相化する。

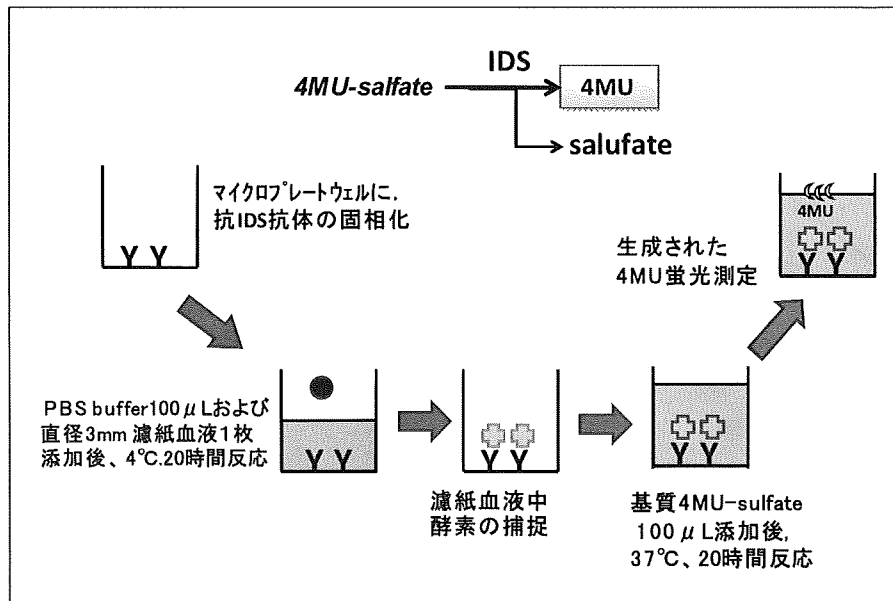


図1 蛍光的免疫捕捉法による GSD II 型酸性 α -glucosidase 酵素活性測定法の概略

- c. 25mM PBS (pH 7.2) で 3~5 回洗浄した後、保存液 300 μ L を各 well に加え、シールをして、4°C に保存する。(使用有効期間は約 3~6 か月)
- d. 保存液の組成の濃度は、10mM/L Na₂HPO₄, 138mM/L NaCl, 2.7mM/L KCl, 0.1% BSA, 0.015% thimerosal, 0.05% Tween20 である。

② A α G 活性の測定

- a. 作成した A α G ポリクローナル抗体固相化したプレートを 25mM/L の PBS (pH 7.2) で 3~5 回洗浄する。
- b. 直径 3mm 血液ディスク 4 枚を試験管に入れ 400 μ L の蒸留水を加え、Vortex にて 1 分間 mixing して、超音波 5 分間行い、次いで shaking machine で 45 分振盪する。
- c. 抽出した血液溶液 100 μ L を A α G 抗体が固相化されたマイクロプレートにいれる (1 検体 3well : 2 重測定およびブランク)。4°C、20 時間反応させ、血液試料中の酵素をマイクロプレートに捕捉する。
- d. 翌日、25mM/L PBS (pH 7.2) で 3~5 回洗浄した後、ブランク well を除いた 2 well に、40mM/L 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 3.8) で

溶解した 70mM/L 4MU-glu の合成基質溶液 100 μ l を加え、37°C、20 時間反応させる。残った基質は同様に 37°C で反応させ、翌日ブランクとして使用する。

- e. 次の日、ブランクに昨夜から反応させた合成基質 4MU-glu 100 μ l を加え、次にすべての well に反応を停止させるために 0.13M/L EDTA (pH 11.5)、200 μ l を加え、5 分間 mixing 後、各 well の全量を蛍光強度を測定するために黒マイクロプレートに移す。
- f. 各検体の蛍光を Ex 355nm, Em 460nm で測定し、同時に測定した 0~635pmol 濃度の Calibrator から A α G 活性を算出する。

(倫理面への配慮)

本研究のライソソーム病患者と正常対照者の血液および尿は、その用途、研究目的を事前に文章にて説明した後、承諾書に署名を得てから採取し、これらの検体を用いて本研究を行った。

C. 研究結果

1. GSD II 型スクリーニング成績

① A α G (マイオザイム) 標準曲線

マイオザイム (Genzym 社) を用いた A α G

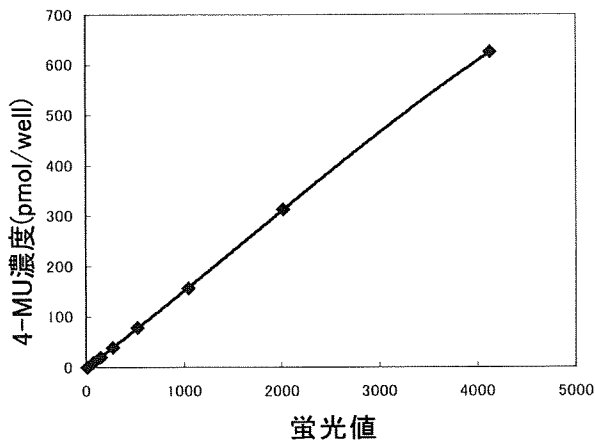


図2 酸性 α -glucosidase 標準液検量線

表1 Chamoles らの方法と蛍光的免疫捕捉活性測定法による酸性 α -glucosidase 測定値との比較

	酸性・中性 α -glucosidase 測定法			蛍光的免疫捕捉法
	AaG/AaG (<25%)	AaG-AaG/AaG (>75%)	NaG/AaG (>25times)	
患者 1	8.5	91.5	101.1	-0.11
患者 2	10.7	89.3	69.6	-0.01
患者 3	21.2	78.8	28.7	-0.24
患者 4	24.4	75.6	30.4	-0.13
pseudo deficiency	16.3	89.3	58.4	-0.16
正常対照 1	42.7	57.3	6.0	2.59
正常対照 2	40.0	60.0	5.7	1.89
正常対照 3	46.0	54.0	6.3	3.25
正常対照 4	45.1	54.9	7.7	2.07
正常対照 5	40.7	59.3	7.6	2.43
正常対照 6	40.9	59.1	9.4	4.39
正常対照 7	44.5	55.5	6.7	3.31
正常対照 8	74.4	25.6	2.4	4.45

