

201015021A・B

厚生労働科学研究費補助金

医療技術実用化総合研究事業

(臨床研究推進研究事業)

新規治療法が開発された小児希少難病の疫学調査と
長期フォローアップ体制の確立に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書
平成20年度～22年度 総合研究報告書

研究代表者 奥山 虎之

平成23(2011)年 3月

厚生労働科学研究費補助金
医療技術実用化総合研究事業
(臨床研究・予防・治療技術開発研究事業)

新規治療法が開発された小児希少難病の疫学調査と
長期フォローアップ体制の確立に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書
平成20年度～22年度 総合研究報告書

研究代表者 奥山 虎之

平成23(2011)年 3月

目 次

I 総括研究報告

- 新規治療法が開発された小児希少難病の疫学調査と長期フォローアップ体制の確立に関する研究 1
研究代表者 (独)国立成育医療研究センター 奥山虎之

II 分担研究報告

- 1 ポンペ病の迅速診断法の確立とその実施 5
(独)国立成育医療研究センター 奥山虎之
- 2 リソゾーム病長期フォローアップシステムの構築 8
熊本大学 遠藤文夫
- 3 リソゾーム病の疫学調査のための技術開発 9
熊本大学 中村公俊
- 4 ムコ多糖症Ⅱ型に対する造血幹細胞移植の効果に関する研究 10
大阪市立大学 田中あけみ
- 5 ムコ多糖症Ⅳ型に対する疫学調査 12
岐阜大学 鈴木康之
- 6 造血幹細胞移植を受けたムコ多糖症患者の長期予後調査 15
東海大学 加藤俊一
- 7 ムコ多糖症に対する同種造血細胞移植治療の標準化と長期フォローアップ体制の確立 19
東海大学 矢部普正
- 8 濾紙血を用いてのライソゾーム病のスクリーニング法の開発 22
東京慈恵会医科大学 衛藤義勝
- 9 ライソゾーム病の新生児スクリーニング導入の妥当性について 26
(独)国立成育医療研究センター研究所 掛江直子

III 総合研究報告

新規治療法が開発された小児希少難病の疫学調査と長期フォローアップ体制の確立に関する研究 29

研究代表者 (独)国立成育医療研究センター 奥山虎之

IV 研究成果の刊行一覧表

. 33

V 研究成果の刊行物・別刷り

. 39

總 合 研 究 報 告

新規治療法が開発された小児希少難病の疫学調査と 長期フォローアップ体制の確立に関する研究

研究代表者 奥山 虎之 (独)国立成育医療研究センター 臨床検査部 部長

研究要旨

これまで有効な治療手段がなかったライソゾーム病の一部の疾患で、酵素補充療法が開発された。これをうけて、本研究では、早期発見のための新生児マススクリーニング法の開発をファブリ病およびポンペ病で検討した。技術的な問題は解消し、パイロット研究の段階に至ることができた。しかし、どちらの疾患でも、酵素活性の測定値が正常下限であるが疾患を発症しない Pseudodeficiency の存在も明らかとなった。今後、これらの症例の取扱いは全国レベルでの本格的なスタートにむけて克服すべき重要課題となる。また、欧米ではあまり行われないムコ多糖症 II 型の造血幹細胞移植の効果について、後方視的な検討を加えた結果、酵素補充療法とほぼ同様な効果があることが示された。造血幹細胞移植はリスクの高い治療である。しかし、酵素補充療法には、高額な治療や週 1 回の通院の必要性などの問題もあり、治療法の選択を適切にするためのガイドラインの必要性が示唆された。さらに、ムコ多糖症 IV 型の自然歴調査を行い、日本人のムコ多糖症 IV 型の実態が明らかとなった、酵素補充療法の臨床試験の必要性が認識されるに至り、次年度中に予定されている国際共同治験に日本が参加できることが確定した。

研究分担者

遠藤文夫	熊本大学大学院医学薬学研究部
中村公俊	熊本大学大学院医学薬学研究部
田中あけみ	大阪市立大学大学院医学研究科
鈴木康之	岐阜大学医学部医学教育開発研究センター
加藤俊一	東海大学医学部基盤診療学系
矢部普正	東海大学医学部基盤診療学系
掛江直子	(独)国立成育医療研究センター研究所
衛藤義勝	東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座

A. 研究目的

これまで安全性の高い有効な治療手段がなかったライソゾーム病の一部の疾患で、酵素補充療法が開発された。種々の臨床症状の改善が得られるが、中枢神経症状に対して効果が期待できない、病態の進行した症例での治療効果が乏しい、莫大な費用がかかる、などの問題があり、酵素補充療法開発以前の唯一の治療法であった造血幹細胞移植を再評価する動きもある。このような背景を考慮して、本研究では、以下の目的で研究を進めた。

- 1) 血液ろ紙検体を使用したファブリ病の迅速診断法を開発し、新生児マススクリーニングのパイロット研究とハイリスク群のスクリーニング検査を実施し、ファブリ病の診断率の向上をはかる。
- 2) 血液ろ紙を用いたポンペ病スクリーニング法を確立し、新生児マススクリーニングパイロット研究に応用する。
- 3) ムコ多糖症 II 型の骨髄移植の長

期的な効果を明らかにする。

- 4) ムコ多糖症 IV 型のわが国における実態を調査し、開発途上にあるムコ多糖症 IV 型酵素製剤の臨床試験の基礎資料とする。

B. 研究方法

1) ファブリー病のスクリーニング法の開発とパイロット研究の実施

Chamoles らの方法を改変し、蛍光基質を用いた酵素反応測定系の原理を利用したろ紙血検体における α ガラクトシダーゼ酵素活性を測定した。この方法を用いて、新生児ろ紙血検体を用いたファブリー病の新生児マススクリーニングパイロット研究と、ファブリー病症状を有する患者のハイリスクスクリーニングを行った。

