

分担研究報告書

I. 病像把握のための実態調査

ポンペ病マススクリーニングシステムの開発

分担研究者：奥山 虎之(国立成育医療研究センター臨床検査部)

研究要旨

酵素補充療法の実用化により、ポンペ病の早期発見・早期治療の重要性が認識され、新生児マススクリーニングが注目されている。我々は血液ろ紙検体を使った簡便かつ迅速なポンペ病スクリーニング法を開発し、患者、pseudodeficiency および健康対照者を分けることが可能であること報告した。この結果を踏まえて、2011年1月より国立成育医療研究センターで本スクリーニング法を用いて、ポンペ病新生児マス・スクリーニングのパイロットスタディを開始した。その結果、361名が対象となり、一次スクリーニング陽性となったのは15例であり、そのうち14例はpseudodeficiencyであった(対象者の3.8%)。1例はリンパ球でのGAA活性測定とGAA遺伝子検査を行ったが乳児型ポンペ病は否定された。本パイロットスタディにおけるポンペ病新生児スクリーニング検査の特異度は95.8%であった。

A. 研究目的

ポンペ病は、グリコーゲン分解酵素である酸性 α グルコシダーゼ(GAA)の欠損により骨格筋、呼吸筋、心筋などにグリコーゲンが過剰蓄積を生じる先天代謝異常症である。最重症型である乳児型ポンペ病は、生後早期に心不全、呼吸不全を呈して死に至る。乳児型ポンペ病に対して、早期に酵素補充療法を開始することにより、治療が可能となりポンペ病の早期発見・早期治療の重要性が認識されている。

日本を含むアジア地域には、p.G576S 多型を有し、GAA活性が正常コントロールの10-15%程度であるが、臨床症状を呈しないと考えられる、“Pseudodeficiency”が多く見られ、ポンペ病マス・スクリーニングの実施を困難にしている。我々は、日本における遅発型も含む全てのポンペ病患者群と“pseudodeficiency”と正常コントロール群を対象とするスクリーニング法を開発した。その結果、ポンペ病症例は見逃すことなく、すべて陽性と判定可能であっただけではなく、pseudodeficiency 15症例中1例と保因者5症例中1例と偽陽性例を減

らすことが可能であった。この結果を踏まえて2011年より国立成育医療研究センターで出生した新生児を対象として、ポンペ病新生児マス・スクリーニングのパイロットスタディを行った。

B. 研究方法

2011年1月から2011年5月まで国立成育医療研究センターで、在胎週数35週以上かつ出生体重2000g以上で出生した新生児の中で、保護者から本検査の同意を得られた新生児を対象とした。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、本検査用のろ紙微量血液検体も採取し、1)GAA活性値(基準値に対する%)、2)阻害%(阻害物質の存在下、非存在下での活性値の比)、3)Ph活性比(酵素反応条件による活性値の比)を蛍光合成基質を用いて測定した。GAA活性値が正常新生児基準値の30%以下の場合をスクリーニング陽性と判断し、pseudodeficiencyの鑑別のために1726G>A(G576S)の遺伝子多型解析を行った。

C. 研究結果

対象者となったのは 361 名であり、そのうち 15 名が一次スクリーニング陽性と診断された。これらの陽性例の 1726G>A(G576S)の GAA 遺伝子多型解析を行った結果、14 例は pseudodeficiency に矛盾しないホモ接合体であった(対象者の 3.9%)。1 例はヘテロ接合体であったため、リンパ球での GAA 活性測定、GAA 遺伝子検査を行ったところ、GAA 活性値は 15%で、GAA 遺伝子変異は認められなかった。スクリーニング陽性群の解析結果の平均値は、1)GAA 活性値 $20.1 \pm 3.6\%$ 、2)阻害% $57.9 \pm 8.9\%$ 、3)pH 活性比 26.4 ± 6.3 であった。スクリーニング陰性群では、1)GAA 活性 $103.5 \pm 39.5\%$ 、2)阻害% $35.7 \pm 6.4\%$ 、3)pH 活性比 5.4 ± 2.5 であった。GAA 活性値が 8%以下、阻害%60%以上、pH 活性比 30 倍以上を呈する症例はなかった。

D. 考 察

今回のパイロットスタディでは、一次スクリーニングで陽性と判定された 15 例のうち 14 例が pseudodeficiency であった。pseudodeficiency の頻度は 3.9%であり、既知の報告と同じ頻度であった。また 1 例は、多型解析により pseudodeficiency が否定され、二次スクリーニングであるリンパ球 GAA 活性測定、GAA 遺伝子検査を行ったが、異常は認められなかったため、正常と判断した。新生児型ポンペ病患者が疑われる症例は認めなかった。この結果、本ポンペ病新生児スクリーニングの特異度は 95.8%であった。今後、検査対象例の結果を蓄積し、ある程度症例数が増えたところで本検査のカットオフ基準値が適正であるかどうかについて、レトロスペクティブに検討していく必要があると考える。