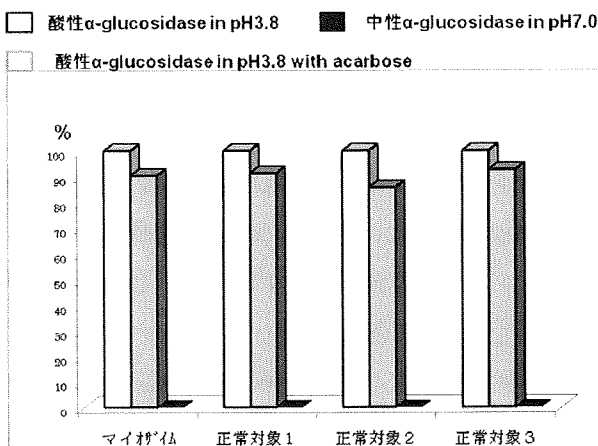


図3 蛍光的免疫捕捉酵素活性測定法における酸性 α -glucosidase、中性 α -glucosidase 測定値

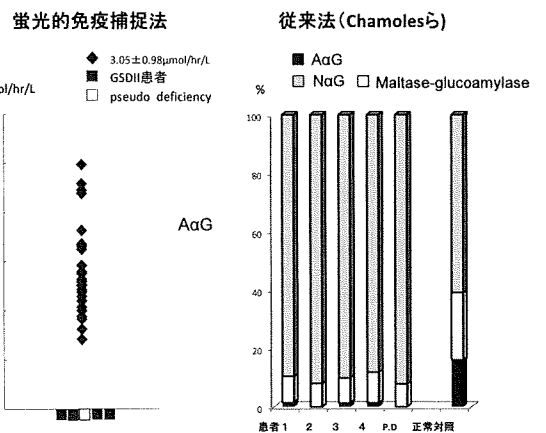


図4 GSD II型患者および正常対照者の同一濾紙を用いた従来法と蛍光的免疫捕捉法のAaG値

標準曲線は、図2に示す。

- ② 本法による正常対照濾紙血液中のAaGおよびNaG活性

本法による正常対照濾紙血液中AaG測定値は、図3に示すように、類似酵素阻害剤のアカルボースを加えると、約10%程度の減少がみられたので、AaGに対してアカルボースは若干の阻害作用を示すと思われた。一方、pH 7.0におけるNaG活性は全く検出されず、本法の固相化マイクロプレートではNaGは捕捉されず、AaG活性を特異的に測定可能であった。

- ③ 従来法と本法によるAaG活性測定値の比較

表1に従来法と本法によるAaG測定値の比較を示し、これを図に表した(図4)。い

れの方法も患者と正常新生児対照との区別が明らかであった。

本法の α -gal A 酵素活性値は、正常対照 $3.05 \pm 0.98 \mu\text{mol/hr/L}$ で、これに対して患者の測定値はすべて0以下であり、患者と正常対照との鑑別は従来法よりもより容易であった。

D. 考察

我々が開発した蛍光的免疫捕捉酵素活性測定法によるGSD II型患者濾紙血液中のAaG測定値は、Chamoles らの方法よりも容易である上に、正常対照と比較して明らかに低値であり、患者の診断を速やかに行うことができた。

E. 結論

GSD II型スクリーニングにおける蛍光的免疫

捕捉酵素活性測定法は、固相化プレートに試料中の A α G のみを捕捉し、類似酵素の影響を受けずに酵素活性を測定することが可能である。また、操作手技が簡便で、検体の大量処理が可能であり、新生児期の GSD II 型スクリーニングに有用な方法であることを確認した。

F. 研究発表

1. 国内

口頭発表 3 件
刊行雑誌 2 件

2. 学会発表

- 1) 石毛信之, 北川照男, 他: 東京都でのタンデム質量分析計による新生児. マスクリーニングのパイロット研究 第 2 報. 日本先天代謝異常学会雑誌, 25 : 113, 2009
- 2) 鈴木 健, 北川照男, 他: 濾紙血液を用いたライソゾーム病ハイリスクスクリーニング法の

研究. 日本先天代謝異常学会雑誌, 25 : 118, 2009

- 3) 鈴木 健, 北川照男, 他: 東京都における MS/MS による新生児マスクリーニング成績—第二報—. 日本マス・スクリーニング学会誌, 19 : 71(162), 2009

3. 刊行雑誌

- 1) 北川照男: PKU の予後を向上させた人々と患者たち. 日本マススクリーニング学会雑誌, 18(3) : 109-115, 2009
- 2) 北川照男: 第 50 回日本先天代謝異常学会開催を記念して—本学会から世界に発信した日本の業績に触れながら—. 日本先天代謝異常学会雑誌, 25(1) : 3-25, 2009

G. 知的所有権の出願・取得状況

特になし