

酵素補充療法中に死亡した3例のライソゾーム病患者の検討

分担研究者：高柳 正樹(千葉県こども病院 医療局長)

研究要旨

酵素補充療法中に死亡した3例のライソゾーム病患者(ゴーシェ病1例、ハンター症候群2例)の臨床経過を報告した。

一例のハンター症候群患者は idusulfatase による治療開始後2ヵ月後に、突然死亡した。死因は不明であった。もう一例のハンター症候群患者は、idusulfatase による治療開始後13ヵ月後に、原因不明の多臓器不全で死亡した。肝のネクロプシーでは病因は明確にはならなかった。ライソゾーム病患者におけるサイトカインなどの動態の検討が必要であると考えられた。1例のゴーシェ病患者は難聴、てんかん、パーキンソン病を思わせるトレモールが認められていた。imiglucerase による酵素補充療法開始後9年11ヵ月後に、自宅にて突然に死亡しているところを発見された。いくつかの臓器のネクロプシーでは異常所見を得られなかった。

A. 研究目的

最近ライソゾーム病のいくつかの疾患において酵素補充療法が行われるようになってきている。われわれはこれまでゴーシェ病5例、ハンター病2例、ハーラー病1例、ファブリー病1例に対して酵素補充療法を行って来た。その中で酵素補充療法中に3例のライソゾーム病患者(ゴーシェ病1例、ハンター症候群2例)の死亡を経験した。それぞれの症例の臨床経過をここに報告する。

B. 症例

死亡した症例は、①ハンター症候群。5歳時診断を受ける。重症型であり気管切開を受け、重症心身障害児施設に入所していた。22歳0ヶ月時より idusulfatase による酵素補充療法開始。②ハンター症候群。3歳児に診断を受ける。軽症型であり、社会人として勤務していた。22歳6ヶ月より idusulfatase による酵素補充療法開始。③ゴーシェ病。家族内検索で3ヶ月時に診断。生後4ヶ月より imiglucerase による酵素補充療法を開始。難

聴、てんかん、パーキンソン病を思わせるトレモールが認められていた。

(倫理面への配慮)

ネクロプシーはご家族のご許可を得て行った。

C. 死亡経過

- ① 酵素補充療法開始後2ヵ月後の22歳2ヶ月時に、気管切開カニューレによる肉芽からの出血で入院となる。入院後出血などなく経過していたが、14日後突然に心停止となった。カニューレからは血液、吐物など引けなかった。緊急蘇生行っても反応なく死亡した。かなり以前よりゼロゼロなど強く、呼吸器症状は慢性的に存在していた。剖検は行われていない。最終酵素補充療法から3日後であった。
- ② 治療開始後13ヵ月後に、感冒症状(腹痛、嘔吐、呼吸苦)発症後、原因不明の多臓器不全で死亡した。肝のネクロプシーを行ったが、病因は明確にはならなかった。ライソゾーム病患者

におけるサイトカインなどの動態の検討が必要であると考えられた。最終の酵素補充から少なくとも3日以上経過していた。

- ③ 治療開始後9年11ヵ月後、自宅にて突然に死亡しているところを発見された。自宅での死亡であったので、レントゲン検査、血液検査など行われていない。いくつかの臓器のネクロプシーでは異常所見を得られなかった。最終酵素補充から12日経過していた。

D. 考 察

最近酵素補充療法がライソゾーム病に行われるようになって、患者のQOLは大きく改善されている。われわれはこれまで合計9症例で酵素補充療法を行って来たが、内3例が補充療法中に死亡している。何れも経過中突然に発症し、その病態は不明であった。

われわれは以前ハンター症候群の自宅での突然死の経験している。ことに重症型のハンター症候群は、長期にわたる呼吸器症状のための負荷も大きいと考えられる。今回の症例も突然死にこれらの要素が大きく関与しているものと考えられた。

②、③症例は酵素補充療法開始から1年以上たってからの死亡であり、また突然の症状の発症であり、酵素補充療法とは直接の関係はないものと考えられた。何れの症例も最終酵素補充から3日以上経過してからの発症であることから、酵素補充とは直接の関係はないものと考えられた。

症例③は多臓器不全を呈した。これまでもライソゾーム病において各種のサイトカインの動向についてはいくつかの報告がなされている。今後酵素補充療法に伴うこれらサイトカインの動向などについても検討が必要なのではと考えられた。

E. 結 論

酵素補充療法中の死亡例を3例報告した。今後同様な症例があれば、全国的に情報を蓄積して検討していく必要があると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 水落弘美, 村山 圭, 高柳正樹, 長坂博範: 新生児聴覚スクリーニングの異常を契機に発見されたGM1 ガングリオシドーシスの一例. 日本マス・スクリーニング学会誌, 19: 59-62, 2009

2. 学会発表

1) 国内

- ① 口頭発表 2件

② 学会発表

- a. Murayama K, Takayanagi M, Sanayama Y, Nagasaka H: Four cases with lysosomal storage diseases treated by home mechanical ventilation therapy. The 3rd International Symposium of Lysosomal Storage Diseases, Nagoya, 2009
- b. Takayanagi M, Murayama K, Sanayama Y, Nagasaka N: Natural history of I-cell disease in Japan. The 3rd International Symposium of Lysosomal Storage Diseases, Nagoya, 2009

2) 海外

- ① Ohtake A, Akatsuka J, Hoshino M, Katoh T, Amemiya S, Ohasi T, Takayanagi M: 9th International Symposium on Lysosomal Storage Disease, Frankfurt, Germany, 2009

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

Ⅱ. 病態の解析

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

分担研究者：難波 栄二(鳥取大学生命機能研究支援センター教授)

研究要旨

β-ガラクトシダーゼ欠損症患者の遺伝子変異解析を行い、皮膚線維芽細胞に対するケミカルシャペロン NOEV(N-octyl-4-epi-β-valienamine)の酵素活性還元効果について検討を行った。また、新たなケミカルシャペロン候補化合物の効率的な探索のためのルシフェラーゼ発現系を用いた新規細胞系の構築を行った。

A. 研究目的

β-ガラクトシダーゼ欠損症の遺伝子変異解析を行い、培養細胞に対するケミカルシャペロンの効果の有無を判定し、変異型との相関を明らかにする。

B. 研究方法

1. β-ガラクトシダーゼ遺伝子変異解析と NOEV 効果の検討

β-ガラクトシダーゼ欠損症患者由来培養皮膚線維芽細胞からゲノム DNA を抽出し、全エクソンについてシークエンス解析を行った。NOEV(N-octyl-4-epi-β-valienamine)の酵素活性還元効果の検討は、培養皮膚線維芽細胞を 0.2、2 μM の NOEV を含む培地で 4 日間培養後、細胞抽出液の β-ガラクトシダーゼ酵素活性を 4-MU 人工基質を用い測定した。

