

201128011A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

# ライソゾーム病（ファブリ病含む）に 関する調査研究

平成 23 年度総括・分担研究報告書

平成 24（2012）年 3 月

研究代表者

衛 藤 義 勝

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

ライソゾーム病(ファブリ病含む)に関する調査研究班

平成 23 年度総括・分担研究年度終了報告書

平成 24(2012)年 3 月

研究代表者

衛 藤 義 勝

# 目 次

はしがき .....	1
研究組織 .....	3
総括研究報告書 .....	7
ライソゾーム病（ファブリー病を含む）に関する調査研究 主任研究者 衛藤義勝	
付 1 平成 23 年度班会議プログラム .....	13
分担研究報告書	
I. 病像把握のための実態調査	
1) ポンペ病マススクリーニングシステムの開発 .....	21
奥山 虎之(国立成育医療研究センター臨床検査部)	
2) ライソゾーム病の新生児マス・スクリーニングと pseudodeficiency allele に関する研究 .....	23
田中あけみ(大阪市立大学大学院医学研究科・准教授)	
3) ライソゾーム病(ファブリー病含む)に関する研究 .....	26
遠藤 文夫(熊本大学大学院 医学薬学研究部小児科学分野 教授)	
4) ファブリー病自験例 58 症例の臨床的検討 .....	28
坪井 一哉(名古屋セントラル病院 血液内科 主任医長)	
5) ムコ多糖症Ⅱ型(Hunter 病)の成長曲線作成 .....	34
鈴木 康之(岐阜大学医学教育開発研究センター)	
6) ハンター症候群患児における酵素補充療法の効果の長期観察 .....	36
芳野 信(久留米大学教授)	
7) ライソゾーム病に対する酵素補充療法におけるコンプライアンスについて .....	38
高柳 正樹(千葉県こども病院副院長)	
8) 副腎白質ジストロフィー(ALD)の造血幹細胞移植成績 .....	40
鈴木 康之(岐阜大学医学部医学教育開発研究センター)	

- 9) 先天代謝異常症における造血幹細胞移植の後方視的研究と  
標準的移植法確立に関する研究 ..... 42  
加藤 俊一(東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学・教授)

## II. 病態解析

- 1) スフィンゴリピドーシスの病態解明および治療法開発に関する研究 ..... 49  
松田 純子(東海大学・糖鎖科学研究所教授)
- 2) ABCD タンパク質の機能解析及び副腎白質ジストロフィーALD の分子病態の解明 ..... 56  
今中 常雄(富山大学大学院医学薬学研究部 教授)
- 3) ペルオキシゾーム病に関する診断・病態解明に関する研究 ..... 60  
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)
- 4) E66Q アミノ酸置換を伴う  $\alpha$ -ガラクトシダーゼ A の研究 ..... 64  
櫻庭 均(明治薬科大学分析化学・臨床遺伝学 教授)
- 5) 日本人ムコリリピドーシス II/III の病態解析と治療法の開発 ..... 69  
酒井 規夫(大阪大学大学院医学系研究科 小児科学講座)
- 6) ニーマンピック病 A/B 病および C 型の臨床および病態に関する研究 ..... 73  
高橋 勉(秋田大学大学院医学系研究科医学専攻小児科学講座教授)
- 7) ライソゾーム病(ファブリー病含む)に関する調査研究 ..... 75  
大澤真木子(東京女子医科大学小児科主任教授)
- 8) パーキンソン病感受性遺伝子探索 ..... 77  
辻 省次(東京大学神経内科教授)
- 9) Adrenoleukodystrophy の臨床病型を修飾する遺伝的要因の探索 ..... 78  
辻 省次(東京大学神経内科教授)
- 10) ライソゾーム病の病態・治療に関する基礎的研究ー  
特に中枢神経障害に対する治療法の研究並びに iPS 細胞を用いての研究 ..... 80  
衛藤 義勝(東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座教授)

### Ⅲ. 早期診断法・新規治療法の開発

- 1) 濾紙血液を用いた糖原病Ⅱ型の酵素学的スクリーニング法の研究：  
免疫捕捉酵素活性測定法と競合酵素阻害法の比較 ..... 87  
北川 照男(財団法人 東京都予防医学協会理事長)
- 2) ライソゾーム病の遺伝子治療に関する研究 ..... 95  
島田 隆(日本医科大学教授)
- 3) ムコ多糖症Ⅶ型、クラッペ病への遺伝子・細胞治療に関する基礎的研究 ..... 99  
小林 博司(東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部)
- 4) ライソゾーム病の新しい分子治療法開発 .....101  
鈴木 義之(国際医療福祉大学教授)
- 5)  $\beta$ -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 .....105  
難波 栄二(鳥取大学生命機能研究支援センター教授)
- 6) ゴーシェ病 3 型患者に対するケミカルシャペロン療法 .....107  
大野 耕策(鳥取大学医学部・教授)
- 7) メタボローム解析による ALD 等ペルオキシソーム病の発症前診断マーカーの探索 .....110  
横山 和明(帝京大学薬学部教授)
- 8) 小児副腎白質ジストロフィーの超早期診断法開発に関する研究 .....112  
加我 牧子(国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所)
- 9) 副腎白質ジストロフィー症に対する造血細胞移植 .....115  
加藤 剛二(名古屋第一赤十字病院 小児医療センター血液腫瘍科)
- 10) 静注用ブスルファンを用いたライソゾーム病の移植前処置の検討 .....118  
矢部 普正(東海大学医学部再生医療科学准教授)