2) ポンペ病のスクリーニング法の開発とパイロット研究の実施

ろ紙血検体中の GAA 酵素活性値を人工蛍光基質である 4-methyl-umbelliferyl- α -D-glucopyranoside を用いて、以下の条件で測定を行った。1) GAA 活性：酸性条件下で、アカルボースによって GAA 異性体であるマルターゼグルコアミラーゼ (MGA) を阻害した活性。2) t-GAA 活性：酸性条件下で、アカルボース阻害なしによる GAA と MGA 活性の総和。3) NAG (中性 α グルコシダーゼ) 活性：中性条件下でのグルコシダーゼ活性。これらの活性値を用いて、%阻害率 = (t-GAA 活性 - GAA 活性) / t-GAA 活性 \times 100、NAG/GAA 比 = NAG 活性 / GAA 活性を算出する。またすべてのろ紙血検体に対して、PCR ダイレクトシーケンス法による p. G576S 多型解析を行い、“Pseudodeficiency” の頻度を調べた。

さらに本検査法によるポンペ病新生児マス・スクリーニングを 2011 年 1 月よりパイロットスタディとして開始した。対象は、国立成育医療研究センターで出生した在胎週数 35 週以上かつ出生体重 2000 g 以上の新生児の中で親権者が本検査実施に同意した新生児である。現行の先天性代謝異常症

マス・スクリーニングのために新生児からろ紙採血をする際、本検査用のろ紙にも血液を採取し、GAA 酵素活性測定を行った。

3) ムコ多糖症 II 型に対する造血幹細胞移植の後方視的検討

全国の移植施設にアンケート用紙を送りムコ多糖症 II 型の移植症例を調査した。フォローアップ施設の主治医および患者家族にもアンケート用紙を送り調査した。主な調査項目は、移植時年齢、IQ/DQ、身長、肝脾腫、心機能 (弁逆流)、呼吸機能、関節可動域、頭部 MRI、生活機能 (ADL)、FIM、尿中ウロン酸値である。

他方、ムコ多糖症親の会に所属する II 型患者家族のすべてにアンケートを送付し、骨髄移植の有無をはじめ、発病から病状の進行速度について調査した。

4) ムコ多糖症 IV 型のわが国における実態

全国の 200 床以上の病院小児科と整形外科 3132 施設を対象としてムコ多糖症 IV 型患者の実態把握をアンケート調査した。二次調査で報告された 16 例中、データの充分ある 14 例について身体発育を中心に解析した。

C. 結果

1) ファブリー病のスクリーニング法の開発とパイロット研究の実施

熊本地区では現行の新生児マススクリーニングに加えてタンデムマススクリーニングを行っている。このろ紙血を用いて、 α ガラクトシダーゼの酵素活性を測定し、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を継続した。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にもとづく遺伝子解析を含めた精密検査が可能となった。遺伝子解析では 4 名の男児と 1 名の女児にこれまで古典型のファブリー病に認められた遺伝子変異が見られた。また、遺伝子解析の結果、44 名の新生児に遺伝子変異を認めた。その中で 21 名は E66Q 変異であった。E66Q 以外の遺伝子変異を持った新生児は 23 名、

男児 16 名、女児 7 名であった。このことから、男児におけるファブリー病の頻度は約 8,000 名の男児に 1 名と考えられた。活性低値の新生児とその家族に対して、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い、フォローアップを行っている。さらに通常ファブリー病を発生することは少ないと考えられる E66Q 変異が検出された新生児と家族に対してもフォローアップを行っている。

2) ポンペ病のスクリーニング法の開発とパイロット研究の実施

健康対照者 469 例のうち、G576S 多型を AA 型のホモ接合体でもつ Pseudodeficiency は 15 例であり、全体の約 3 パーセントであった。この結果は、日本における Pseudodeficiency の割合は約 4%であるとする既報告とほぼ一致した結果だった。

Pseudodeficiency、健康対照者、ポンペ病保因者およびポンペ病患者の活性結果を、欧米のスクリーニング陽性基準 (NAG/GAA 比のカットオフラインを 30 倍以上、障害率のカットオフラインを 60%以上に設定し、両方の条件を満たす場合をスクリーニング陽性とする) を、我々の研究対象の測定結果に当てはめると、ポンペ病患者 29 症例中 29 症例、Pseudodeficiency 15 症例中 4 症例と保因者 5 症例中 1 症例がスクリーニング陽性となった。一方、上記の条件値に加えて、さらに GAA 活性のカットオフラインを正常コントロールに対して 8%とし、すべてを満たす場合にスクリーニング陽性とする我々の基準を用いると、ポンペ病患者 29 名中 29 名と Pseudodeficiency 15 症例中 1 症例と保因者 5 症例中 1 症例が陽性と判定され、より正確に患者群と

Pseudodeficiency および健康対照者を分けることが可能であった。

国立成育医療研究センターでのポンペ病新生児マス・スクリーニングを 2011 年 1 月よりパイロットスタディとして開始した。これまでに 117 名の新生児が対象となり、4 名が Pseudodeficiency と診断され、その他はすべて正常と診断された。

3) ムコ多糖症 II 型に対する造血幹細胞移植の後方視的検討

移植施設から回答のあった II 型の移植症例数は 26 であり、このうち患者自身より承諾とアンケートの回答が得られたのは 16 症例であった。移植後の観察期間は 5 年 5 か月から 17 年 7 が月であった。データの収集と評価が可能であった項目は、身長、IQ/DQ、頭部 MRI フィルム、エコー所見による心機能、関節可動域であった。ムコ多糖症親の会患者家族からは、55 家族 60 名の回答が得られた。うち 13 名が移植を受けていた。

患者は、発達歴より分担研究者による重症度分類 (タイプ A~D) により分け、各々のタイプ別に効果を検討した。

身長は、重症型 (タイプ C、D) の非移植患者では 5、6 歳以降に伸びが止まり横ばいとなるのに対し、重症型移植患者ではなだらかな発育が続いた。軽症型でも身長の伸びは良くなっていた。身長の伸びは、姿勢の改善の影響も大きいと推測された。