2. ルシフェラーゼ発現系を用いたケミカルシャペロン効果測定のための新規細胞系の構築

ヒト正常および変異 β-ガラクトシダーゼ cDNA の C 末端に発光性鞭毛藻類由来の新規ルシフェラーゼ Dinofla 遺伝子を融合させた発現ベクターを構築した。培養 COS7 細胞にそれぞれ一過性に発現させ、NOEV 投与後、細胞抽出液と培養上清の β-ガラクトシダーゼ酵素活性とルシフェ

ラーゼ活性を測定した。

C. 研究結果

GM1-ガングリオシドーシス 2 検体について、遺伝子変異解析を行い、E143fsX186/? と R201H/G481X 変異を同定した。また、日本人乳児型 GM1-ガングリオシドーシス(I51T/Y316C)と変異解析を行った 2 検体の計 3 検体の培養線維芽細胞に対する NOEV の効果を検討した結果、R201H/G481X 変異の細胞で有意な酵素活性還元効果を認めた。

新規ルシフェラーゼ Dinofla 融合ヒト β-ガラクトシダーゼ cDNA 発現ベクターを一過性に培養 COS7 細胞に導入後、細胞抽出液と培養上清において β-ガラクトシダーゼ酵素活性とルシフェラーゼ活性をともに検出した。また、R201C 変異融合蛋白質を COS7s 細胞に発現後、0.2、2 μM の NOEV を含む培地で 24 時間培養後、有意なルシフェラーゼ活性の上昇を認めた。さらに、正常および R201C, I51T, R457Q 変異融合蛋白質の安定発現株を樹立した。

D. 考察

今回新たに 2 人の GM1-ガングリオシドーシスについて遺伝子変異を行い、新規変異 E143fsX186 を同定した。また培養線維芽細胞で

NOEV 効果を認めた細胞では R201H 変異蛋白質の残存酵素活性が上昇したと考えられた。

一方、昨年度までの我々の解析から、88 のミスセンス変異のうち NOEV による活性上昇効果は 22 の変異で認められ、効果を認めなかった変異酵素に対しては新たな化合物の探索が必要と考える。今回樹立したルシフェラーゼ細胞系は生細胞で酵素蛋白質を検出可能であり、今後化合物ライブラリーの検索など大規模スクリーニングに有用な資材になると考える。

E. 結論

β -ガラクトシダーゼ欠損症の遺伝子変異解析を行い、NOEV 効果と変異型について検討を行った。ルシフェラーゼを用いた新しい酵素蛋白質検出系を樹立した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sawada T, Tanaka A, Higaki K, et al : Intracerebral cell transplantation therapy for murine GM1 gangliosidosis. *Brain Dev*, 31 : 717-724, 2009
- 2) Otomo T, Higaki K, Nanba E, et al : Inhibition of autophagosome formation restores mitochondrial function in mucopolipidosis II and III skin fibroblasts. *Mol Genet Metab*, 98 : 393-399, 2009

2. 学会発表

- 1) Higaki K, Nanba E, Suzuki Y : Screening of chemical chaperone effect for GM1-gangliosidosis. 11th ICIEEM, San Diego, CA, 2009..8.29-9.2
- 2) 難波栄二, 檜垣克美, 鈴木義之 : GM1-ガングリオシドーシスに対するケミカルシャペロン療法 : 88 種類のミスセンス変異に対する NOEV の効果. 第 51 回日本小児神経学会総会, 米子, 2009.5
- 3) Li L, Higaki K, Adachi K, Matsuda J, Ogawa S, Iida M, Iwasaki H, Suzuki Y, Nanba E : Screening of chemical chaperone effect for human mutant beta-galactosidase. 第 9 回アジア・オセアニア小児神経学会, 2009.6
- 4) Higaki K, Takamura A, Li L, Matsuda J, Suzuki Y, Nanba E : Cellular dysfunction in murine GM1-gangliosidosis. 第 3 回国際ライソゾーム病シンポジウム, 第 14 回日本ライソゾーム病シンポジウム, 名古屋, 2009.9
- 5) Li L, Higaki K, Matsuda J, Iida M, Suzuki Y, Nanba E : Screening for chemical chaperone therapy in beta-galactosidosis. 第 3 回国際ライソゾーム病シンポジウム, 第 14 回日本ライソゾーム病シンポジウム, 名古屋, 2009.9

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

ハンター症候群患者における酵素補充療法の効果に関する研究

分担研究者：芳野 信(久留米大学小児科教授)

研究要旨

ハンター症候群患者重症型 2 名(1 兄弟)に対してイデュルスルファターゼの補充療法を行い、約 2 年経ったため評価を行った。

開始後 18 ヶ月時点で、両者とも尿中ウロン酸排泄が正常化し、肝脾腫と心室肥大の著明な改善が認められた。成長率に関しては、兄は著明改善、弟では現状維持可能であった。増悪所見としては、弟で肩関節拘縮と頭部 MRI 上の頭部拡大の進行が認められたのみであった。その他の項目では特に変化はみられなかった。本症が進行性疾患であることを考慮すると、増悪しなかった所見についてもある一定の効果があったことが示唆される。

ハンター症候群患者への酵素補充療法効果は臓器毎・個人間での差が認められた。本研究での観察期間は短く、今後長期間にわたる症例の蓄積と分析が必要である。

研究協力者氏名：

渡邊 順子(久留米大学小児科講師)

大平 智子(医員)

西村 美穂(医員)

A. 研究目的

ハンター症候群患者における酵素補充療法の評価に関する臨床研究

B. 研究方法

ハンター症候群患者重症型 2 名(7 歳男児と 9 歳男児、1 兄弟)に対して、イデュルスルファターゼ 0.5mg/kg 点滴静注を週 1 回施行した。治療効果の評価は、市販後調査の規約に沿って、その項目に対して評価した。

これらは何れも本学倫理委員会の規定に沿ったものである。

C. 研究結果

酵素補充療法前と比べ、開始後 18 ヶ月時点では、両者とも尿中ウロン酸排泄の正常化、肝脾腫

と心室肥大の改善がみられた。また、両者とも 6 分間歩行検査、睡眠時無呼吸検査、知能検査では変化を認めなかった。有害事象は、兄に 1 回だけ発熱(自然解熱)がみられたのみであった。