研究成果一覧 .....125

付 2 第 2 回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムプログラム ..... 149

# は し が き

ライソゾーム病研究班は昨年度より、ALD 研究グループが加わり、研究の柱のとして(1)ライソゾーム病(LSD)&ペルオキシゾーム病(PD)&副腎白質変性症(ALD)患者の自然歴を解析すると同時に現在の患者の状況を ADL(activity of daily life)、QOL(quality of life)の解析により評価する。また、LSD では酵素補充療法の効果、ALD では造血幹細胞の効果を ADL,QOL で評価し、治療効果を判定した。(2)ライソゾーム病患者&ペルオキシゾーム病&ALD 患者の早期診断・治療の為のスクリーニング法の開発、特に乾燥濾し血を用いての診断法、MS/MS を用いての診断法の開発などの研究を行う。(3)ライソゾーム病&ペルオキシゾーム病の病態解析：特にポンペ病、ゴーシェ病、ファブリ病患者皮膚線維芽細胞から iPS 細胞法作成による病態解析は病態解明に有効である。(4)遺伝子治療&細胞治療(骨髄幹細胞、iPS 細胞治療を含む)、シャペロン治療、基質合成抑制療法等の新規治療方法の開発に関して検討を加えた。また(5)新たなプロジェクトとして、我が国の遺伝病の遺伝子治療体制の基盤整備の確立を目指すため、昨年につき、協力体制の整備を行った。以下5本の柱の概要を示す。

## (1) ライソゾーム病(LSD)、ペルオキシゾーム病(PD)、ALD の自然歴、造血幹細胞、酵素補充療法の効果判定

特にファブリ病、ポンペ病、ゴーシェ病、ペルオキシゾーム病に於いて QOL, ADL の改善に関する調査を行った。又酵素補充療法の効果は抗体産生、合併症の程度の関連性も重要課題であることを明らかにした。

## (2) ライソゾーム病・ペルオキシゾーム病&ALD 患者のスクリーニング

早期診断、治療の為に濾紙血を用いたファブリ病、ポンペ病、ムコ多糖症 I 型、ムコ多糖症 II 型、VI 型のスクリーニング法を開発を行い、酵素補充療法を中心とした治療可能なライソゾーム病の濾紙へのスポット採血など簡易なスクリーニング法の開発と実施。タンデムマスによる診断法を開発などを進め、スクリーニング法としての精度を上げた。ALD 患者の早期診断法として濾紙血による方法の開発を検討する。

## (3) LSD、PD 患者の病態解析

①ゴーシェ病遺伝子異常とパーキンソン病発症との関連②ニーマンピック A/B/C での脂質輸送障害の解析 ③ムコリポドーシス I, II 型での遺伝子、病態解析 ④ファブリ病・ゴーシェ病、ポンペ病の iPS 細胞を用いての病態解析:ポンペ病マウスを用いての iPS 細胞から骨核筋細胞への分化を行い、著明な蓄積物質を証明、ヒトファブリ病、ゴーシェ病 iPS 細胞作製に成功 ⑤酵素補充療法での酵素製剤の動態解析並びに抗体産生の機序解明④サポシン A, C, D ノックアウトマウスの作製による脂質輸送、免疫に関して病態を証明した。また、ポンペ病細胞を用いてオートファジーのメカニズム、病態との関係を明らかにした。

#### (4) ケミカルシャペロン・細胞・遺伝子治療の開発

各種シャペロン、特に Noev, Nov を用いて GM1-ガングリオシドーシスの有効性を明らかにした。今後臨床試験に向け研究を進めている。造血幹細胞移植の効果と適応に関する研究では我が国の LSD 患者への有効性を明らかにし、特にムコ多糖Ⅱ型での効果を明らかにした。イソフラボンによるムコ多糖症治療患者の神経障害への効果を研究ある程度の有効性を示した、またポンペ病に対するレンチウイルスを用いての遺伝子治療、更に iPS 細胞を用いた LSD & PD の病態解析、治療法開発の推進を行った。

#### (5) 我が国の遺伝病の遺伝子治療体制の基盤整備

我々は All Japan の体制で LSD, PD, ALD の遺伝子治療体制を整備の為にベクター産生施設、臨床治験体制、安全性のチェック施設、企業との連携体制などの整備を行う為のグランドデザインを構築する検討を昨年引き続き進め、具体的な方向性を進めている。

平成 23 年度は以上のプロジェクトを班員 26 名の協力のもとに研究を推進し、実りある成果を挙げる事が出来ました。ご協力頂いた班員並びに研究協力者の皆様に深く感謝申し上げます。本研究がライソゾーム病関連疾患で悩む患者、並びに御家族の為にも少しでもお役に立てることを、心から祈念しております。