IQ/DQ および ADL に関しては、移植時年齢が 6 歳未満の場合、良好な状態が保たれる傾向であり、3 歳未満でより明らかであった。

頭部 MRI 所見では、重症型 (タイプ C、D)、軽症型 (タイプ A、B) また年齢を問わず、脳萎縮所見が認められる以前に移植を行った症例では、脳室拡大の進行はなく、小胞状の病変も減少傾向が認められた。

心臓弁の逆流については、86%の症例で改善あるいは病状の固定が認められた。しかし、6 歳以降の移植症例で悪化をするものが多かった (6/9)。重症型、軽症型また

移植時年齢を問わず、弁の逆流が明らかになる以前での移植で予後がよい傾向であった。

尿中ムコ多糖(ウロン酸)量は、データが得られたすべての症例(7例)において正常域を示していた。

関節可動域もデータが得られたすべての症例(3例)ではおおむね改善していた。

その他、自由記述から読み取れたものは、肝脾腫の改善といびきの消失、活動性の増加であった。

4) ムコ多糖症 IV 型のわが国における実態
モルキオ病に特有の各種身体所見をスコア化した。重症 3 点、中等症 2 点、軽症 1 点、異常なし 0 点とし、全 13 項目、最重症 39 点、健康者 0 点とした。

モルキオ病患者では、漏斗胸、低身長スコアが最も高く、次いで X 脚、関節弛緩、頸椎亜脱臼となった。

次に個々のモルキオ病患者の身体スコアと日常生活動作 ADL との相関を検討した。

その結果、身長 110 cm 未満の患者においては、ADL と年齢は強い負の相関を示した($p = -0.71$)。また関節弛緩とは中等度の負の相関、身体所見スコア総計、年齢、X 脚とは弱い負の相関を示した。身長 110 cm 以上の患者は年齢が高くても ADL が良好であることが示された。また身体所見の総スコアは X 脚および頸椎亜脱臼の重症度と中等度の正の相関を示した。年齢と身長は正の相関を示した

D. 考察

酵素補充療法は、発症早期あるいは発症前から治療を開始することにより、その効果を最大限に引き出すことができる。その意味で、新生児マススクリーニング(NBS)の開発は重要である。本研究により、ファブリー病およびポンペ病の NBS の技術的問題は解消し、パイロット研究の段階に入った。しかし、酵素活性が正常下限値であるが、ファブリー病やポンペ病を発症しないあるいは発症しても軽症である

Pseudodeficiency の存在が明らかとなった。Pseudodeficiency 症例を適切に診断し、過剰な治療を避けることも重要な課題である。

酵素補充療法の開発前から導入されている治療法として造血幹細胞移植がある。造血幹細胞移植は、ある種のライソゾーム病には、効果があるが、日本で最も患者の多いムコ多糖症 II 型に対しては、欧米を中心に、適応が認められていなかった。しかし、我が国では、相当数のムコ多糖症患者に造血幹細胞移植が行われ、一定の効果があるとされていたが、大規模な調査はこれまで行われてこなかった。本研究で行った調査により、造血幹細胞移植には一定の効果が認められた。酵素補充療法はまだ始まって日が浅いため、これと比較することは難しいが、少なくとも同等の効果があると思われる。今後、造血幹細胞移植の前向き臨床研究で同治療法の効果や酵素補充療法との比較研究を実施する必要がある。

本邦におけるムコ多糖症 IV 型患者の身体所見の重症度と ADL の関係は今まで明らかなでなかったが、今回、14 例(男性 9 例、女性 5 例)について解析し、ADL と年齢に強い負の相関があり、年齢とともに、ADL が低下することが明らかとなった。また関節弛緩、X 脚などの身体所見も ADL に影響することを明らかにした。これらの成果はモルキオ病の自然歴の理解と、治療効果判定に有用であると考えられた。日本でのムコ多糖症 IV 型の自然歴があきらかになったことにより、酵素補充療法の臨床試験の必要性が認識されるに至り、次年度中に予定されている国際共同試験に日本が参加できることが確定した。

研究成果の刊行一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Okuyama T, Tanaka A, Suzuki Y, Ida H, Tanaka T, Cox GF, Eto Y, Orii T	Japan Elaprase Treatment (JET) study: idursulfase enzyme replacement therapy in adult patients with attenuated Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis II, MPS II).	Mol Genet Metab	Jan;99 (1)	18-25	2010
Sanae Numata, Yoshiro Koda, Kenji Ihara, Tomo Sawada, Yoshiyuki Okano, Toshinobu Matsuura, Fumio Endo, Han-Wook Yoo, Jose A Arranz, Vicente Rubio, Bendicht Wermuth, Nicholas Ah Mew, Mendel Tuchman, Jason R Pinner, Edwin P Kirk and Makoto Yoshino	Mutant alleles associated with late-onset ornithine transcarbamylase deficiency in male patients have recurrently arisen and have been retained in some populations.		55	18-22	2010
Fujii H, Kono K, Goto S, Onishi T, Kwai H, Hirata KI, Hattori K, Nakamura K, Endo F, Fukazawa M.	Prevalence and Cardiovascular Features of Japanese Hemodialysis Patients with Fabry Disease.	Am J Nephrol	16	527-535	2009
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	203-212	2009
Sawada T, Tanaka A, Higaki K, Takamura A, Nanba E, Seto T, Maeda M, Yamaguchi E, Matsuda J, Yamano T	Intracerebral cell transplantation therapy for murine GM1 gangliosidosis	Brain Dev 31: 717-724	31	717-724	2009
Sawada T, Tanaka A, Higaki K, Takamura A, Nanba E, Seto T, Maeda M, Yamaguchi E, Matsuda J, Yamano T	Mucopolysaccharidosis II and III alpha/beta: mutation analysis of 40 Japanese patients showed genotype-phenotype correlation	J Hum Genet 54: 145-151	54	145-151	2009