E. 結 論

361 名が対象となった今回のパイロットスタディでは一次スクリーニング陽性例は 15 例であり、14 例は pseudodeficiency であった。1 例は擬

陽性であった。新生児型ポンペ病患者が疑われる症例はなかった。特異度は 95.8%であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Oda E, Tanaka T, Migita O, et al : Newborn screening for Pompe disease in Japan. Mol Genet Metab.104 : 560-565, 2011
- 2) Furujo M, Kubo T, Kosuga M, et al : Enzyme replacement therapy attenuates disease progression in two Japanese siblings with mucopolysaccharidosis type VI. Mol Genet Metab. 104 : 597-602, 2011
- 3) Shigeto S, Katafuchi T, Okada Y, et al : Improved assay for differential diagnosis between Pompe disease and acid α -glucosidase pseudodeficiency on dried blood spots. Mol Genet Metab. 103 : 12-17, 2011

2. 学会発表

- 1) Kosuga M, Oda E, Tanaka T, Kida K, Okuyama T : The Feasibility of Newborn Screening for Pompe Disease in Japanese Population. The 7th Congress of Asian Society for Pediatric Research Hosted with the pediatric Academic Societies' Annual meeting. Denver, USA. 2011.4.30
- 2) 小須賀基通, 木田和宏, 藤 直子, 小田絵里, 奥山虎之: 乳児型ポンペ病新生児スクリーニングのパイロットスタディ. 第 53 回日本先天代謝異常学会・第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム, 千葉, 2011.11.26
- 3) 小須賀基通, 木田和宏, 藤直子, 小田絵里, 奥山虎之: 国立成育医療研究センターにおける新生児型ポンペ病マススクリーニングパイロットスタディの結果報告. 第 38 回日本マス・スクリーニング学会, 福井, 2011.10.29

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

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

分担研究者：田中あけみ(大阪市立大学大学院医学研究科・准教授)

研究要旨

酵素補充療法が可能になったライソゾーム病のうちムコ多糖症 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。この中で、ムコ多糖症 II 型原因遺伝子 α -L-iduronate-2-sulfatase の pseudodeficiency allele (P284L) を発見した。さらに、健常成人男性ボランティアを対象に α -L-iduronate-2-sulfatase 活性のスクリーニングを行ったところ、別の遺伝子変異 P260H を持つ pseudodeficiency allele が見つかった。この 2 つの pseudodeficiency allele の遺伝子変異はともにエクソン 6 に存在し、変異酵素蛋白の 3 次元構造モデルの解析から、ともに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っていることが分かった。

研究協力者

澤田 智(大阪市立大学大学院医学研究科発達小
児医学・講師)

坂口知子(大阪市立大学大学院医学研究科発達小
児医学・技術職員)

斉藤三佳(大阪市立大学大学院医学研究科・講師)

鈴木 健(東京都予防医学研究所)

北川照夫(東京都予防医学研究所)

奥山虎之(国立成育医療研究センター・部長)

桜庭 均(明治薬科大学・教授)

A. 研究目的

ライソゾーム病のスクリーニングパイロットスタディの中で、ムコ多糖症 II 型の pseudodeficiency allele が見つかった。さらに健常成人男性のボランティアの中からもこれと異なる pseudodeficiency allele が見つけられた。確認された遺伝子変異に病的意義が無いことを証明するため、コンピューター処理による変異を持つ酵素蛋白の構造モデルを作成し解析を行った。

B. 研究方法

1) 対象

大阪市立大学医学部附属病院にて出生した新生児を対象とし、新生児スクリーニングを行った。対象疾患は、ムコ多糖症 I 型、II 型、および糖原病 II 型の 3 疾患とした。

健常成人男性のボランティアに対し、 α -L-iduronate-2-sulfatase 酵素活性のスクリーニングを行った。

2) 検体採取と検査結果報告の方法

書面にて保護者の同意が得られた新生児について濾紙血を採取した。濾紙は連結可能な匿名化を行い、血液付着部分のみを切り離して東京都予防医学協会に郵送した。ここで 3 疾患のスクリーニングが行われ、結果は大阪市立大学にメールで送られた。陽性者には電話にて連絡し、代謝専門外来を受診させて再検検体を採取した。ムコ多糖症 II 型の欠損酵素 α -L-iduronate-2-sulfatase の活性低下が認められた新生児については、同意を

得たうえで遺伝子検査を行った。

大阪市立大学倫理委員会の承認を得て、健康成人男性のボランティアに対し、ムコ多糖症Ⅱ型の病因である α -L-iduronate-2-sulfatase 活性のスクリーニングを行った。酵素活性の低下を認められた人には来院を依頼し、同意を得たうえで遺伝子検査を行った。

3) 測定方法と再検方法

ムコ多糖症Ⅰ型は Chamoles の方法、ムコ多糖症Ⅱ型は抗体を用いた免疫捕捉法、糖原病Ⅱ型は Chamoles の方法と抗体を用いた免疫捕捉法の両方を用いた。再検査には、末梢血リンパ球を用いた 4-MU 基質を用いた通常の方法で酵素活性を測定した。