平成 24 年 3 月吉日

東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座  
研究代表者 衛藤 義勝

平成 23 年度難治性疾患克服研究事業

ライソゾーム病(ファブリー病含む)に関する調査研究組織

氏名	所属	職名	分担研究課題
研究代表者 衛藤 義勝	東京慈恵会医科大学 遺伝病研究講座	教授	総括・新しい治療法の開発
分担研究者 鈴木 義之	国際医療福祉大学	教授	新しい治療法の開発(ケミカルシヤペロン法)
芳野 信	久留米大学医学部小児科学	教授	バイオマーカーの開発
田中あけみ	大阪市立大学大学院医学研究科	准教授	先天代謝異常症における造血幹細胞移植の後方視的調査研究と標準的移植法確立に関する研究
島田 隆	日本医科大学	教授	新しい治療法の開発(遺伝子治療)病態に関する研究
酒井 規夫	大阪大学大学院医学系研究科 小児科学講座	准教授	臨床疫学的研究
高橋 勉	秋田大学大学院医学系研究科 医学専攻小児科学講座	教授	臨床疫学的研究
高柳 正樹	千葉県こども病院	副院長	臨床疫学的研究
大野 耕策	鳥取大学医学部 脳神経小児科学	教授	新しい治療法の開発(ケミカルシヤペロン法、iPS)
辻 省次	東京大学大学院医学系研究科 医学部 神経内科学	教授	病態に関する研究
難波 栄二	鳥取大学 生命機能研究支援センター	教授	新しい治療法の開発(ケミカルシヤペロン法)
鈴木 康之	岐阜大学 医学教育開発研究センター	教授	ライソゾーム病、ペルオキシゾーム病、ADL, QOL に関する研究
櫻庭 均	明治薬科大学分析化学・臨床学	教授	新しい治療法の開発(酵素補充療法)
北川 照男	東京都予防医学協会	理事長	新しい診断法の開発(マススクリーニング法)
奥山 虎之	国立成育医療センター 臨床検査部	部長	新しい治療法の開発(酵素補充療法)
坪井 一哉	名古屋セントラル病院血液内科	主任医長	ライソゾーム病の ADL, QOL に関する研究
松田 純子	東海大学糖鎖科学研究所	教授	新しい治療法の開発(骨髄移植)
加藤 俊一	東海大学医学部基盤診療学系 再生医療科学	教授	先天代謝異常症における造血幹細胞移植の後方視的調査研究と標準的移植法確立に関する研究
遠藤 文夫	熊本大学大学院医学薬学研究部 小児科学	教授	新しい診断法の開発(マススクリーニング法)
下澤 伸行	岐阜大学生命科学総合研究支援 センターゲノム分野	教授	ペルオキシゾーム病&ADL の早期診断、病態解明、治療法の開発
今中 常雄	富山大学大学院医学薬学研究部 分子細胞生物学	教授	ペルオキシゾーム病&ADL の分子病態解析と脂質代謝改善薬の探索
小林 博司	東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部	講師	新しい治療法の開発(遺伝子治療)
矢部 普正	東海大学医学部再生医療科学	准教授	ALD に対する造血細胞移植治療の確立
加藤 剛二	名古屋第一赤十字病院 小児医療センター血液腫瘍科	部長	ALD に対する造血細胞移植
加我 牧子	国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所	センター長	小児副腎白質ジストロフィーの超早期診断法開発に関する研究
横山 和明	帝京大学薬学部	教授	メタボローム解析による ALD 等ペルオキシゾーム病の発症前診断マーカーの探索
大澤真木子	東京女子医科大学小児科	主任教授	神経障害の評価



# 総括研究報告書

## ライソゾーム病(ファブリー病含む)に関する調査研究

研究代表者

衛藤 義勝(東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座)

### 研究要旨

本年度はライソゾーム病調査研究の第二年目であり、研究の柱としてⅠ. 病像把握のための実態調査、Ⅱ. 病態の解析、Ⅲ. 治療法の開発、Ⅳ. 遺伝病の遺伝子治療体制の整備、を従来掲げており、これに沿って以下のように新たな研究報告が為された。

- I. 病像把握のための実態調査として、ポンペ病マススクリーニング研究、ムコ多糖症Ⅰ型、Ⅱ型、およびポンペ病の3疾患の新生児マス・スクリーニングのパイロットスタディ、ファブリー病スクリーニング、ファブリー病患者の基礎的な臨床データ調査、ハンター症候群成長曲線の作成と解析、長期の酵素補充療法効果を観察、酵素補充療法中に生じたコンプライアンスに関する問題点の検討
- II. 病態の解析として、セレザイムによる人工基質の分解活性に及ぼす影響、副腎白質ジストロフィーの欠損タンパク質 ABCD1 および 4 の機能解析、ペルオキシソーム病迅速診断システムの開発、ファブリー病スクリーニングで高頻度に見つかる E66Q の解析、ニーマンピック病 C 型皮膚線維芽細胞の解析、小児型 Pompe 病における骨格筋画像評価、パーキンソン病 (PD) の感受性遺伝子検索、Adrenoleukodystrophy (ALD) の臨床病型を修飾する遺伝的要因の探索、iPS 細胞による病態解析モデルの作製
- III. 治療法の開発として、ポンペ病のスクリーニング法の比較検討、異染性白質ジストロフィー (MLD)、クラッペ病、ムコ多糖症Ⅶ型に対する遺伝子治療研究、GM1-ガングリオシドーシスに対する経口シャペロン薬 NOEV の検討、アンブロキソールによるケミカルシャペロン療法の検討、Zellweger 症候群患者由来繊維芽細胞に含まれる極長鎖脂肪酸含有脂質の構造解析、ALD の超早期診断法の検討、ALD 患者に対する造血幹細胞移植の効果検討、ムコ多糖症Ⅰ型に対する造血幹細胞移植の実施状況調査
- IV. 遺伝病の遺伝子治療体制の整備として、欧米では徐々に実際の成果の出始めている遺伝病遺伝子治療のためのベクター作成、安全性評価、経済体制整備などの準備活動。