Okuyama T, Tanaka A, Suzuki Y, Ida H, Tanaka T, Cox JF, Eto Y, Orii T	Japan Elaprase Treatment (JET) Study: Idursulfase Enzyme Replacement Therapy in Adult Patients with Attenuated Hunter Syndrome	Mol Genet Metab	99	18-25	2010
田中あけみ、澤田智、山野恒一	ムコ多糖症親の会の患者家族に対する出生前診断の意識調査	日本小児科学会雑誌	印刷中		
Tomastu S, Montano AM, Suzuki Y, et al.	Validation of keratan sulfate level in mucopolysaccharidosis type IVA by liquid chromatography-tandem mass spectrometry.	J Inher Metab Dis	in press		2010
Oda M, Isoyama K, Ito E, Inoue M, Tsuchida M, Kigasawa H, Kato K, Kato S.	Survival after cord blood transplantation from unrelated donor as a second hematopoietic stem cell transplantation for recurrent pediatric acute myeloid leukemia.	Int J Hematol.	Apr;89 (3)	374-82.	2009
Yazaki M, Atsuta Y, Kato K, Kato S, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Kouzai Y, Kobayashi T, Inoue M, Kobayashi R, Nagamura-Inoue T, Azuma H, Takanashi M, Kai S, Nakabayashi M, Saito H	Japan Cord Blood Bank Network. Incidence and risk factors of early bacterial infections after unrelated cord blood transplantation	Biol Blood Marrow Transplant.	Apr;15 (4)	:439-46.	2009
Isoyama K, Oda M, Kato K, Nagamura-Inoue T, Kai S, Kigasawa H, Kobayashi R, Mimaya J, Inoue M, Kikuchi A, Kato S.	Long-term outcome of cord blood transplantation from unrelated donors as an initial transplantation procedure for children with AML in Japan.	Bone Marrow Transplant.	May 11.		2009
Kudo K, Ohga S, Morimoto A, Ishida Y, Suzuki N, Hasegawa D, Nagatoshi Y, Kato S, Ishii E.	Improved outcome of refractory Langerhans cell histiocytosis in children with hematopoietic stem cell transplantation in Japan.	Bone Marrow Transplant.	Sep 21.		2009

Ohga S, Kudo K, Ishii E, Honjo S, Morimoto A, Osugi Y, Sawada A, Inoue M, Tabuchi K, Suzuki N, Ishida Y, Imashuku S, Kato S, Hara T.	Hematopoietic stem cell transplantation for familial hemophagocytic lymphohistiocytosis and Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan.	Pediatr Blood Cancer.	Feb;54(2):	299-306.	2010
Yagasaki H, Kojima S, Yabe H, Kato K, Kigasawa H, Sakamaki H, Tsuchida M, Kato S, Kawase T, Muramatsu H, Morishima Y, Kodera Y.	Tacrolimus/Methotrexate versus cyclosporine/methotrexate as graft-versus-host disease prophylaxis in patients with severe aplastic anemia who received bone marrow transplantation from unrelated donors: results of matched pair analysis.	Biol Blood Marrow Transplant.	Dec;15(12)	1603-8.	2009
田淵 健、気賀沢寿人、吉見礼美、熱田由子、足立壮一、磯山恵一、井上雅美、加藤剛二、河野嘉文、菊地 陽、小林良二、土屋 滋、堀越泰雄、矢部普正、渡辺 新、加藤俊一	小児期造血幹細胞移植全国集計(1983~2005)-細胞源ドナー別移植成績	日本小児血液学会雑誌	23	142-154.	2009
加藤俊一	小児期に造血幹細胞移植を受けた長期生存者におけるQOL評価法ガイドライン作成に向けて。	日本小児血液学会雑誌,	23	161-164	2009
渡辺 新、掛江直子、坂本なほ子、加藤俊一。	同胞小児ドナーになることの正確な理解に役立つ年齢群別パンフレットの作成	日本小児血液学会雑誌,	23	2009;23:155-160.	2009
Eto Y.	Single gene disorder: recent advances of research	Nippon Rins	68 Sup	117-28	2010
Meng XL, Shen JS, Kawagoe S, Ohashi T, Brady RO, Eto Y.	Induced pluripotent stem cells derived from mouse models of lysosomal storage disorders.	Proc Natl Acad Sci U S A	107(17)	7886-91	2010
Kobayashi H, Shimada Y, Ikegami M, Kawai T, Sakurai K, Urashima T, Ijima M, Fujiwara M, Kaneshiro E, Ohashi T, Eto Y, Ishigaki K, Osawa M, Kyosen SO, Ida H.	Prognostic factors for the late onset Pompe disease with enzyme replacement therapy: from our experience of 4 cases including an autopsy case.	Mol Genet Metab.	100(1)	14-19	2010
Kyosen SO, Iizuka S, Kobayashi H, Kimura T, Fukuda T, Shen J, Shimada Y, Ida H, Eto Y, Ohashi T.	Neonatal gene transfer using lentiviral vector for murine Pompe disease: long-term expression and glycogen reduction.	Gene Ther.	17(4)	521-30	2009
Sakurai Y, Suzuki R, Yoshida R, Kojima H, Watanabe M, Manome Y, Ohashi T, Eto Y, Moriyama H.	Inner ear pathology of alpha-galactosidase A deficient mice, a model of Fabry disease.	Auris Nasus Larynx.	37(3)	274-80	2009