遺伝子解析は、各エクソンを PCR にて増幅し、ダイレクトシーケンスを行った。

α -L-iduronate-2-sulfatase 酵素の分子構造解析は以下の方法で行った。初めに *Rhizobium leguminosarum* のスルファターゼと *E. coli* のアрилスルファターゼの結晶構造をテンプレートとして、分子モデル作成ソフト MODELLER を用いてヒト α -L-iduronate-2-sulfatase 酵素の分子モデルを構築した。次に、この分子モデル上に、分子モデル作成ソフト TINKER を用いて変異を持つ α -L-iduronate-2-sulfatase 酵素の分子モデルを構築した。

C. 研究結果

ムコ多糖症Ⅱ型スクリーニングにおいて、2 名に α -L-iduronate-2-sulfatase 活性の低下が認められ、男児の 275 人に 1 名の頻度であった。この 2 名に血縁関係はなかった。2 名について α -L-iduronate-2-sulfatase の遺伝子解析を行ったところ、同じ塩基変異 P284L が認められた。さらに 2 名の家系内検索を行ったところ、家系内に、同じ遺伝子変異を持ち酵素活性の低下を認める健康な成人男性が複数見つかった。また、発端となった 2 名の乳児について尿中ムコ多糖分析も行ったが、異常なムコ多糖代謝産物は認められなかった。

これらのことから、P284L 変異は pseudodeficiency であると考えられた。

健康成人男性のスクリーニングにおいては、139 人の中で 1 名に酵素活性低下が認められた。遺伝子解析の結果、上記のものとは異なる遺伝子変異 P260H が見つかった。

この 2 つの遺伝子変異はともにエクソン 6 に存在した。コンピューターによる分子モデル構築の結果、この 2 つの遺伝子変異によるアミノ酸置換はどちらも酵素蛋白の表面に位置し且つ酵素の活性中心からかなり離れた位置であり、蛋白全体の立体構造を大きく変化させるものではなかった。この結果は、pseudodeficiency allele として矛盾しないものであった。

D. 考 察

ライソゾーム病の新生児スクリーニングは、酵素補充療法以前より世界で散発的に行われていたが、酵素補充療法をはじめとする治療の効果が示されるようになってからは、一層研究が盛んになってきた。

ライソゾーム酵素に限らず、多くの生体内の酵素は、同じ酵素であっても活性に「個人差」があって当然である。酵素活性の個人差は、病的な代謝を来たして病気を発症するものもあれば、何ら異常をもたらさないものもある。後者は、偶然に pseudodeficiency として発見される。頻度が多ければ、polymorphism となる。糖原病Ⅱ型の G576S はその例であると言える。

今回、酵素活性による疾患スクリーニングのなかで、偶然に pseudodeficiency allele が発見され、生化学的、分子生物学的解析より pseudodeficiency allele と結論付けることができた。ゲノム解析が容易になるにつれ、今後このような allele が見つかる機会はさらに多くなると考えられる。病的であるともないとも説明しがたい事象も見つかることも想像される。このようなことを踏まえつつ、新生児スクリーニングおよび遺伝カウンセリング体制についての準備が必要であろう。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 田中あけみ, 鈴木 健, 奥山虎之, 藤川研人, 坂口知子, 小田絵里, 藤 直子, 斎藤三佳, 澤田 智, 北川照男: ライソゾーム病のマス・スクリーニングとこれに関わる遺伝カウンセリング. 日本マス・スクリーニング学会誌 21 : 15-19, 2011
- 2) 藤川研人, 鈴木 健, 穴澤 昭, 大橋十也, 衛藤義勝, 大和田 操, 北川照男: 乾燥濾紙血を用いた糖原病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. 日本マス・スクリーニング学会誌 21 : 233-241, 2011

2. 学会発表

- 1) Sawada T, Tanaka A, Suzuki K, Okuyama T : A possible pseudodeficiency allele of

iduronate 2-sulfatase gene in Japanese population. Satellite Symposium of Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases 2011 in Tokyo

- 2) 澤田 智, 田中あけみ, 鈴木 健, 奥山虎之, 藤井研人, 坂口知子, 小田絵里, 藤 直子, 斎藤三佳, 北川照男: 新生児スクリーニングにおいて発見された iduronate-2-sulfatase 遺伝子の pseudodeficiency allele. 第 53 回日本先天代謝異常学会(千葉)

H 知的財産権の出願・登録状況

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 医学薬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。

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、ライ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、新生児と、心不全、腎不全、脳梗塞などのファブリー病を疑われる臨床症状を呈するハイリスク患者において、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て、心不全、腎不全、脳梗塞などのファブリー病を疑われる臨床症状を呈する成人のファブリー病ハイリスク者の酵素活性の測定を行った。

(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

熊本県ならびに協力自治体において、現行の新生児マススクリーニングに加えて、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。本研究では約 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。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。これらのことから、ファブリー病のわが国における頻度は、男性の約8,000名に1名、古典型ファブリー病の頻度は、男性の約38,000名に1名であると推定された。