以上にあげた主題で総合的かつ多彩な研究報告が為され、本文に示すような成果を上げつつあり、今後の更なる発展も期待されるところである。

## A. 研究目的

本研究の目的はライソゾーム病 (LSD) 患者の生命予後、日常生活 (Activity of daily life, ADL)、生活の質 (Quality of Life, QOL) の改善にある。そのための従来 3 本柱として (I.) 現在の LSD 患者の現状および実態を調査、把握すること、(II) その病態を解析し、その理解を深めること、(III) これらを基に早期診断法や新規治療法を開発していくこと、の三つに重点を置いて研究を推進してきた。更に 4 本目の柱として (IV) 我が国での遺伝病の臨床遺伝子治療体制の整備を進めることも本調査研究の初年度から掲げている。以上 (I.) ~ (IV) の柱に沿って本年度の研究報告を総括する。

## B. 研究方法

\* 詳細は各研究分担者の報告欄参照

### (I) 病像把握のための実態調査

奥山らはポンペ病マススクリーニング研究を進め昨年度報告したろ紙血を用いた方法で 361 名の新生児から GAA 活性、阻害%、pH 活性比を測定し、陽性者に対して pseudodeficiency 鑑別のため G576S 変異解析を行った。田中らはムコ多糖症 I 型、II 型、およびポンペ病の 3 疾患について、血液ろ紙を材料として酵素活性を測定することによる新生児マス・スクリーニングのパイロットスタディを行った。さらに、健常成人男性ボランティアを対象に  $\alpha$ -L-iduronate-2-sulfatase 活性のスクリーニングを行った。遠藤ら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とハイリスク者スクリーニングのパイロットスタディを行った。坪井らは名古屋セントラル病院受診のファブリー病患者 58 名に対し発症年齢、酵素活性、臨床所見などの基礎データを調査。鈴木らはハンター症候群 46 名の母子健康記録を利用して成長曲線を作成した。芳野らはハンター症候群に対する長期の酵素補充療法効果を観察、兄弟例で各症状を比較検討した。高柳らは酵素補充療法中に生じたコンプライアンスに関する問題点を医療記録から事後的に収集検

討した。鈴木康之らは小児・思春期大脳型副腎白質ジストロフィー (ALD) 患者 47 名に対して実施された造血幹細胞移植の効果を解析した。加藤剛二らは進行性でかつ難治性の ALD 3 例に対して骨髄非破壊的前処置にて造血細胞移植を施行し、結果を解析した。加藤俊一らは 1989~2008 年の間にムコ多糖症 I 型に対して行われた造血幹細胞移植の実施状況および長期生存例の臨床効果について調査・解析した。

### (II) 病態解析

松田らは化学合成サポシンを作成しセレザイムによる人工基質の分解活性に及ぼす影響を検討し、またプロサポシン欠損マウス胚の解析、マウス胎生期のプロサポシン、サポシンの発現変化を検討した。今中らは副腎白質ジストロフィーの欠損タンパク質 ABCD1 および 4 の機能解析を行った。前者は ABCD1 欠損マウス由来のアストロサイトからの初代培養を用いて脂肪酸の  $\beta$  酸化活性、極長鎖脂肪酸蓄積、遺伝子発現解析を施行、後者は ABCD4-His を過剰発現させた CHO 細胞から調整したオルガネラ粗分画をショ糖密度勾配遠心により分離し解析。下澤らは臨床症状よりペルオキシソーム病が疑われた患者に対して GC/M を用いた代謝産物の測定をはじめとする方法で診断し、また同時に LC/MS/MS を用いた極長鎖脂肪酸迅速診断システムの開発、さらにペルオキシソーム形成異常症患者細胞由来の iPS 細胞を樹立し神経分化を誘導した。櫻庭らはファブリー病スクリーニングで高頻度に見つかる E66Q に基づく GLA の構造変化を予測すると共に、当該 GLA を持つ症例から血液および生検皮膚組織を入手し、生化学的および病理学的解析を行った。酒井らはムコリピドーシスの培養皮膚線維芽細胞を用いて病態解明とライソゾーム酵素の補充による治療法の開発を行なった。高橋らはニーマンピック病 C 型皮膚線維芽細胞および ASM 欠損皮膚線維芽細胞に関して、酪酸 (butyrate) 添加の有無により細胞内遊離コレステロールをフィリピン染色で

調べ検討した。大澤らは小児型 Pompe 病における骨格筋画像評価の有用性について検討した。辻らはファブリー病の原因遺伝子である  $\alpha$  ガラクトシダーゼ A 遺伝子について、PD の疾患感受性遺伝子の候補と考へて関連解析を行った。また副腎白質ジストロフィーの多様な臨床病型を規定する遺伝的要因を、ペルオキシソーム機能に関わる遺伝子を候補として探索するアプローチと網羅的なゲノム配列解析に基づき探索した。衛藤らはポンペ病由来の iPS 細胞を作成し、病態解明のためのモデル作成を試みた。