兄では成長率の著明な改善と左心室後壁・心室中隔の肥厚の軽減を認めた。関節可動域・頭部 MRI 上での変化は認められなかった。

一方、弟では成長率は変わらず心筋肥大は軽度改善されたものの、肩関節拘縮の進行と脳室拡大の軽度の進行が認められた。

D. 考察

両者とも肝脾腫・心筋肥大に関して治療効果が認められた。増悪所見としては、1 例で肩関節の拘縮の進行、脳室拡大の軽度の進行が認められたのみであった。本症が進行性の疾患であることを考慮すると、現状維持可能であった項目についても、ある一定の治療効果があったと考えられた。

本研究は 1 兄弟例についてであったが、その兄弟間においても治療効果の差が認められ、個人差

が大きいことが示唆された。

本研究については、観察期間が短いことから、今後継続的に評価を続ける予定である。

E. 結 論

ハンター症候群患者への酵素補充療法は一定の効果を認めたが、臓器毎・個人間での差もみられた。今後長期間にわたる症例の蓄積と分析が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 神戸太郎：成長発達遅滞，退行，眼振，肝脾腫を認めた1歳0ヶ月女児。症例から学ぶ先天代謝異常症。日本先天代謝異常学会編集，診断と治療社(東京)，157-160，2009。総頁数 237。

2. 学会発表

1) 原 宗嗣，大矢崇志，渡辺順子，山下裕史朗，松石豊次郎，芳野 信：不随意運動を呈したムコリピドーシス3型の1例。第51回日本小児神経学会総会，米子，2009.5.28-30

2) Kanbe T, Iizuka C, Watanabe Y, Yoshino M : Effects of a high-dose course with Imiglucerase in an infant with type 2 Gaucher disease. The 3rd International Symposium of Lysosomal Storage Diseases, 名古屋, 2009.9.26-27

3) Oohira T, Okada J, Imamura K, Watanabe Y, Hashimoto T, Yoshino M : Ulceration of legs in a 15 year-old boy : an unusual symptom of Fabry disease. The 3rd International Symposium of Lysosomal Storage Diseases, 名古屋, 2009.9.26-27

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

日本人ムコリピドーシスⅡ/Ⅲの遺伝子解析

分担研究者：酒井 規夫(大阪大学大学院医学系研究科 小児科学講座)

研究要旨

リソソーム病の一つであり、著明な骨病変、心弁膜症、神経症状を来すムコリピドーシスの培養皮膚線維芽細胞を用いて、この疾患の特徴である Inclusion body がなにかを調べ、細胞における病態解明を行なった。細胞におけるオートファジーのマーカーの発現が亢進しており、また Inclusion body が拡張したリソソームだけでなく、オートファゴソームが多数含まれていることを初めて明らかにした。またミトコンドリア機能障害が生じていることも示した。

A. 研究目的

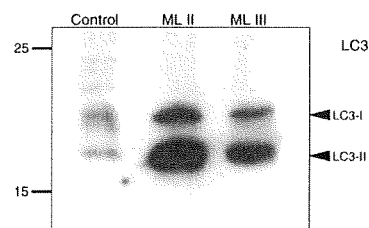
ムコリピドーシスⅡ/Ⅲ (MLⅡ/Ⅲ)の患者の培養皮膚線維芽細胞においてリソソームが本質的に関わるオートファジーがどのように変化しているか、またこれが病態にどのように関与するかを調べることを目的とした。

B. 研究方法

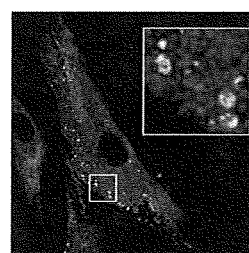
- 1) MLⅡ/Ⅲの培養皮膚線維芽細胞を用いたオートファジーのマーカー蛋白の評価;MLⅡ 1名、MLⅢ 1名と正常対照の皮膚線維芽細胞の蛋白を用いて Western blot により、LC3, beclin-1, p62, Ub の発現を評価した。
- 2) 培養皮膚線維芽細胞をオートファジーマーカーで免疫染色して細胞内局在の評価; LC3, Lamp-2, lysotracker で染色し、マーカーの分布や正常細胞との差を調べた。
- 3) 培養皮膚線維芽細胞のミトコンドリアの形態、機能の解析; mitotracker での染色による形態変化を観察し、膜電位による機能評価を行なった。またこの変化がオートファジーの阻害剤である 3-MA の処理でどのように変化するか観察した。

C. 研究結果

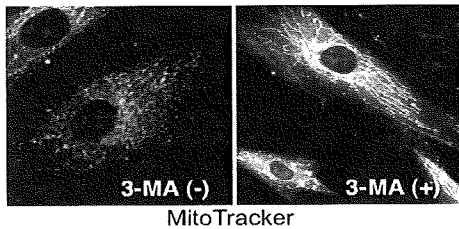
- 1) MLⅡ/Ⅲの培養皮膚線維芽細胞を用いたオートファジーのマーカー蛋白の評価;LC3はMLⅡ/Ⅲ細胞でともに著明な増加を認めたが、beclin-1 の変化は認めなかった。またユビキチン化に関与する p62, Ub はいずれも増加していることが認められた。



- 2) 培養皮膚線維芽細胞をオートファジーマーカーで免疫染色して細胞内局在の評価; Lysotracker でリソソームが染色されるが、Inclusion body と思われるものの中に LC3 に染色される特に大きなベジクルがオートファジーと考えられる。これは Lamp-2, Ub ともオーバーラップしていた。



3) 培養皮膚線維芽細胞のミトコンドリアの形態、機能の解析; mitotracker 染色によりミトコンドリアの形態が正常に比して、MLⅡ/Ⅲ細胞において分断化しており、その染色強度も弱くなっていることが観察された。またオートファジーの阻害薬 3-MG の処理により、この患者細胞における形態変化が著しく改善することを観察した。



D. 考 察

ムコリピドーシスは典型的なものがⅡ型(I-cell病)、軽症のものがⅢ型と呼ばれるが、そのいずれにおいてもオートファジーが亢進していることが示唆された。Inclusion bodyと言われていた膨大化したリソソームと思われていたベジクルの一部は巨大なオートファゴソームであることが示された。またこのオートファジーの亢進に伴い、ミトコンドリアの形態及び機能が障害されていることが初めて示され、これがオートファジーを阻害することにより改善することが示されることより、今後の治療法の開発に重要な知見と考えられる。