Kobayashi H., Fujigasaki J., Fukuda T., Eto Y. et al.	Pathology of the first autopsy case diagnosed as mucopolipidosis type III alpha/beta suggesting autophagic dysfunction.	Mol.Genet. Metab.	102	170-175	2011
Okuyama T, Tanaka A, Suzuki Y, Ida H, Tanaka T, Cox JF, Eto Y, Orii T.	Japan Elaprase Treatment (JET) Study: Idursulfase Enzyme Replacement Therapy in Adult Patients with Attenuated Hunter Syndrome.	Mol Genet Metab	99	18-25	2010
Tanaka A, Takeda T, Hoshina T, Fukai K, Yamano T	Enzyme replacement therapy in a patient with Fabry disease and the development of IgE antibodies against agalsidase beta but not agalsidase alpha.	J Inherit Metab Dis.	[Epub ahead of print]		June 22, 2010
田中あけみ	ライソゾーム病の治療 酵素補充療法	血液フロンティア	20	575-581	2010
田中あけみ	ライソゾーム病を見逃していませんか？	小児内科	42	1161-1166	2010
田中あけみ	ムコ多糖症	肝・胆道症候群(第2版)I 肝臓編(上)		509-514	2010
Tomatsu S, Montaño AM, Oguma T, Dung VC, Oikawa H, Guitiérrez ML, Yamaguchi S, Suzuki Y, Fukushi M, Barrera L, Orii T.	Validation of disaccharide composition derived from dermatan sulfate and heparan sulfate in mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses II and III by tandem mass spectrometry.	Molecular Genetics and Metabolism	99	124-131	2010
Okuyama T, Tanaka A, Suzuki Y, Ida H, Tanaka T, Cox GF, Eto Y, Orii T.	Japan Elaprase Treatment (JET) study: idursulfase enzyme replacement therapy in adult patients with attenuated Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis II, MPS II).	Molecular Genetics and Metabolism	99	18-25	2010
Tomatsu S, Montaño AM, Oguma T, Dung VC, Oikawa H, de Carvalho TG, Gutiérrez ML, Yamaguchi S, Suzuki Y, Fukushi M, Sakura N, Barrera L, Kida K, Kubota M, Orii T.	Dermatan sulfate and heparan sulfate as a biomarker for mucopolysaccharidosis I.	J Inherit Metab Dis.	33	141-150	2010
Tomatsu S, Montaño AM, Oguma T, DunG VC, Oikawa H, Carvalho TG, Gutiérrez MG, Yamaguchi S, Suzuki Y, Fukushi M, Kida K, Kubota M, Kida K, Kubota M, Orii T.	Validation of keratan sulfate level in Mucopolysaccharidosis IVA by liquid tandem mass spectrometry method.	J Inherit Meta	Epub		2010

Suzuki D, Kobayashi R, Yasuda K, Nakagawa A, Morimoto T, Yabe M, Yabe H, Kobayashi K.	Precursor-T lymphoblastic lymphoma after unrelated bone marrow transplantation in a patient with Fanconi anemia	J Pediatr Hematol Oncol	33(1)		2011
Yabe M, Shimizu T, Morimoto T, Koike T, Takakura H, Suganuma E, Sugiyama N, Kato S and Yabe H.	Alternative donor marrow transplantation in children with aplastic anemia using low-dose irradiation and fludarabine-based conditioning	Bone Marrow Transplant	18 October		2010
Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, Arakawa S, Kato S and Yabe H.	Therapy-related myelodysplastic syndrome of recipient origin in a juvenile myelomonocytic leukemia patient 17 years after allogeneic BMT.	Bone Marrow Transplant	27 September		2010
Tomita Y, Ishiguro H, Yasuda Y, Hyodo H, Koike T, Shimizu T, Morimoto T, Hattori K, Matsumoto M, Inoue H, Yabe H, Yabe M, Shinohara O, Kojima S, Minemura T, Kato S.	High incidence of fatty liver and insulin resistance in long-term adult survivors of childhood SCT.	Bone Marrow Transplant.	Jun 21.		2010
Imaizumi M, Tawa A, Hanada R, Tsuchida M, Tabuchi K, Kigasawa H, Kobayashi R, Morimoto A, Nakayama H, Hamamoto K, Kudo K, Yabe H, Horibe K, Tsuchiya S, Tsukimoto I.	Prospective study of a therapeutic regimen with all-trans retinoic acid and anthracyclines in combination of cytarabine in children with acute promyelocytic leukaemia: the Japanese childhood acute myeloid leukaemia cooperative study.	Br J Haematol	Aug 5	1161-1166	2010
Nabhan SK, Bitencourt M, Duval M, Abecasis M, Dufour C, Boudjedir K, Rocha V, Socie' G, Passweg J, Goi K, Sanders J, Snowden J, Yabe H, Pasquini R, Gluckman E.	Fertility recovery and pregnancy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Fanconi anemia patients.	Haematologica	95(10)	1783-1787	2010
Yabe H, Yabe M, Koike T, Shimizu T, Morimoto T, Kato S.	Rapid improvement of life-threatening capillary leak syndrome after stem cell transplantation by bevacizumab.	Blood	115(13)	2723-2724	2010
Yabe H, Koike T, Shimizu T, Ishiguro H, Morimoto T, Hyodo H, Akiba T, Kato S and Yabe M.	Natural pregnancy and delivery after unrelated bone marrow transplantation using fludarabine-based regimen in a Fanconi anemia patient.	Int J Hematol	91(2):	350-351	2010

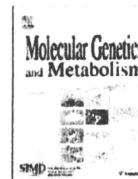
<p>渡辺修大、足立壮一、堀部敬三、永利義久、加藤剛二、田渕健、吉見礼美、加藤俊一、矢部普正、</p>	<p>日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)SCT委員会 小児急性骨髄性白血病第一寛解期でのHLA一致同胞間骨髄移植におけるGVHD予防(MTX単独vs. CyA群)の比較</p>	<p>日本小児血液学会雑誌</p>	<p>24(1)</p>	<p>32-36</p>	<p>2010</p>
<p>加藤陽子、羽田紘子、龍彩香、田嶋朝子、矢野一郎、玉置尚司、伊藤文之、秋山政晴、星順隆、金子隆、清水崇史、矢部みはる、矢部普正</p>	<p>軽症で7年間経過観察後最重症に進行しHLA1座不一致血縁ドナーより骨髄移植を施行した後天性特発性再生不良性貧血の1例</p>	<p>日本小児血液学会雑誌</p>	<p>24(53)</p>	<p>53-58.</p>	<p>2010</p>

研究成果の刊行物・別刷り



Contents lists available at ScienceDirect

Molecular Genetics and Metabolism

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ymgme

Japan Elaprase[®] Treatment (JET) study: Idursulfase enzyme replacement therapy in adult patients with attenuated Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis II, MPS II)