### (Ⅲ) 早期診断法・新規治療法の開発

北川らは糖原病Ⅱ型(以下 GSDⅡ)のスクリーニング法としてこれまでに知られている2つの方法、免疫捕捉法、競合阻害法を用いて、新生児及び患者の乾燥濾紙血液中のライソゾームの酸性  $\alpha$ -glucosidase(以下 LGAA)活性を測定し、患者判定の容易さを比較した。

島田らは Arylsulfatase A (ASA) の遺伝的欠損症である異染性白質ジストロフィー (MLD) に対する遺伝子治療法の可能性を検討し AAV ベクターの髄腔内注射による MLD 治療の可能性を検討した。小林らはレンチウイルスベクターシステムを用いてライソゾームモデル特にムコ多糖症Ⅶ型、クラッペ病に対する遺伝子治療の可能性を検討した。鈴木義之らは GM1-ガングリオシドーシスのモデルマウスに経口シャペロン薬 NOEV を投与し、その薬理動態、組織内分布、シャペロン効果を検討した。難波らは  $\beta$ -ガラクトシダーゼ欠損症患者 1 検体について遺伝子変異解析を行い、またこの患者由来の皮膚線維芽細胞に対するケミカルシャペロン化合物 NOEV (N-octyl-4-epi- $\beta$ -valienamine) の検討を行った。大野らはゴーシェ病患者線維芽細胞と正常マウスで、アンブロキソール投与の有効性と安全性を確認した後、鳥取大学倫理委員会の承認を受け、ゴーシェ病 3 型患者 1 名に対し、アンブロキソールによるケミカルシャペロン療法を行った。横山らは Zellweger

症候群患者由来線維芽細胞に含まれる極長鎖脂肪酸含有脂質の構造を解析。加我らによると家系内の小児副腎白質ジストロフィー症 (Adrenoleukodystrophy, ALD) 発症者の存在などから極長鎖脂肪酸高値、遺伝子変異が確定された ALD 児における発症を早期に診断し早期治療につなげるため、未発症の状態での評価のため紹介来院した初診時 3 歳から 14 歳の男児 8 例について神経心理学的検査、神経生理学的検査を実施した。矢部らによると 4 例のライソゾーム病(ムコ多糖症Ⅱ型が 3 例、異染性白質ジストロフィーが 1 例)の小児に対して、静注用ブスルファンとシクロフォスファミドを用いた移植前処置で同種骨髄移植を施行、検討した。

### (Ⅳ) 臨床遺伝子治療体制の整備に向けて、政府関係者、企業関係者、研究者を交えた総合的な研究会の開催

## C. 研究結果および考察

\* 詳細は各分担研究者報告を参照のこと

### (Ⅰ) 病像把握のための実態調査

奥山らはポンペ病マススクリーニングパイロットスタディにおいて一次スクリーニング陽性は 361 名中 15 名、そのうち 14 名は pseudodeficiency、1 例はポンペ病を否定され、特異度は 95.8% とされた。今後症例数蓄積後のカットオフ基準値の評価が必要としている。田中らは新生児マス・スクリーニングのパイロットスタディの中で、ムコ多糖症Ⅱ型原因遺伝子  $\alpha$ -L-iduronate-2-sulfatase の pseudodeficiency allele (P284L) を発見し、更に献上成人男性対象では別の遺伝子変異 P260H を持つ pseudodeficiency allele を発見。この 2 つの変異はともにエクソン 6 に存在し、酵素蛋白の表面部で活性中心からかなり離れたところの構造にわずかな変化起こっていることが分かった。遠藤らのろ紙血ファブリー病スクリーニングでは約 307,000 名中 71 名の酵素活性の異常低値者が明らかになった。その中で古典型ファブリー病に認

められる変異は、4名の男児と1名の女児に認められた。また、ファブリー病を発症しうると考えられる変異は18名の男児に認められた。坪井らはファブリー病臨床情報を調査し、男性28名、女性30名、発症平均年齢は男性11.7歳、女性17.5歳、発汗障害、被角血管腫、消化器症状で男性が女性を大幅に上回り、疼痛、耳鳴りでは男性がやや多く、角膜混濁、うつ、難聴はほぼ同数であった。今回の解析は日本人ファブリー病への酵素補充の安全性、有効性、適応や開始時期の検討に必要な基礎データになると考えられ、全国的な疫学調査に応用するとしている。鈴木らはハンター症候群46名の成長曲線を作成し、出生時から1歳までは過成長、5歳を境に逆に成長が抑制されることが判明し、従来指摘されていた幼児期の過成長とその後の成長抑制、肥満傾向が裏付けられた。この成果は今後造血幹細胞移植や酵素補充療法の効果判定の一助となりうる。芳野らはハンター症候群に対する長期の酵素補充療法効果を観察、兄弟例で各症状を比較検討し、9歳で導入した兄は4歳で導入した弟に比べ心室中隔肥厚において効果の限界がみられ、また両者とも中枢への効果は得られなかった。臓器組織ごとの細胞膜受容体や臓器の血流の多寡が治療効果に関与し、また開始が若いほど効果的と考察している。高柳らの調査では平日に限定された病院での酵素補充により職場、学校、訓練施設などに影響が出ていたためコンプライアンスに問題が見られた症例が多く酵素補充は在宅や週末・平日夕方からの病院施設利用可能な体制作りがコンプライアンスを高めるうえで重要と考えられた。鈴木康之らの調査によると2005年以降ALDに対する造血幹細胞移植の成績(生存率、有効性)は向上していると考えられた。加藤俊一らの調査では1989~2008年の間に19例のムコ多糖症1型(MPS-IH; Hurler病、MPS-HS; Hurler-Scheie病)において26回の造血細胞移植が実施され病型はMPS-IHが15例、MPS-HSが4例であった。移植時の年齢中央値はMPS-IHで2歳9か月、MPS-HSで2歳