E. 結 論

I-cell病の名前のもとになった Inclusion がリソソームのみならず、膨大したオートファゴソームを含むことが判明し、またこの存在がミトコンドリア機能に影響を及ぼすことにより細胞機能の障害を来している可能性が示された。今後は更にオートファジー、ユビキチネーション、ミトコンドリアに関与するマーカーを調べることによりムコリピドーシスの本態を解明し、治療戦略の発端を見いだす情報と考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Otomo T, Muramatsu T, Sakai N et al. : Mucopolipidosis II and III alpha/beta : mutation analysis of 40 Japanese patients showed genotype phenotype correlation, *J Hum Genet*, 54(3) : 145-51, 2009
- 2) Araya K, Sakai N, Mohri I, et al. : Localized donor cells in brain of a Hunter disease patient after cord blood stem cell transplantation., *Mol Genet Metab*, 98(3) : 255-63, 2009.11
- 3) Otomo T, Higaki K, Sakai N. et al. : Inhibition of autophagosome formation restores mitochondrial function in mucopolipidosis II and III skin fibroblasts., *Mol Genet Metab*, 98(4) : 393-9, 2009.12
- 4) Sakai N. : Pathogenesis of leukodystrophy for Krabbe disease : molecular mechanism and clinical treatment., *Brain Dev*, 31(7) : 485-7, 2009.8

2. 学会発表

- 1) 西田千夏子, 金川武司, 小巻正泰, 吉津紀久子, 水田依久子, 谷口真理子, 酒井規夫, 野口眞三郎, 戸田達史: 当院における羊水染色体検査の現状と遺伝子診療部の取り組み. 第33回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 兵庫, 2009.5
- 2) 折居恒治, 酒井規夫, 大友孝信, 折居忠夫, 三浦良介, 寺澤厚志, 岩井明日香, 伊藤玲子, 今村淳 : 頭蓋骨早期癒合症を合併した MucopolipidosisⅢ型の1例. 第51回日本小児神経学会総会, 米子, 2009.5
- 3) 新谷 研, 森田祥子, 北井征宏, 富永康仁, 下野九理子, 沖永剛志, 毛利育子, 酒井規夫, 谷池雅子, 大藪恵一 : 乳児期早期の Sturge Weber 症候群における患側大脳白質の髄鞘化促進の可能性 : 画像的及び病理学的検討. 第

- 51 回日本小児神経学会総会, 米子, 2009.5
- 4) 武田泰輔, 田中あけみ, 山岡小百合, 大友孝信, 酒井規夫, 山野恒一: 尿中ムコ多糖分析の異常から診断に至ったムコリピドーシスⅢ型の 2 症例. 第五回近畿先天代謝異常症研究会, 大阪, 2009.6
- 5) 酒井規夫, 濱田悠介, 富永康仁, 沖永剛史, 大藺恵一: ハンター病 5 例の酵素補充療法の経験. 第五回近畿先天代謝異常症研究会, 大阪, 2009.6
- 6) 酒井規夫: リソソーム病の診断と治療法の最前線—蓄積病を疑うべきとき—. 小児成長研究会, 東京, 2009.7
- 7) 酒井規夫: シンポジウム; 先天性代謝異常症の遺伝カウンセリング. 「副腎白質ジストロフィーの遺伝カウンセリング」. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会, 東京, 2009.11
- 8) 新谷 研, 酒井規夫, 毛利育子, 下野九理子, 沖永剛史, 橋井佳子, 太田秀明, 谷池雅子, 大藺恵一: 臍帯血幹細胞移植を施行した Hunter 症候群の中樞神経系における組織学的検討. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会, 東京, 2009.11
- 9) 濱田悠介: ハンター病に対する酵素補充療法の効果について. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会, 東京, 2009.11
- 10) 大友孝信, 檜垣克美, 難波栄二, 大藺恵一, 酒井規夫: ムコリピドーシスⅡ型/Ⅲ型の皮膚線維芽細胞におけるオートファジーの解析. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会, 東京, 2009.11
- 11) 山崎早苗, 甲斐明彦, 高尾大士, 井石倫弘, 笹野衣里, 木下大介, 西川嘉英, 隅清 彰, 酒井規夫: 胎児期より多発奇形を指摘されていたピルビン酸脱水素酵素欠損症の 1 例. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会, 東京, 2009.11

ニーマンピック病 A/B 病の臨床および病態に関する研究

分担研究者：高橋 勉(秋田大学大学院医学系研究科医学専攻機能展開医学系小児科学講座)

研究要旨

ニーマンピック病 A/B 型はライソゾーム酵素である酸性スフィンゴミエリナーゼの異常で、肝脾腫や肺機能異常、重症では神経学的退行を主症状にする稀な遺伝性疾患である。本症の基本病態は細胞内エンドゾームへのスフィンゴミエリンおよびコレステロールの蓄積である。患者培養細胞を用いて、細胞内脂質輸送に関わる ABCA1、ABCG1 及び NPC1 の調節因子による病態への影響、スフィンゴミエリンの細胞内合成系抑制剤による病態への影響を調べた。その結果、ABCA1 及び ABCG1 の発現レベルを調節する LXR アゴニスト T0901317 の患者細胞内蓄積脂質の減少作用が示唆された。ニーマンピック病 A/B 型の病態に細胞内脂質輸送に関する機構が二次的に関わっていることが示され、今後治療法の開発へ結び付く可能性がある。

A. 研究目的

ニーマンピック病 A/B 型(NP-A/B)はライソゾーム酵素である酸性スフィンゴミエリナーゼ(ASM)の異常で、肝脾腫や肺機能異常、重症では神経学的退行を主症状にする稀な遺伝性疾患である。難治ではあるが欧米にて酵素補充療法が開発され、今後、積極的治療の対象となる疾患である。本症の基本病態は細胞内エンドゾームへのスフィンゴミエリン(SM)蓄積である。細胞内脂質輸送に関わる分子機構が次々と解明されているが、これらの知見を用いて NP-A/B の細胞内 SM 蓄積の病態を明らかとすることが目的である。また国内症例の酵素・遺伝子診断を通じて日本人患者の臨床的検討も行う。