また、ファブリー病で見られる症状である腎不全、心不全、脳血管障害、四肢の痛みなどを持つ、ファブリー病のハイリスク者約8,400名の α ガラクトシダーゼ酵素活性を測定した。47名にファブリー病を発症しうるとする遺伝子変異を認め、12名に古典型の遺伝子変異を認めた。また、ハイリスク者の解析では、腎不全患者、心不全患者、脳血管障害患者におけるファブリー病の頻度は、それぞれ約360人に1人、120人に1人、190人に1人であった。

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) Nakamura K, Hattori K, Endo F : Newborn Screening for lysosomal disorders. *Am J Med Genet.* 157, 63-71, 2011
- 2) Shigeto S, Katafuchi T, Okada Y, Nakamura K, Endo F, Okuyama T, Takeuchi H, Kroos MA, Verheijen FW, Reuser AJJ, Okumiya T : Improved assay for differential diagnosis between Pompe disease and acid alpha-glucosidase pseudodeficiency on dried blood spots. *Mol. Genet. Metab.* 103, 12-17, 2011
- 3) Mochida T, Tanaka T, Shiraki Y, Tajiri H, Matsumoto S, Shimbo K, Ando T, Nakamura K, Okamoto M, Endo F : Time-dependent changes in the plasma amino acid concentration in diabetes mellitus. *Mol Genet Metab.* 103, 406-409, 2011
- 4) Kido J, Nakamura K, Mitsubuchi H, Ohura T, Takayanagi M, Matsuo M, Yoshino M, Shigematsu Y, Yorifuji T, Kasahara M, Horikawa R, Endo F : Long-term outcome and intervention of urea cycle disorders in Japan. *J. Inher. Metab. Dis.* 2011 in press

ファブリー病自験例 58 症例の臨床的検討

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

ファブリー病はリソソーム水解酵素の 1 つである α -galactosidase 活性が正常値より不足あるいは欠損しているため、全身の血管壁、血管内皮系細胞、一部の神経系など多くの組織や体液中に globotriaosylceramide (GL-3) などの糖脂質が蓄積する糖脂質代謝異常症である。酵素補充療法は 2001 年には欧州で、2003 年には米国で承認され発売が開始された。本邦では 2004 年に承認・販売された。現在(2011 年 12 月)、本邦では推定で約 400 名の方が酵素補充療法を受けている。

本研究の目的は、ファブリー病患者における臨床所見の評価を行い、現時点での実態を把握することである。調査方法は、名古屋セントラル病院を受診されたファブリー病患者 58 名を対象とし、当院受診時より現在に至るまでを観察期間とし、既存の電子カルテから情報を収集した。調査項目は、性別、年齢分布などの基本属性に加え、発症時年齢分布、酵素活性、臨床所見などの調査項目を集計・解析した。このことは、現在行われている酵素補充療法の安全性や有効性、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。さらに、今後、本邦における全国規模のファブリー病のデータベースの構築も検討中である。

研究協力者

鈴木 貞夫(名古屋市立大学大学院医学研究科
公衆衛生学分野)

A. 目的

ファブリー病はリソソーム水解酵素の 1 つである α -galactosidase 活性が正常値より不足あるいは欠損しているため、全身の血管壁、血管内皮系細胞、一部の神経系など多くの組織や体液中に globotriaosylceramide (GL-3) などの糖脂質が蓄積する糖脂質代謝異常症である。遺伝子座は X 染色体(Xq21.33-q22)で、遺伝形式は X 連鎖劣性遺伝である。ヘミ接合体の男性では四肢疼痛、被角血管腫、低汗症、角膜混濁、心・腎および脳血管障害などが出現し、ヘテロ接合体の女性では無症状のものから重症のものまで多様である。本疾患

の推定発症率は、欧米男性において、およそ 4 万人に 1 人と報告されている。

酵素補充療法は 1998 年に米国で遺伝子組換えヒト α -galactosidase の第 1/2 相臨床試験が開始され、翌年には欧米で第 3 相臨床試験が開始となった。その後、2001 年には欧州で、2003 年には米国で承認され発売が開始された。本邦では 1999 年に希少疾病用医薬品の指定を受け、2000 年に臨床試験が開始され、2004 年 1 月に承認、4 月に販売された。現在(2011 年 12 月)、本邦では推定で約 400 名の方が酵素補充療法を受けている。

本研究の目的は、ファブリー病患者における臨床所見の評価を行い、現時点での実態を把握することである。このことは、現在行われている酵素補充療法の有効性、古典型、ヘテロ型などなど各種の病態における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。

B. 研究方法

1) 対象

名古屋セントラル病院を受診されたファブリー病患者 58 名を対象とした。

2) 方法

調査は、当院受診時より現在に至るまでを観察期間とし、既存のカルテから情報を収集した。調査項目は、性別、年齢分布などの基本属性に加え、発症時年齢分布、酵素活性、臨床所見などの調査項目を集計・解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、「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」、文部科学省 厚生労働省の「疫学倫理指針(平成 16 年 12 月 28 日改訂)」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。個人名および現住所は解析対象項目に含めていない。また、集計においても個人が特定できるような情報は使用していない。