5か月であった。生着率は移植細胞源で骨髄の92%に対し臍帯血は50%と低かったが( $P=0.057$ )、病型別、ドナー別、HLA適合別での差は認められなかった。総合的な評価では、主治医はMPS-IHでは長期生存例7例中6例で著効もしくは有効、MPS-HSでは3例中3例で著効と回答している。

## (II) 病態解析

松田らは化学合成サポシンがセレザイムに対して活性化作用および安定化作用を持つことを明らかにした。またプロサポシン欠損マウス胚の解析では胎齢7.5日の異常で致死的になること、野生型マウス胚でプロサポシン、サポシンは胎齢7.5-9.5日に高発現し、その発現部位は脱落膜、栄養芽細胞層、臓側卵黄層であることが判明した。今中らはABCD1欠損マウス由来のアストロサイトにおいてもALDに認められる生化学的特徴が認められたことを示した。またABCD4は小胞体膜に存在し膜上でホモダイマーを含む複合体を形成していることが示唆された。下澤らは平成23年の1年間の国内診断実績として、Zellweger症候群5例、副腎白質ジストロフィー(ALD)のうち、小児大脳型7例、成人大脳型2例、AMN1例、女性保因者12例、発症前患者2例を診断した。このうち小児大脳型ALDについては、唯一の治療法が発症早期の造血幹細胞移植であることより、LC/MS/MSを用いた極長鎖脂肪酸分析と遺伝子解析による迅速診断を稼動し、いずれも数日から一週間以内に結果を提供して早期治療に繋げている。また代謝機能全般についてはiPS細胞を樹立し神経系への分化誘導も含めて研究している。櫻庭らはin silicoでの構造解析の結果、E66Qのアミノ酸置換に基づき、GLA活性部位から離れた分子表面領域に小さな構造変化が起こると予測したが、残存酵素活性や病理検討などからE66Qは機能的亜型と結論した。酒井らは正常細胞から塩化アンモニウム処理によりライソゾーム酵素の抽出法を用いて、ムコリピドーシス疾患細胞に処理することにより、基質蓄積、pH変化、オートファ

ジー、エンドサイトーシス、病理などの病態が著明に改善することを確認した。高橋らはニーマンピック病 C 型にて蓄積する遊離コレステロールに関してライソゾーム水解酵素である ASM が、エンドゾーム内の輸送調節をしている可能性を示した。大澤らの調査では異なる治療反応性を示す Pompe 病患者の骨格筋 CT、脂肪抑制 MRI の変化は臨床効果をよく反映し、治療効果判定に有用とされた。辻らによるとファブリー病原因電子の  $\alpha$  ガラクトシダーゼ A 遺伝子について E66Q 変異が PD 群でやや高い傾向を認めた。また ALD の臨床病型を修飾する遺伝要因検索では日本人の ALD 患者において明らかな表現型との関連は認めなかった。衛藤らはポンペ病由来の iPS 細胞から骨格筋細胞への分化に成功し、グリコーゲン蓄積を確認し得た。

### (Ⅲ) 早期診断法・新規治療法の開発

北川らは GSD II スクリーニングで免疫捕捉法、競合阻害法いずれの方法を用いても GSD II 患者群の LGAA 活性は、対象新生児の正常群に比較して明らかに低値を示すのが認められたので、GSD II の新生児スクリーニングの一次検査には、手技が簡便で大量検体の処理が可能な免疫捕捉法を用い、陽性であった場合に、競合阻害法で確認検査を行うのが良いと思われた。島田らは MLD に対する遺伝子治療法の可能性を検討し 9 型の AAV ベクターを、未発症の 6 週齢の若い MLD マウスと、既に神経症状が出現している 12 ヶ月齢の MLD マウスの後頭蓋窩から注入した。14-15 ヶ月時点での解析では、小脳や脳幹部を中心に広範囲な脳組織での遺伝子導入と遺伝子発現が確認され ASA の発現に伴い、蓄積していたスルファチドは減少、運動機能については、6 週齢に治療したマウスではコントロールと比較して著明な改善が見られたが、12 ヶ月齢に治療したマウスでは改善は認められなかった。この結果は、神経症状の治療には早期の ASA の補充が必要であることを示唆している。小林らは新生児クラッペ病、ムコ多