B. 研究方法

NP-A/B の基本病態である SM 代謝異常は、SM および SM と親和性の強いコレステロール(Ch)の細胞内輸送障害を引起す。疾患細胞を用いて SM および Ch の細胞内輸送に関わる新規蛋白との関係を調べた。1) NP-A/B 培養皮膚線維芽細胞

を用いて Ch 輸送に関与する ABC 蛋白(ABCA1、ABCA3、ABCA7、ABCG1)の mRNA および蛋白発現レベルを調べた。2) ABCA1 および ABCG1 の細胞内発現レベルを調節する LXR アゴニスト T0901317 の NP-A/B 細胞蓄積 SM および Ch への影響を調べた。3) NP-A/B 細胞において SM 合成系酵素インヒビターの蓄積 SM、Ch への影響を調べた。4) NP-A/B 細胞においてエンドゾーム内 Ch 排泄に関与する NPC1 に関与する薬剤の影響を調べた。細胞内 SM は SM 結合蛋白ライセニンを使用した免疫染色、Ch はフィリピン染色を用いた免疫染色を用いて解析した。

C. 研究結果及び考察

- 1) NP-A/B 細胞において ABCA1 および ABCG1 の発現低下が確認された。特に ABCG1 に関し蛋白レベルでの低下が確認された。ABCG1 は細胞から SM や Ch の細胞外排出に関与する。したがって疾患特徴的な泡沫細胞形成を説明する病態かも知れない。
- 2) NP-A/B 細胞に対して LXR アゴニスト

T0901317を用いると ABCG1 の蛋白発現量の上昇が観察された。蓄積 SM および Ch の減少も観察された。

- 3) SM 細胞内合成系に関与する酵素 SPT 抑制薬 myriocin、SMS 抑制剤 D609 のエンドゾーム蓄積 SM、Ch への影響を調べたが明らかでなかった。また、エンドゾームから Ch の細胞内輸送を調節する NPC1 を調節する薬剤 forskolin、thapsigargin も同様に明らかな影響を示さなかった。SM に関しては形質膜からエンドゾームへの経路に関与する薬剤の影響を調べるのが今後の課題である。

D. 結論

NP-A/B の病態に細胞内脂質輸送に関わる機構

が二次的に病態に関与している可能性を示した。

E. 論文発表

1. 論文発表

- 1) Miura S, Ishida-Nakajima W, Ishida A, kawamura M, Ohmura A, Oguma R, Sato Y, Takahashi T : Ascorbic acid protects the newborn rat brain from hypoxic-ischemia. Brain Dev, 31 : 307-17, 2008

F. 知的所有権の出願・取得状況

なし

ファブリー病のバイオマーカーの探索

分担研究者：櫻庭 均(明治薬科大学分析化学・臨床遺伝学 教授)

研究要旨

ファブリー病のバイオマーカーを探索する目的で、血漿中リゾグロボトリアオシルセラミド(Lyso-Gb3)濃度を測定したところ、ファブリー病ヘミ接合体男性及びファブリー病ヘテロ接合体女性では、対照に比べて、それぞれ、著明な及び軽度～中等度の増加が認められた。血漿中 Lyso-Gb3 濃度は、ファブリー病のバイオマーカーとなり得ると考えられる。

研究協力者：

兎川 忠靖(明治薬科大学分析化学 准教授)

鈴木 俊宏(明治薬科大学分析化学 講師)

菅原佳奈子(明治薬科大学臨床遺伝学 助教)

大橋 十也(東京慈恵会医科大学 教授)

A. 研究目的

ファブリー病は、 α -ガラクトシダーゼ (GLA) の活性低下により、細胞のライソゾームに糖脂質グロボトリアオシルセラミド (Gb3) が蓄積する X 染色体性遺伝病である。本疾患の診断は、主に血清、血漿、白血球や乾燥濾紙血を試料とした GLA 活性測定により行われる。その場合、GLA 活性が著しく低下するファブリー病ヘミ接合体男性の診断は比較的容易であるが、ファブリー病ヘテロ接合体女性では GLA 活性が低下する例から対照と区別出来ない例まで存在し、GLA 活性測定だけでは診断が困難である。

本研究では、Gb3 の誘導体であるリゾグロボトリアオシルセラミド (Lyso-Gb3) が、ファブリー病の診断に役立つバイオマーカーと成り得るか否かについて検討した。

B. 研究方法

1) 試料

8名のファブリー病ヘミ接合体男性、8名のファブリー病ヘテロ接合体女性及び6名の対照(健康者ボランティア)由来の血漿を試料として、Lyso-Gb3 濃度と GLA 活性を測定した。

(倫理面への配慮)

患者由来の血漿検体の使用に関しては、患者の同意を得ると共に、大学倫理委員会の承認を得た。

2) 血漿中 Lyso-Gb3 濃度の測定

血漿 50 μ l に 25 μ l の水を加えた後に、450 μ l のクロロホルム/エタノール (1/2, v/v) を加えて混合した。その後、混合液を 14,000 \times g で 10 分間遠心分離し、その上清画分を分離した。その上清画分に 150 μ l のクロロホルムと 225 μ l の水を加えて混合し、2,000 \times g で 5 分間の遠心分離操作を行った。分離後に、その上層画分を保存した。下層画分に対して、600 μ l のメタノール/水 (1/1, v/v) を加えて混合した後、9,000 \times g で 5 分間の遠心分離を行った。得られた上層画分を、先に保存した上層画分に加え、これを乾固した。この乾固した成分に 500 μ l の水と 500 μ l の水飽和 L-ブタノールを加えた後、遠心分離し、その上層画分を保存した。そ

の下層画分に 500 μ l の水飽和 L-ブタノールを加えて遠心分離し、得られた上層画分を先に保存した上層画分に加えて乾固した。この乾固した成分に 60 μ l のメタノールを加えて、これを溶解した。

その中から 50 μ l 分を取り乾固した後に、*o*-フタルアルデヒド試薬 (pH 11) を 25 μ l 加えて、Lyso-Gb3 を *o*-フタルアルデヒド誘導体化した。これを高速液体クロマトグラフィーにかけ、Lyso-Gb3 を定量した。定量には、既知の量の精製 Lyso-Gb3 を健常人由来の血漿に加えたものを標準として用いた。

3) 血漿中 GLA 活性の測定

血漿 10 μ l と 60 μ l の基質溶液 (5mM 4-メチルウムベリフェリル- α -D-ガラクトピラノシド/119 mM クエン酸-リン酸緩衝液、pH 4.6) とを混合し、37°C で 1 時間インキュベートした。反応終了時に 200 μ l の反応停止液 (0.2M グリシン緩衝液、pH 10.7) を加えた。反応により生じた蛍光の強度を Walloc 1420 ARVO MX Multilabel Counter (Perkin Elmer) を用いて、励起波長 355 nm、測定波長 460 nm で測定した。