C. 研究結果

名古屋セントラル病院を受診されたファブリー病患者 58 名について解析を行った。性別では、男性 28 名、女性 30 名であり、古典型 27 名、亜型 1 名、ヘテロ型 30 名であった。濾紙血法による α -galactosidase の酵素活性の結果は、男性 4.5 ± 6.1 Agal U (cut off 17.0 Agal U 未満)、女性 14.7 ± 7.7 Agal U (cut off 20.0 Agal U 未満)であった。年齢階級分布では男性は、30 歳代から 40 歳代に分布し、女性は、40 歳代から 50 歳代に多く分布していた。平均年齢は、古典型 30.9 ± 10.7 歳 (mean \pm SD)、ヘテロ型 50.5 ± 14.7 歳 (mean \pm SD) であった。発症年齢は、男性 11.7 ± 12.0 歳 (mean \pm SD)、女性 17.5 ± 14.7 歳 (mean \pm SD) であり、共に 20 歳未満で発症していたが、診断時年齢に関しては、男性 24.8 ± 14.4 歳 (mean \pm SD)、

女性 40.0 ± 17.7 歳 (mean \pm SD) であり、明らかに女性の方が確定診断に至るまでに多くの時間を要した。

臨床所見として 発汗障害は、男性約 80%、女性約 10%、被角血管腫は、男性約 60%、女性約 10%、角膜混濁は、男女ともに約 80%であった。疼痛は、男性約 90%、女性約 40%、うつ症状は、男女ともに約 20%、消化器症状は、男性約 50%、女性約 10%であった。耳鳴りは、男性約 60%、女性約 30%、難聴は、男女ともに約 40%であった。

D. 考察

ファブリー病に対する酵素補充療法は 1999 年に希少疾病用医薬品の指定を受け、2000 年に臨床試験が開始され、2004 年 4 月に承認、販売された。現在(2010 年 12 月)、本邦では 400 名以上の方が酵素補充療法を受けている一方、現在も診断に至っていない症例も多いと考えられている。腎不全患者 23 万人の約 0.3-0.5%がファブリー病であるとの報告や、左室肥大の患者においては、1-3%にファブリー病が認められると報告されており、実際の患者数は約 1000 人以上と推定されている。

古典型の男性においては社会で最も大きく活躍する 30 歳代で腎不全となり、40 歳代で心不全となることの多い疾患であるため、有効な治療法を開発することは、社会的にも重要なことと考えられる。現在、本疾患に対する酵素補充療法が開発され、その治療によって予後が改善されることが期待されている。しかし、疾患発症の頻度が稀であるとともに、早期においては特有の症状が乏しいために診断が遅れ、しばしば不可逆性の腎障害や心機能障害を呈してから診断されている。本症の早期診断法を開発することは予後を改善する上で重要であり、ファブリー病のスクリーニング法の開発、それに伴い症状を呈する以前からの経過を含め治療の開始時期が極めて重要な課題であると考えられる。

また、ファブリー病に対する酵素補充療法は、2004 年 4 月に承認、販売され、約 10 年が経過し

たところである。今後も様々な臨床研究が必要であると考えられる。現段階では、生化学的または病理学的に腎臓、皮膚、心臓などで蓄積物質である globotriaosylceramide (GL-3) が減少すること、痛みが改善することが判明したにすぎない。腎機能の悪化をどれくらい抑えることができるのか、また、悪化した腎臓をどれくらい改善させることができるのかなどが重要な課題になると考えられ、同時に心臓および脳血管系におけるイベントへの予防効果も重要な課題である。また、適切な投与開始時期の決定も重要である。特にヘテロ型の女性においては、臨床像を全く示さない症例から、古典型の場合と同様に早期発症で重症例のものまで存在する。最近では、腎臓障害、心臓障害、脳血管障害を起こしたファブリー病ヘテロ接合体の症例が多数報告されるようになり、今後、診断や治療上で大きな問題になると考えられる。

今回の調査では、単一施設におけるファブリー病患者の基本属性、臨床症状の解析を行ったが、これらの調査結果を基礎データとし、今後、全国的な臨床疫学調査を検討している。

E. 結 語

本研究にてファブリー病患者 58 名の臨床所見の評価を行い、現時点での実態を解析した。このことは、現在行われている酵素補充療法の安全性や有効性、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。今回の調査では、単一施設におけるファブリー病患者の基本属性、臨床症状の解析を行ったが、これらの調査結果を基礎データとし、今後、全国的な臨床疫学調査を検討している。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文