Torayuki Okuyama^{a,*}, Akemi Tanaka^b, Yasuyuki Suzuki^c, Hiroyuki Ida^d, Toju Tanaka^e, Gerald F. Cox^{f,g}, Yoshikatsu Eto^h, Tadao Oriiⁱ

^a Department of Clinical Laboratory Medicine, National Center for Child Health and Development, 2-10-1 Okura, Setagaya-ku, Tokyo 157-8535, Japan

^b Department of Pediatrics, Osaka City University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan

^c Medical Education Development Center, Gifu University School of Medicine, Gifu, Japan

^d Department of Pediatrics, The Jikei University School of Medicine, Tokyo, Japan

^e Department of Clinical Genetics and Molecular Medicine, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan

^f Genzyme Corporation, Cambridge, MA, USA

^g Division of Genetics, Children's Hospital Boston and Department of Pediatrics, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

^h Lysosomal Disease Research Center/Institute for Genetic Disease, The Jikei University School of Medicine, Tokyo, Japan

ⁱ Emeritus Professor, Gifu University, Gifu, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 25 June 2009

Received in revised form 20 August 2009

Accepted 20 August 2009

Available online 24 August 2009

Keywords:

Mucopolysaccharidosis II

Hunter syndrome

Clinical trial

Enzyme replacement therapy

Idursulfase

Elaprase

ABSTRACT

This open-label clinical study enrolled 10 adults with attenuated Mucopolysaccharidosis II and advanced disease under the direction of the Japan Society for Research on Mucopolysaccharidosis Disorders prior to regulatory approval of idursulfase in Japan. Ten male patients, ages 21–53 years, received weekly intravenous infusions of 0.5 mg/kg idursulfase for 12 months. Significant reductions in lysosomal storage and several clinical improvements were observed during the study (mean changes below). Urinary glycosaminoglycan excretion decreased rapidly within the first three months of treatment and normalized in all patients by study completion (–79.9%). Liver and spleen volumes also showed rapid reductions that were maintained in all patients through study completion (–33.2% and –31.0%, respectively). Improvements were noted in the 6-Minute Walk Test (54.5 m), percent predicted forced vital capacity (3.8 percentage points), left ventricular mass index (–12.4%) and several joint range of motions (8.1–19.0 degrees). Ejection fraction and cardiac valve disease were stable. The sleep study oxygen desaturation index increased by 3.9 events/h, but was stable in 89% (8/9) of patients. Idursulfase was generally well-tolerated. Infusion-related reactions occurred in 50% of patients and were mostly mild with transient skin reactions that did not require medical intervention. Two infusion-related reactions were assessed as serious (urticaria and vasovagal syncope). One patient died of causes unrelated to idursulfase. Anti-idursulfase antibodies developed in 60% (6/10) of patients. In summary, idursulfase treatment appears to be safe and effective in adult Japanese patients with attenuated MPS II. These results are comparable to those of prior studies that enrolled predominantly pediatric, Caucasian, and less ill patients. No new safety risks were identified.

© 2009 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

Mucopolysaccharidosis type II (MPS II, Hunter syndrome, OMIM #309900) is an X-linked recessive, lysosomal storage disorder caused by a deficiency of iduronate-2-sulfatase (IDS, EC3.1.6.13). This lysosomal enzyme catalyzes the first step in the degradation of the glycosaminoglycans (GAG), dermatan sulfate and heparan sulfate [1]. Iduronate-2-sulfatase deficiency leads to the accumulation of GAG within the lysosomes of virtually every cell in the body and is excreted in excessive amounts in the urine. MPS II encom-

passes a wide phenotypic spectrum that includes severe and attenuated forms. The severe form has onset of symptoms by 2–4 years old, progression of somatic symptoms and severe cognitive impairment during childhood, and death by 10–15 years of age. The attenuated form has a later onset in childhood, slower and milder progression of somatic disease, little to no cognitive impairment, and survival into adulthood. (Fig. 1) Common clinical features include coarse faces, upper airway obstruction, cardiac valve regurgitation, restrictive lung disease, hepatosplenomegaly, hernias, joint contractures, poor endurance, and reduced quality of life [2,3]. *IDS* gene mutations are heterogeneous, but some show genotype–phenotype correlations: deletions and gross rearrangements of the *IDS* gene are associated with the severe form, whereas missense

* Corresponding author. Fax: +81 3 3417 2238.

E-mail address: tora@nch.go.jp (T. Okuyama).

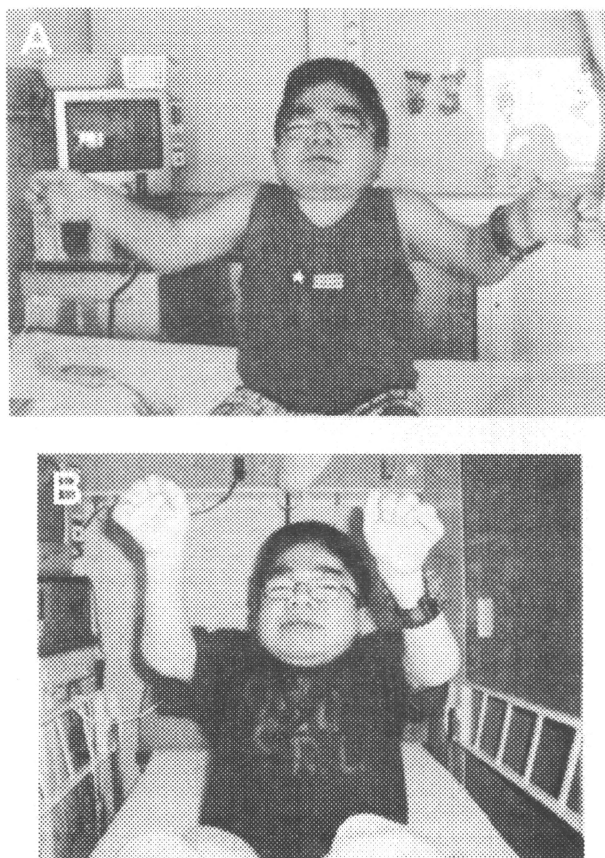


Fig. 1. A 23-year-old Japanese male study patient with MPS II. (A) Before treatment. (B) After 12 months of idursulfase treatment. Note the coarse facial features characteristic of MPS II. At baseline, the patient had severely limited shoulder range of motion (flexion and abduction), which improved following treatment.