C. 研究結果

1) 血漿中 Lyso-Gb3 濃度

対照における血漿中 Lyso-Gb3 濃度は、全例で 2nmol/l 以下であった。一方、ファブリー病ヘミ接合体男性グループ及びファブリー病ヘテロ接合体女性グループの血漿中 Lyso-Gb3 濃度の平均値は、それぞれ 160nmol/l (範囲 58~403) 及び 18 nmol/l (範囲 9~35) であった。血漿中 Lyso-Gb3 濃度は、ファブリー病ヘミ接合体男性では著しく増加しており、ファブリー病ヘテロ接合体女性においても軽度~中等度に増加していた。

2) 血漿中 GLA 活性

対照における血漿中 GLA 活性の平均値は 8.0 nmol/h/mg protein (範囲 5.0~11.0) であった。一方、ファブリー病ヘミ接合体男性グループでは、

全例 1.0nmol/h/mg protein 以下であった。また、ファブリー病ヘテロ接合体女性グループにおける血漿中 GLA 活性の平均値は、5.7nmol/h/mg protein (範囲 3.3~6.9) であった。ファブリー病ヘミ接合体男性では、血漿中 GLA 活性は著明に低下していた。ファブリー病ヘテロ接合体女性グループでの血漿中 GLA 活性の平均値は、ファブリー病ヘミ接合体グループでの平均値と対照での平均値の中間の値を示したが、個々の例についてみると、対照と区別出来ないものが存在した。

3) ファブリー病ヘテロ接合体における血漿中の Lyso-Gb3 濃度と GLA 活性との比較

ファブリー病ヘテロ接合体女性グループにおける血漿中の Lyso-Gb3 濃度と GLA 活性とを比較した結果を図に示した。前者と後者とは、ほぼ逆相関性を示した。 ($r = -0.824$)。

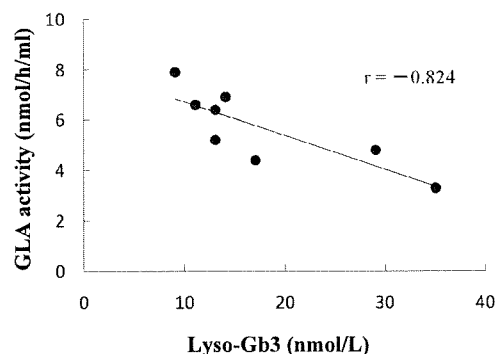


図 ファブリー病ヘテロ接合体における血漿中 Lyso-Gb3 濃度と GLA 活性の比較

D. 考察

近年、ファブリー病に対して酵素補充治療が導入されると共に、その発生頻度が予想以上に高い (1/1, 250~6,000) ことが明らかになり、ファブリー病の診断に役立つバイオマーカーの重要性が増している。

今回、血漿中の Lyso-Gb3 濃度を測定したところ、対照に比較して、ファブリー病ヘミ接合体男性では著明な増加がみられ、ファブリー病ヘテロ接合体でも軽度~中等度の増加が認められた。ファブリー病ヘテロ接合体においては、血漿中の

Lyso-Gb3 濃度と、GLA 活性との間にほぼ逆相関性が認められた。また、GLA 活性では対照との間に差が認められない症例においても、Lyso-Gb3 濃度では対照の値よりも増加していた。血漿中 Lyso-Gb3 濃度は、ファブリー病のバイオマーカーに成り得ると考えられた。

E. 結 論

血漿中 Lyso-Gb3 濃度は、ファブリー病のバイオマーカーになると期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sugawara K, Tajima Y, Kawashima I, et al : Molecular interaction of imino sugars with human α -galactosidase : Insight into the mechanism of complex formation and pharmacological chaperone action in Fabry disease. *Mol Genet Metab*, 96 : 233-238, 2009
 - 2) Sugawara K, Saito S, Sekijima M, et al : Structural modeling of mutant α -glucosidases resulting in a processing/transport defect in Pompe disease. *J Hum Genet*, 54 : 324-330, 2009
- ### 2. 学会発表
- 1) 櫻庭 均: ファブリー病; その診断から治療へ. 第 50 回日本神経学会総会, ランチョンセミナー, 仙台, 2009.5
 - 2) 菅原佳奈子, 櫻庭 均 : 耐性 α -グルコシダーゼ変異蛋白質の構造学的研究. 第 51 回日本小児神経学会総会, 米子, 2009.5
 - 3) Sakuraba H, Tajima Y, Kawashima I, Tsukimura T, Sugawara K, Kuroda M, Suzuki T, Togawa T, Chiba Y, Jigami Y, Ohno K, Fukushige T, Kanekura T, Ohashi T, Itoh K : Development of new enzyme replacement therapy for Fabry disease utilizing a modified α -N-acetylgalactosaminidase. The

3rd International Symposium of Lysosomal Storage Disease, Nagoya, 2009.9

- 4) Togawa T, Suzuki T, Sugawara K, Tsukimura T, Sakuraba H : Measurement of plasma lyso-Gb3 in Fabry disease. The 3rd International Symposium of Lysosomal Storage Disease, Nagoya, 2009.9
- 5) Sugawara K, Togawa T, Suzuki T, Tsukimura T, Tajima Y, Kobayashi T, Sakuraba H : Biophysical and structural study on the complex formation of imino sugars with α -galactosidase. The 3rd International Symposium of Lysosomal Storage Disease, Nagoya, 2009.9
- 6) Kuroda M, Suzuki T, Kotani M, Tajima Y, Kawashima I, Togawa T, Sugawara K, Sakuraba H : Characterization of the neurosphere from a Sandhoff disease model mouse. The 3rd International Symposium of Lysosomal Storage Disease, Nagoya, 2009.9
- 7) Tsukimura T, Tajima Y, Kawashima I, Chiba Y, Sugawara K, Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H : Stabilization of the M51I mutant α -galactosidase by imino sugars. The 3rd International Symposium of Lysosomal Storage Disease, Nagoya, 2009.9
- 8) Sugawara K, Ohno K, Saito K, Sakuraba H : Structural characterization of mutant α -galactosidase: Insight into Fabry disease. 12th Annual Asia LSD Symposium, Taipei, 2009.9
- 9) 黒田麻祐子, 鈴木俊宏, 小谷政晴, 田島陽一, 川島育夫, 兎川忠靖, 菅原佳奈子, 櫻庭 均 : Sandhoff 病モデルマウス由来ニューロスフェアの生化学的特徴. 第 82 回日本生化学会大会, 神戸, 2009.10
- 10) 月村考宏, 田島陽一, 川島育夫, 千葉靖典, 菅原佳奈子, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭 均 : 基質アナログにより安定化する変異 α -ガラク