なし

2. 学会

- 1) 山本浩志, 坪井一哉: ファブリー病と聴力障害 - 聴覚機能からみた酵素補充療法の効果. 第 65 回日本交通医学会総会, 京都, 2011. 6
- 2) 玉木宣人, 坪井一哉: ファブリー病における腎機能の解析. 第 65 回日本交通医学会総会, 京都, 2011.6
- 3) Tsuboi K, Suzuki S, Nagai M: Clinical and etiological features of 315 Fabry patients using clinical research data forms. 10th International Symposium on Lysosomal Storage Disease, Madrid, Spain, 2011.4
- 4) Tsuboi K: Clinical observation for 13 Fabry patients - Agalsidase alpha switching study. 10th International Symposium on Lysosomal Storage Disease, Madrid, Spain, 2011.4
- 5) 野々村大地, 坪井一哉: ファブリー病ヘテロ型の臨床的特徴の検討. 第 64 回日本交通医学会総会, 札幌, 2010.6
- 6) 北田雄太, 荘加静, 坪井一哉, 古田祐子: ファブリー病における眼科的所見と血管病変. 第 52 回日本先天代謝異常学会総会, 大阪, 2010.10
- 7) 平野雅規, 坪井一哉, 山本浩志: ファブリー病の遺伝子型・表現型相関の臨床的検討. 第 64 回日本交通医学会総会, 札幌, 2010.6
- 8) 坪井一哉, 鈴木貞夫, 永井正規: 臨床調査個人票を用いたファブリー病患者の疫学調査. 第 64 回日本交通医学会総会, 札幌, 2010.6
- 9) 坪井一哉, 野々村大地: ファブリー病ヘテロ型 24 例の臨床的検討. 第 52 回日本先天代謝異常学会総会, 大阪, 2010.10
- 10) 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 15 回日本ライソゾーム病研究会, 東京, 2010.11
- 11) 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臨床的検討. 第 64 回日本交通医学会総会, 札幌, 2010.6
- 12) 山本浩志, 坪井一哉, 中島 努, 内田郁恵, 杉浦綾子, 杉浦彩子, et al: ファブリー病における聴

- 覚障害と同一世代一般住民聴力の比較. 第 52 回日本先天代謝異常学会総会, 大阪, 2010.10
- 13) 山本浩志, 坪井一哉, 伊藤 太: フィブリー病患者における加齢と聴力との関係. 第 64 回日本交通医学会総会, 札幌, 2010.6
- 14) 山田弘武, 光吉隆真, 坪井一哉, 鈴木貞夫, 永井正規: 本邦におけるポンペ病患者の臨床疫学調査. 第 21 回日本疫学会学術総会, 札幌, 2010.1
- 15) 山田弘武, 光吉隆真, 坪井一哉: 無記名アンケート調査によるポンペ病患者の臨床的特徴の解析. 第 52 回日本先天代謝異常学会総会, 大阪, 2010.10
- 16) 光吉隆真, 山田弘武, 坪井一哉, 鈴木貞夫, 永井正規: 本邦におけるファブリー病患者の臨床疫学調査. 第 21 回日本疫学会学術総会, 札幌, 2010.1
- 17) 光吉隆真, 山田弘武, 坪井一哉: 無記名アンケート調査によるファブリー病患者の臨床的特徴の解析. 第 52 回日本先天代謝異常学会総会, 大阪, 2010.10
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

Table 1

Type	No. of patients	Age (mean±SD)
Classical	27	30.9±10.7
Cardiac variant	1	30
Heterozygotes	30	50.5±14.7

Table 2

	Female (Agal U)	Male (Agal U)
α-Gal A activity (mean±SD)	14.7±7.7	4.5±6.1
Cut off	<20.0	<17.0

Table 3

	Male (y.o.)	Female (y.o.)
Age at onset (mean±SD)	11.7±12.0	17.5±14.7
	Male (y.o.)	Female (y.o.)
Age at diagnosis (mean±SD)	24.8±14.4	40.0±17.7