mutations are more often associated with attenuated disease [4–10]. No racial or geographic differences have been observed. Females are only rarely affected, most often through skewed X-inactivation [1]. MPS II is the most prevalent MPS disorder in Asia, accounting for >50% of all MPS patients in Japan [10]. The annual incidence of all MPS disorders in Japan is estimated to be 1/50,000–1/60,000, and approximately half of the cases are due to MPS II. The estimated birth incidence of MPS II in Japan is, therefore, 1/90,000–1/100,000 [11], similar to the 1/92,000 to 1/162,000 incidences reported for predominantly Caucasian countries [12–15].

Until recently, treatment of MPS II was mainly palliative and focused on alleviating clinical symptoms through a variety of surgeries, medical devices, therapies, and medications. Several patients have undergone hematopoietic stem cell transplant (HSCT) as a source of iduronate-2-sulfatase, but unlike for MPS I, cognitive decline is not halted and the long-term effects on somatic disease are not well-documented [16,17]. Therefore, most centers consider the risk–benefit profile unfavorable and do not recommend HSCT for patients with MPS II.

Idursulfase (Elaprase[®], Shire Human Genetic Therapies, Inc., Cambridge, MA, USA) is a recombinant human form of iduronate-2-sulfatase that is produced in a human cell line. Preclinical studies carried out in an MPS II knockout-mouse model [18] and in a Phase 1/2 dose-ranging study of MPS II patients [19] indicated that idursulfase was effective at reducing lysosomal GAG. The safety and efficacy of idursulfase was confirmed in a Phase 2/3 double-blind, placebo-controlled clinical study that randomized 96 MPS II pa-

tients to one of three treatment arms for 52 weeks: 0.5 mg/kg idursulfase weekly, 0.5 mg/kg idursulfase alternating with placebo every other week, or placebo weekly [20]. The primary efficacy endpoint was a composite of changes in percent predicted forced vital capacity (FVC) and the 6-Minute Walk Test (6MWT). Patients who received weekly idursulfase showed a greater difference in the composite endpoint compared to placebo ($p = 0.005$) than did the every other week idursulfase group ($p = 0.042$). The weekly idursulfase arm showed a mean 44.3 m increase in 6MWT distance (37 m difference from placebo, $p = 0.013$) and a mean 3.45 percentage point increase in percent predicted FVC (2.7 percentage point difference from placebo, $p = 0.065$). These clinical changes were associated with significant reductions versus placebo in urinary GAG level (-52.5% , $p < 0.0001$), liver volume (-25.3% , $p < 0.0001$), and spleen volume (-25.1% , $p < 0.0001$). Idursulfase was well-tolerated, with infusion-related reactions being the most common drug-related related adverse events, occurring in 69% (22/32) of patients in the weekly idursulfase arm.

Idursulfase was approved for the treatment of MPS II by the United States Food and Drug Administration (FDA) in July 2006 and by the European Medicines Agency (EMA) in January 2007. Due to the life-threatening nature of the disease and the small number of patients, the Japanese Ministry of Health, Labour, and Welfare (MHLW) Committee for the Use of Unapproved Drugs recommended that idursulfase be approved based on ethical grounds and the results of overseas clinical trials, which included four Japanese patients. The committee also requested that idursulfase be made available to the most seriously ill MPS II patients prior to approval, which occurred in October 2007. Consequently, the Japan Elaprase Treatment (JET) study was initiated under the direction of the Japan Society for Research on MPS Disorders. Here, we present the results of this study.

Materials and methods

Patients

To be eligible for the study, patients had to meet all of the following inclusion criteria: (1) Documented deficiency of iduronate-2-sulfatase enzyme activity of <10% of the lower limit of normal with a normal enzyme activity level of one other sulfatase. (2) Male and above 20 years of age. (3) Clinically advanced disease status with <80% predicted FVC and New York Heart Association Class II–IV. (4) Capable of showing improved quality of life. (5) Able to complete study assessments.

Patient exclusion criteria included: (1) Previous bone marrow or cord blood transplant. (2) Known hypersensitivity to one of the components of idursulfase. (3) Previous treatment with idursulfase. (4) Unable to receive weekly infusions of idursulfase at the patient's local hospital. All patients provided signed informed consent prior to enrollment.

Study design

This was a multi-center, open-label study that enrolled 10 adult males with MPS II at 5 clinical sites in Japan. The study adhered to the guidelines set forth in the Declaration of Helsinki. Idursulfase was manufactured by Shire Human Genetic Therapies, Inc. and distributed by Genzyme Corporation (Cambridge, MA, USA). Genzyme Corporation performed all statistical analyses, and Genzyme Japan KK (Tokyo, Japan) provided data management support.

Idursulfase

Patients were administered 0.5 mg/kg idursulfase diluted in saline to a final volume of 100 cc intravenously over 3 h on a weekly

basis (± 3 days) for up to 12 months. Infusions rates were ramped up over the first hour as described in the Phase 2/3 study [20]. Patients were monitored during each infusion and were discharged 1 h after completing the infusion, if clinically stable.

Efficacy assessments

Urinary GAG level was determined as the concentration of uronic acid normalized for creatinine (mg/g creatinine) and was measured using the carbazole reaction at a central laboratory (SRL Medisearch, Tokyo, Japan) or at Osaka City University Hospital. Liver and spleen volumes were quantitated by computerized tomography (CT), with the upper limits of normal being 2.5% and 0.2% of body weight, respectively. Percent predicted FVC and the 6MWT were performed according to American Thoracic Society guidelines [21,22]. Cardiac structure and function were evaluated by echocardiography (two-dimensional and M-mode). Left ventricular mass index (LVMI) was calculated as the left ventricular mass normalized for body surface area, with normal values defined as $<131 \text{ g/m}^2$. Active joint range of motion was measured by goniometry, and included the shoulder (flexion, extension, and abduction), elbow (flexion and extension), hip (flexion and extension), and knee (flexion and extension). Left and right joint ranges of motion for each were averaged for each patient. The sleep study oxygen desaturation index (ODI) was assessed by pulse oximetry and defined as the number of desaturations ($<89\%$ oxygen saturation or $\geq 4\%$ decrease in oxygen saturation from baseline lasting ≥ 10 s) per hour of sleep. A normal ODI was considered to be <5 events/h [23].