- トシダーゼの性状解析. 第 82 回日本生化学会大会, 神戸, 2009.10
- 11) 菅原佳奈子, 兎川忠靖, 鈴木俊宏, 田島陽一, 月村考宏, 岩本邦彦, 櫻庭 均: ファブリー病の責任酵素 α -ガラクトシダーゼと基質類似体との分子間相互作用の解析. 第 82 回日本生化学会大会, 神戸, 2009.10
- 12) 田島陽一, 月村考宏, 大野一樹, 川島育夫, 芝崎 太, 櫻庭 均: ケミカルシャペロンによるポンペ病変異酵素の安定化作用の解析. 第 82 回日本生化学会大会, 神戸, 2009.10
- 13) 川島育夫, 田島陽一, 芝崎 太, 福重智子, 神埼 保, 金蔵拓郎, 月村考宏, 櫻庭 均: リソソーム病酵素補充療法における酵素投与方法の検討. 第 82 回日本生化学会大会, 神戸, 2009.10
- 14) 兎川忠靖, 鈴木俊宏, 菅原佳奈子, 月村考宏, 川島育夫, 櫻庭 均: ファブリー病の新規マーカーとしての血漿中リゾ-CTH の測定. 第 82 回日本生化学会大会, 神戸, 2009.10
- 15) 田島陽一, 月村考宏, 川島育夫, 芝崎 太, 櫻庭 均: 遅発型ポンペ病細胞におけるデオキシノジリマイシン誘導体のケミカルシャペロン作用の検討. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会, 東京, 2009. 11
- 16) 川島育夫, 芝崎 太, 菅原佳奈子, 櫻庭 均: テイ-サックス病における変異酵素蛋白質の構造特性. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会, 東京, 2009.11
- 17) 黒田麻祐子, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 菅原佳奈子, 小谷政晴, 田島陽一, 川島育夫, 櫻庭 均: Sandhoff 病モデルマウス由来ニューロスフェアの樹立. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会, 東京, 2009.11
- 18) 川島育夫, 芝崎 太, 菅原佳奈子, 櫻庭 均: テイ-サックス病における変異酵素蛋白質の構造特性. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会, 東京, 2009.11
- 19) 兎川忠靖, 鈴木俊宏, 菅原佳奈子, 月村考宏, 大橋十也, 櫻庭 均: ファブリー病の新規マーカーとしての血漿中 lyso-Gb3 の測定. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会, 東京, 2009.11
- 20) 菅原佳奈子, 兎川忠靖, 鈴木俊宏, 櫻庭 均: 酸性 α -グルコシダーゼの立体構造の構築と変異蛋白質の構造学的研究. 第 51 回日本先天代謝異常学会総会, 東京, 2009.11
- 21) Sugawara K, Saito S, Sekijima M, Ohno K, Tajima Y, Kroos MA, Reuser AJJ, Sakuraba H : Structural modelling of mutant alpha-glucosidase resulting in a processing/transport defect in Pompe disease. Steps Forward in Pompe Disease Symposium, Munich, 2009.11
- 22) Eussen B, Kroos MA, Lesnussa M, de Klein A, Knoch TA, Sugawara K, Sakuraba H : Holistic visualization of the GAA locus on chromosome 17q25 and its mutations within the complexity of the genome organization. Steps Forward in Pompe Disease Symposium, Munich, 2009.11

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

抗原定量方法、国内出願：特願 2007-30302
(2007.11.22 出願)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

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：辻 省次(東京大学大学院脳神経医学専攻神経内科)

研究要旨

Glucocerebrosidase (GBA) 遺伝子のヘテロ接合性病原性変異は孤発性パーキンソン病患者と有意に関連し、発症年齢を若年化させる。

研究協力者氏名：

三井 純(東京大学神経内科大学院生)

戸田 達史(神戸大学神経内科教授)

など

A. 研究目的

ゴーシェ病の変異キャリアがパーキンソン病の発症リスクになることを検証して、パーキンソン病の病態機序解明・新たな治療法開発を目指す。

B. 研究方法

日本人パーキンソン病患者群と対照群に対して GBA 遺伝子の塩基配列決定を行い、全ての変異を網羅的に同定して、関連を検証した。国際多施設共同研究を行い各施設のデータをメタ解析した。

(倫理面への配慮)

研究対象者に対する書面によるインフォームドコンセントのうえ、検体は匿名化して解析した。

C. 研究結果

日本人サンプルでは GBA 遺伝子変異のキャリアはパーキンソン病の 10%弱に認められ、オッズ比 28 倍の強い危険因子であった。キャリアでは発症年齢が若年化し、認知症の頻度が多かった。また家族性パーキンソン病の一部にも関与していた。メタ解析による検証でも、GBA 遺伝子変異は

パーキンソン病と有意に関連した。

D. 考察

多型を用いた関連解析では、検出が難しい稀で多様な変異がパーキンソン病と強く関連することを、resequencing を基盤とした網羅的解析により示した。

E. 結論

ゴーシェ病の変異キャリアがパーキンソン病の発症リスクになることを関連解析にて確立した。病態との関連は不明な点が多いが、ライソゾーム関連遺伝子を候補とした大規模 resequencing によるパーキンソン病の新たな危険因子の同定、GBA 遺伝子変異の細胞系・モデル動物系による病態解析を中心に解析を進めていき、パーキンソン病の病態機序解明・新たな治療法の開発を目指したい。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mitsui J, Mizuta I, Toyoda A, et al. : Mutations for Gaucher disease confer a high susceptibility to Parkinson disease. Arch Neurol, 66 : 571-6, 2009
- 2) Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, et al. : Multicenter Analysis of Glucocerebrosidase Mutations in Parkinson's Disease. N Engl J Med, 361 : 1651-61, 2009

2. 学会発表

- 1) Mitsui J, Kyo Azuma, Hirokazu Tozaki, et al. : Multiplexed resequencing analysis to identify rare variants in pooled DNA of barcode-indexed DNAs. American Society of Human Genetics 59th Annual Meeting, Honolulu, 2009.10