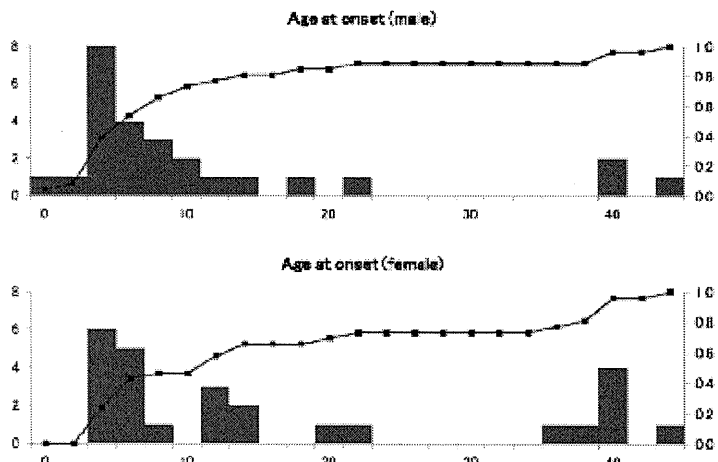


Fig. 1 Age at onset

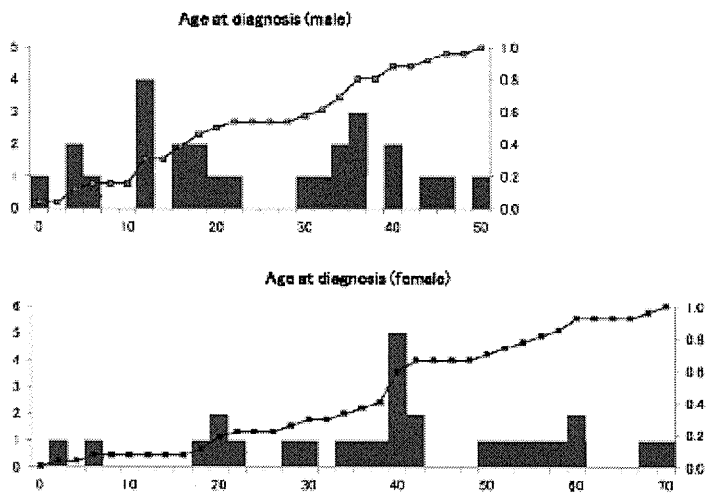


Fig. 2 Age at diagnosis

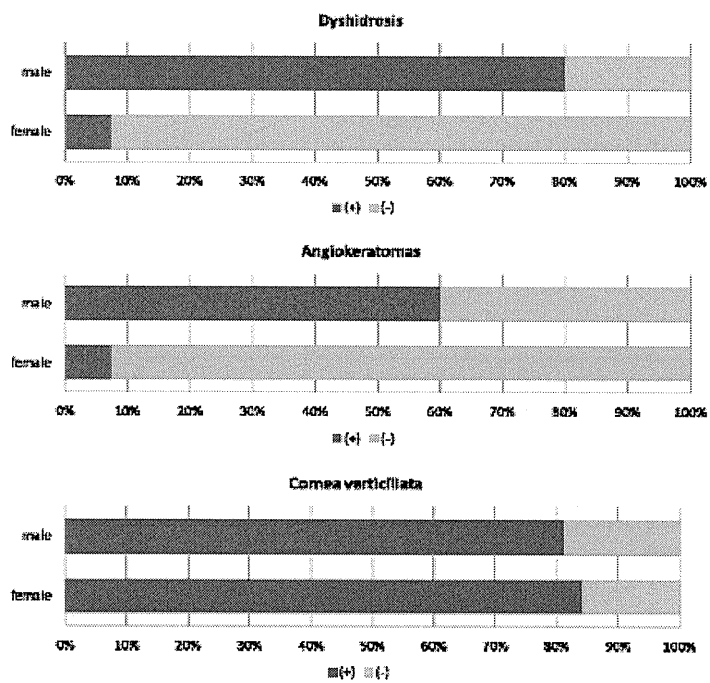


Fig. 3-a Frequency and symptoms

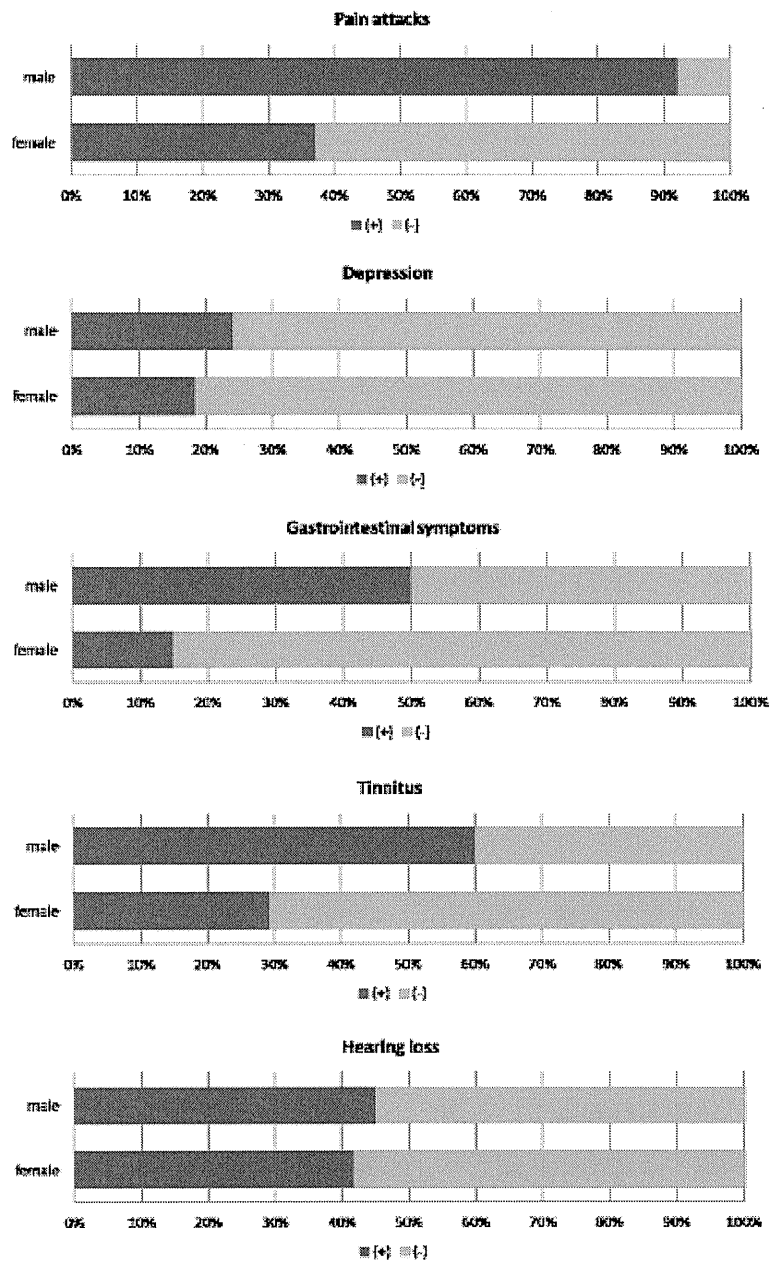


Fig. 3-b Frequency and symptoms

ムコ多糖症Ⅱ型(Hunter病)の成長曲線作成

分担研究者：鈴木 康之(岐阜大学医学教育開発研究センター)

研究要旨

ムコ多糖症Ⅱ型(Hunter病)患者46名(男性、治療前、重症型29名、軽症型17名、年齢分布3~40歳)の母子手帳記録を利用して、身長、体重に関する成長曲線を作成した。本データはHunter病の治療効果判定に有益であると考えられる。

研究協力者：

折居忠夫(折居クリニック)

戸松俊治(デュポン小児病院、米国)

Montaño AM(セントルイス大学、米国)

A. 研究目的

ムコ多糖症Ⅱ型(Hunter病)は骨変形、関節拘縮、肝脾腫、聴力障害、閉塞性呼吸障害、中枢神経障害、ヘパラン硫酸、デルマタン硫酸の蓄積を特徴とするX連鎖劣性遺伝病であり、造血幹細胞移植や酵素補充療法による治療が行われているが、成長に対する効果を評価判定するための基礎データは未だ不十分である。

今回、Hunter病患者の成長記録に基づいて標準曲線を作成したので報告する。

B. 研究方法

Hunter病患者家族の協力を得て、46名(全員男性、治療前、重症型29名、軽症型17名、年齢分布3~40歳)の母子手帳記録を報告してもらい、成長曲線を作成した。倫理面への配慮：連結不能匿名化したデータで解析した。

C. 研究結果及び考察

1) 身長

Hunter病患者の出生時身長は 50.9 ± 2.1 cmで、日本人男児平均出生時身長 49.0 cm(90 percentile

51.0cm)に比べ、やや大きかったが、生後12か月では 80.5 ± 3.6 cmとなり、対照 75.4 cm(90 percentile 78.5cm)と、過成長が最も顕著になった。その後は徐々に差が縮まり、5歳で両者とも約 108 cmとなり、それ以降、Hunter病患者では成長が著しく抑制された(表1、図1)。一部の軽症例を除くと、軽症型と重症型の身長には明らかな差は認められず、身長から臨床的重症度を判断することは難しいと考えられた。