糖症のモデルマウスに対するレンチウイルスによる遺伝子治療を試み、前者では寿命の延長、蓄積物質サイコシンの減少をみたが、劇的な生命予後、病理像の改善は得られず、後者では蓄積物質であるグリコサミノグリカンの減少、DNA コピーナンバーの長期発現が特に中枢系にも確認された。鈴木らの調査では GM1-ガングリオシドーシスのモデルマウスに経口シャペロン薬 NOEV を投与した結果、NOEV は経口摂取後速やかに腸管から吸収され、血液に入り、尿に排泄され、また血液脳関門を通過し脳組織に入り、シャペロン効果により  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性を上昇させた。組織内濃度上昇は一過性であり、長期の投与後も蓄積傾向はなく、このシャペロン化合物が薬剤として開発可能であるという結論が得られた。難波らは  $\beta$ -ガラクトシダーゼ欠損症患者 1 検体について Y333C/Y333C 変異を同定し、またこの患者由来の皮膚線維芽細胞に対するケミカルシャペロン化合物 NOEV (N-octyl-4-epi- $\beta$ -valienamine) の検討を行い、有意なシャペロン効果を認めた。大野らは 加藤らはゴーシェ病 3 型患者 1 名に対し、アンブロキソールによるケミカルシャペロン療法を行った結果、投与を 22 カ月間継続し、長期大量投与に伴う有害事象を認めず、リンパ球酵素活性は正常範囲となり、ABX の髄液移行も確認した。治療後の聴性脳幹反応で中枢伝導速度と閾値の改善が見られ、中枢神経系への効果が示唆された。横山らによると Zellweger 症候群患者由来線維芽細胞に含まれる極長鎖脂肪酸含有脂質の構造を解析したところ、従来の指標である C26;0 以外の多数の極長鎖脂肪酸の存在が確認され臨床指標について再検討の余地があるものと考えられた。加我らによると未発症 ALD の早期診断に、神経心理学的検査における言語性 IQ と動作性 IQ の乖離と神経生理学的検査における VEP ならびに P300 における P1 振幅高値は有用であると思われた。また 加藤剛二らによると ALD 3 例に対して骨髄非破壊的前処置にて造血細胞移植を施行した結果、さい帯血移植でも骨髄移植と同様に生着

生存が得られ、緊急的移植が必要な本疾患に対して有望と考えられた。矢部らによると静注用ブスルファンを用いたライソゾーム病の移植前処置の検討の結果、全例で生着が確認され、9～59ヶ月を経て生存中である。静注用 Bu 製剤を用いたムコ多糖症に対する移植前処置として、reversed CY-Bu regimen は安全かつ有効に行える可能性が示された。

#### (IV) 国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムの開催

臨床遺伝子治療体制の整備に向けて、政府・企業関係者、研究者を交えた総合的な研究会として第二回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムが2012年1月19日に東京都港区芝・女性就業支援センターで開催された。

#### D. 総合的考察

酵素補充療法が保険適応となり、シャペロン療法や遺伝子治療の治験も少しずつ開始されている

現在、基礎研究の重要性もますます強まっている。今後も継続的な研究推進の努力が必要とされる。

#### E. 結 論

今回もライソゾーム病の予後、QOLの改善を目指して様々な研究が行われ、それぞれ成果を上げているが、今後もこれらを基により効果的な診断・治療法、予後改善対策などの成果に向けて更なる精力的な調査研究が必要である。

#### F. 健康保険情報

なし

#### G. 研究発表

各分担研究者報告を参照のこと

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

厚生労働省 難治性疾患克服研究事業  
ライソゾーム病（ファブリー病含む）に関する調査研究会議

日 時：平成 23 年 9 月 28 日(水)10 時～  
場 所：東京慈恵会医科大学 大学 1 号館 3 階講堂

総合司会：小林 博司

10 : 00

班長挨拶 衛藤 義勝(東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座)

10 : 10 ~12 : 00

ALD・ペルオキシゾーム病研究

挨拶 下澤 伸行(岐阜大学生命科学総合研究支援センター)

10 : 20

I. 実態調査

座長：鈴木 康之

- 1) 静注用ブスルファンを用いたライソゾーム病の移植前処置の検討  
：矢部普正、矢部みはる、加藤俊一(東海大学細胞移植再生医療科)  
高倉広充、小池隆志、大坪慶輔、清水崇史、森本 克(同 小児科)
- 2) 副腎白質ジストロフィーの移植効果に関する検討：中間報告  
：鈴木康之(岐阜大学医学教育開発研究センター)  
下澤伸行(岐阜大学生命科学総合研究支援センター)  
小関道夫(岐阜大学小児病態学)  
加藤俊一、矢部普正(東海大学再生医療科学)  
加藤剛二(名古屋第一赤十字病院小児血液腫瘍科)  
加我牧子(国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所)  
辻 省次(東京大学神経内科)
- 3) 当科で造血細胞移植を施行した ALD 症例の臨床経過  
：加藤剛二(名古屋第一赤十字病院 小児医療センター血液腫瘍科)
- 4) 小児副腎白質ジストロフィー症の高次脳機能評価について  
：加我牧子、稲垣真澄、軍司敦子、崎原ことえ、小久保奈緒美  
(国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所)  
中村雅子(国際医療福祉大学三田病院)



11:00

座長：下澤 伸行

- 5) 副腎白質ジストロフィーの診断実績と病態解明への取組み  
：下澤伸行(岐阜大学生命科学総合研究支援センター)
- 6) ALD モデルマウス由来アストロサイトにおける極長鎖脂肪酸代謝異常と遺伝子発現解析  
：今中常雄、守田雅志(富山大学大学院・医学薬学研究部)
- 7) ペルオキシソーム病患者細胞の極長鎖脂肪酸含有リン脂質の分子構造解析  
：横山和明(帝京大学薬学部)