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

ペルオキシソーム病に関する診断・病態解明に関する研究

分担研究者：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 教授)

研究要旨

平成 21 年の 1 年間に診断スクリーニングとして約 80 例の血清脂肪酸分析を行い、遺伝子解析等にて 34 例のペルオキシソーム病患者およびその保因者を診断した。また国際貢献としてサウジアラビア国立病院と共同で、平成 20、21 の 2 年間にアラブ地域において副腎白質ジストロフィーを除く 11 例のペルオキシソーム病患者の確定診断を行った。さらに病態解明としては、温度感受性を有する複数のペルオキシソーム形成異常症患者細胞と対照細胞において培養温度を変えて得られた RNA を用いた Gene chip 解析により、網羅的な転写産物のデータベースを作成し、新たなペルオキシソーム代謝機能の探索を行っている。

研究協力者

長瀬 朋子(岐阜大学ゲノム研究分野・助教)

荒井 綾子(岐阜大学ゲノム研究分野・研究補佐員)

梶原 尚美(岐阜大学ゲノム研究分野・技術補佐員)

A. 研究目的

リソソーム病やミトコンドリア病とともに新たな疾患概念として確立しているペルオキシソーム病患者の正確かつ迅速な診断を目的に、ペルオキシソーム病患者診断スクリーニングから確定診断のシステムを確立して、全国の医療機関にその情報を提供する。さらにそのシステムをアジア地域における医療機関にも共同研究として適応し、国際貢献を目指している。一方で、集積した患者細胞等を対象に転写産物や代謝産物を網羅的に解析するシステムを確立し、本症の病態解明から新たなペルオキシソーム代謝機能を探索する。さらにそれらの神経変性疾患や生活習慣病の発症への関わりも明らかにして治療法の開発に繋げて行く。

B. 研究方法

ペルオキシソーム病の診断システムは臨床症状

よりペルオキシソーム病が疑われた患者血清を用いて、ガスクロマトグラフィー質量分析装置(GC-MS)により極長鎖脂肪酸、フィタン酸、プラスマローゲンなどペルオキシソーム代謝産物を測定し、異常を認めた患者については皮膚生検による培養線維芽細胞の樹立から細胞、タンパク、遺伝子レベルの解析を経て、確定診断を行う。その際に同意を得られた患者試料については本症の病態解明から治療法の開発研究を進めて行く。

その1つとしてペルオキシソーム形成異常症と対照細胞から全転写産物と代謝産物をマイクロアレイおよび GC-MS+LC-タンデムマスにて網羅的に解析することにより、ペルオキシソームの新たな機能や生活習慣病に関連する脂質代謝異常症や神経変性疾患における疾患感受性遺伝子としての可能性を検討する。

一方で、発展途上にある本疾患群の国内医療機関への更なる周知を目的に、ペルオキシソーム病に属する各疾患概要から診断フローチャート等の医療情報を掲載した「ペルオキシソーム病診断パンフレット」を作成して全国に配布している。

さらに岐阜大学生命科学総合研究支援センター

ゲノム研究分野内のホームページにペルオキシソーム病に関するページを設置して (<http://www1.gifu-u.ac.jp/~lsrc/dgr/shimozawa-hp/index.html>)、最新の医療情報を更新し、全国に配信している。

(倫理面への配慮)

以上の研究に関しては、岐阜大学医学研究等倫理委員会での審査、承認を得た上で、研究対象者への人権養護に十分配慮し、インフォームドコンセントを得て行っている。また動物実験に関しても岐阜大学生命科学総合研究支援センター動物実験施設に申請、許可のもと、動物愛護に十分配慮して行っている。

C. 研究結果

平成 21 年には全国の医療機関より依頼された約 80 例に及ぶ血清の脂肪酸分析を行い、35 例のペルオキシソーム病患者及びその保因者を診断している。さらに診断した患者の主治医に対してパンフレット、ホームページも含めて疾患の治療情報や予後、国内患者の状況を個人情報に留意して情報提供を行っている。

また国際貢献としてサウジアラビア国立病院とペルオキシソーム病患者の診断協力に関する協定を締結し、20、21 年にアラブ地域において副腎白質ジストロフィーを除いた 11 例のペルオキシソーム病患者の確定診断を行っている。

さらに患者細胞を用いたペルオキシソーム代謝機能の解明では温度感受性を有する遺伝子型の異なる 6 種類のペルオキシソーム形成異常症患者細胞に 2 種類の対照細胞において培養温度を変えて得られた RNA を用いて Gene chip 解析を行い、8 ペア 16 検体からなる転写産物の網羅的なデータベースを作成した。今後、このデータをもとに広く代謝病の病態に関わる遺伝子群におけるペルオキシソームの関与を検討していく。

D. 考 察

ペルオキシソーム病診断システムの確立とその広報活動については、効率的、迅速な診断体制を確立、診断パンフレットやホームページも作成し、充分機能して来ている。患者細胞を用いた病態解明については、ペルオキシソーム形成異常症患者細胞より作成した遺伝子産物の網羅的データ解析により、先天代謝異常症の病態解明にとどまらず、より広い範囲での代謝病におけるペルオキシソーム機能の検討が可能となっている。

社会的には難病であるペルオキシソーム病の診断システムを確立し、多くの医療機関や患者支援が可能になった。学術的にはその形成機構から代謝機能まで解明途上にあるオルガネラのペルオキシソームを、病態を通じた解明を進めている。

今後、さらに診断スクリーニングシステムを拡充し、新たなペルオキシソーム病の疾患単位の発見を目指す一方で、早期発見、早期介入を目的としたマススクリーニング法の開発研究も行っていく。また既存の診断システムによる国際的な共同研究も対象国を広げて進めていく予定である。さらに患者検体を用いた転写産物や代謝産物の網羅的解析法を充実させ、生活習慣病と神経変性疾患を対象にした代謝病におけるペルオキシソーム機能の関与を明らかにしていく。

E. 結 論

国内唯一のペルオキシソーム病診断施設として副腎白質ジストロフィーを除くほとんどのペルオキシソーム病国内症例を診断するとともに、倫理面を配慮し、患者検体による遺伝性ペルオキシソーム病の病態解明から広い意味での代謝病におけるペルオキシソーム機能異常の解明を展開している。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Al-Dirbashi OY, Shaheen R, Al-Sayed M, Al-Dosari M, Makhseed N, Safieh LA,