Safety assessments

Safety evaluation included continuous monitoring of adverse events and periodic clinical laboratory and physical examination evaluations. Adverse events were reported by severity (mild, moderate, severe, life-threatening) and by relatedness to idursulfase. An infusion-related reaction was defined as any adverse event occurring during or following an infusion (i.e., within 24 h of infusion initiation) that was reported by the investigator as related to idursulfase. Antibodies to idursulfase were measured by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA; Shire Human Genetic Therapies).

Table 1
Summary of efficacy changes after 12 months of treatment with idursulfase.

	N	Baseline	12 months	Change	% Change	p-Value
Urinary GAG (mg/g creatinine)	9	106.4 \pm 7.8	21.2 \pm 2.9	-85.2 \pm 7.1	-79.9 \pm 2.2	0.004 [†]
Liver volume (cc)	10	1491.2 \pm 92.9	993.2 \pm 75.0	-498.0 \pm 70.2	-33.2 \pm 4.0	0.002 [†]
Spleen volume (cc)	10	210.2 \pm 22.5	138.1 \pm 12.5	-72.1 \pm 15.7	-31.0 \pm 5.5	0.002 [†]
6-Minute Walk Test (m)	7	286.0 \pm 53.4	340.5 \pm 49.6	54.5 \pm 27.0	37.4 \pm 18.1	0.109
Forced vital capacity (% predicted)	9	39.9 \pm 6.6	43.7 \pm 6.0	3.8 \pm 2.8	15.0 \pm 8.0	0.250
Forced vital capacity (L)	9	1.4 \pm 0.3	1.5 \pm 0.2	0.1 \pm 0.1	16.3 \pm 8.0	0.250
Left ventricular mass index (g/m ²)	6	139.9 \pm 25.1	133.2 \pm 38.9	-6.7 \pm 15.5	-12.4 \pm 11.1	0.563
Left ventricular ejection fraction (%)	10	67.0 \pm 5.2	64.3 \pm 6.0	-2.8 \pm 2.5	-6.1 \pm 5.7	0.244
<i>Joint range of motion (degrees)</i>						NA
Shoulder flexion	10	93.8 \pm 4.9	109.8 \pm 7.1	15.0 \pm 7.3		0.066
Shoulder extension	10	44.1 \pm 4.1	43.8 \pm 3.8	-0.3 \pm 4.1		0.945
Shoulder abduction	10	76.3 \pm 3.9	95.3 \pm 8.1	19.0 \pm 8.8		0.125
Knee flexion	9	103.7 \pm 8.5	114.4 \pm 5.2	10.7 \pm 10.3		0.461
Knee extension	9	-11.1 \pm 4.5	-10.3 \pm 5.0	0.8 \pm 2.5		0.875
Hip flexion	9	89.2 \pm 8.1	103.3 \pm 7.6	14.2 \pm 5.1		0.031
Hip extension	9	3.1 \pm 5.0	1.9 \pm 6.7	-1.3 \pm 1.8		0.750
Elbow flexion	10	120.9 \pm 4.0	121.8 \pm 3.7	0.9 \pm 2.5		0.828
Elbow extension	10	-43.1 \pm 4.2	-35.0 \pm 4.2	8.1 \pm 3.4		0.063
Oxygen desaturation index (events/h)	9	18.5 \pm 6.1	22.3 \pm 7.4	3.9 \pm 3.5	NA	0.426

The last observation carried forward (LOCF) method was used to replace a missing value at the 12-month timepoint.

All values are the observed means \pm SEM. All p-values are based on the Wilcoxon signed rank test for change from baseline to the 12-month timepoint.

NA, not applicable. Some patients had values of 0 at baseline that precluded calculation of percent change.

[†] The p-value is based on the Wilcoxon signed rank test for % change from baseline to the 12-month timepoint.

Statistics

Efficacy results are reported as the mean \pm standard error of the mean (SEM). For missing data at 12 months, the last observation carried forward method was used for values obtained at 6 months or later. The number of evaluable patients was at least nine for each endpoint, except for LVMI ($n = 6$, primarily due to missing baseline data) and the 6MWT ($n = 7$, primarily due to the inability to perform the test). The Wilcoxon signed rank test was used to evaluate changes in efficacy endpoint from baseline to 12 months, and p-values <0.05 were considered statistically significant. Percent change was tested for pharmacodynamic parameters (i.e., urinary GAG level and liver and spleen volumes), whereas absolute change was tested for clinical endpoints.

Results

Patient disposition

Ten adult Japanese males with attenuated MPS II were enrolled in the study and received idursulfase treatment. Nine patients completed the 12-month study; one patient died of causes unrelated to idursulfase after receiving 41 of 44 scheduled infusions (see Safety Section). Compliance with treatment was excellent, with all 10 patients receiving $>93\%$ of scheduled infusions; 80% (8/10) of patients did not miss a single scheduled infusion.

Patients

The mean patient age was 30.1 years (range 21.1–53.9). All patients had been diagnosed during mid-childhood or adolescence with MPS II (mean age 7.9 years), and all had advanced disease burden at the time of enrollment into the study. All patients had short stature (height <3 rd percentile for Japanese adult males). Past medical history was significant for the following MPS II-related features ($n =$ number of patients): valvular heart disease consisting mainly of aortic and/or mitral valve insufficiency (10), joint contractures (7), hepatomegaly (7), deafness (6), retinal degeneration (5), sleep apnea (5), otitis media