11:30

座長：島田 隆

- 8) レンチウイルスベクターシステムを用いたライソゾーム疾患の遺伝子治療  
：小林博司、有賀賢典(東京慈恵会医科大学小児科・DNA 医学研究所遺伝子治療研究部)
- 9) ライソゾーム病の遺伝子治療  
：島田 隆(日本医科大学生化学・分子生物学講座)
- 10) Adrenoleukodystrophy の臨床病型を修飾する遺伝的要因の探索  
：松川敬志、三井 純、石浦浩之、高橋祐二、後藤 順、辻 省次  
(東京大学医学部附属病院神経内科)

**☆☆ 休憩 (60分) : 外来 B 棟 6 階セミナーA・B ☆☆**

13:00

ご挨拶 山本 尚子(厚生労働省健康局疾病課 課長)

13:10

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財務部研究支援課)

13:30~15:00 ライソゾーム病研究・前半

13:30

座長：大澤真木子

- 11) ファブリー病自験例 58 症例の臨床的検討  
：坪井一哉(名古屋セントラル病院)  
鈴木貞夫(名古屋市立大学 公衆衛生学)

12) 小児型 Pompe 病における骨格筋画像の有用性について

: 石垣景子、斉藤崇、佐藤孝俊、尾内幸子、  
村上てるみ、大澤真木子  
(東京女子医科大学小児科)

13) パーキンソン病感受性遺伝子探索 ～ライソゾーム病関連遺伝子からのアプローチ～

: 三井 純、辻 省次(東京大学医学部附属病院神経内科)

14 : 00

座長 : 櫻庭 均

14) ゴーシェ病患者における血中グルコシルスフィンゴシンの解析

: 兎川忠靖、櫻庭 均(明治薬科大学 分析化学)

15) グルコシルセラミド- $\beta$ -グルコシダーゼ活性に対する化学合成サポシン C の影響

: 松田純子(東海大学未来科学技術共同研究センター)

16) ライソゾーム病における iPS 細胞の作製とその応用

: 衛藤義勝(東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座)

14 : 30

座長 : 大野 耕策

17) ベータガラクトシダーゼ欠損症に対する新規シャペロン化合物の探索

: 難波栄二(鳥取大学生命機能研究支援センター)

18) ケミカルシャペロン療法

: 鈴木義之、一ノ宮悟史(国際医療福祉大学)

19) ゴーシェ病に対するケミカルシャペロン療法

: 大野耕策、成田 綾、戸川雅美(鳥取大学医学部脳神経小児科学)

★ ☆ 休 憩 (20 分) ☆ ★

15 : 20~16 : 50 ライソゾーム病研究・後半

15 : 20

座長 : 奥山 虎之

20) ムコ多糖症Ⅱ型の酵素補充療法の効果の長期観察

: 芳野 信、渡辺順子、岡田純一郎、高瀬隆太  
(久留米大学医学部小児科学)

21) ムコ多糖症 I 型に対する酵素補充療法の長期間投与による治療効果の検討  
：奥山虎之、小須賀基通(国立成育医療研究センター臨床検査部)

22) ムコ多糖症 II 型の酵素補充療法：抗イズルスルファーゼ抗体の産生と効果について  
：澤田 智、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)

15 : 50

座長：高柳 正樹

23) 酵素補充療法におけるコンプライアンスについて  
：高柳正樹(千葉県こども病院小児救急総合診療科)

24) ムコリポドーシス II 型の病態解明と酵素補充療法について  
：酒井則夫、大友孝信(大阪大学大学院医学研究科内科系臨床医学専攻)

25) イソフラボンによるムコ多糖症の治療研究  
：鈴木康之(岐阜大学医学教育開発研究センター)  
田中あけみ(大阪市立大学小児科)  
奥山虎之(国立成育医療センター)  
折居忠夫(折居クリニック)

26) 先天代謝異常症における造血細胞移植  
：加藤俊一、矢部普正(東海大学細胞移植再生医療科)

16 : 30

座長：遠藤 文夫

27) ニーマンピック病における脂質輸送に関する研究  
：平山雅士、高橋 勉(秋田大学大学院医学系研究科 小児科学講座)

28) ライソゾーム病(LSD)スクリーニング検査法に関する研究  
：北川照男、鈴木 健、石毛信之、藤川研人( (財)東京都予防医学協会)  
大和田 操(女子栄養大学大学院 小児栄養学)  
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)

29) ろ紙血を用いたファブリー病のスクリーニング  
：遠藤文夫、中村公俊(熊本大学医学部附属病院小児科)

17 : 00

座長：衛藤 義勝

**アデノウィルスベクターの御紹介**

：斎藤 泉(東京大学医科学研究所遺伝子解析施設 教授)

17 : 10~17 : 40

座長：衛藤 義勝

Niemann-Pick 病の酵素補充療法

: Pro. Robert Desnick (Mount Sinai Medical Center, USA)

厚生労働省 難治性疾患克服研究事業  
ライソゾーム病(ファブリー病含む)に関する調査研究班会議

日 時：平成 23 年 9 月 30 日(金)17 時～

場 所：東京慈恵会医科大学 大学 1 号館 3 階講堂

司会：衛藤 義勝

17 : 00~18 : 00

平成 24 年度の研究の方向性に関して