2) 体重

Hunter病患者の出生体重は 3.4 ± 0.5 kgで、日本人男児平均出生体重 3.0 kg(90 percentile 3.5kg)に比べ、やや大きかったが、年齢と共にその差は大きくなり、6歳では 28.4 ± 8.7 kgとなり、対照 19.87 kg(90 percentile 24.67kg)と、過体重が最も顕著になった。その後は急速に差が縮まり、10歳では逆転した。これは身長抑制に関係していると考えられた。(表2、図2)。

D. 考察

ムコ多糖症は幼児期の過成長とその後の成長抑制、肥満傾向が特徴と言われてきたが、正確な計測に基づいたデータは存在しなかった。今回、母子手帳の記録を集計し、Hunter病患者の身長、体重曲線を作成することができた。このデータは造血幹細胞移植や酵素補充療法の効果判定の一助になると期待される。

E. 結論

Hunter 病患者の成長曲線を作成した。このデータは Hunter 病の治療効果判定に役立つと期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Tomatsu S, Adriana M. Montaña, Oikawa H, Giugliani R, Paul Harmatz Mary Smith, Suzuki Y, Orii T : Defects in growth of body in mucopolysaccharidoses. The Handbook of

Growth and Growth Monitoring in Health and Disease, Springer (in press)

2. 学会発表

- 田中あけみ, 奥山虎之, 鈴木康之, 酒井規夫, 澤田 智, 田中藤樹, 大友孝信, 大橋十也, 大浦敏博, 加藤俊一 : ムコ多糖症Ⅱ型に対する造血幹細胞移植の効果について : 多施設共同調査研究最終報告. 第 53 回日本先天代謝異常学会, 幕張, 2011.11

H. 知的所有権の取得状況

なし

	Hunter		Control
	Mean	SD	Mean
Birth	50.9 cm	2.1 cm	49.0 cm
1M	56.8	2.0	54.0
3M	65.7	3.5	62.9
6M	72.1	2.9	68.5
9M	76.8	3.5	72.0
12M	80.5	3.6	75.4
18M	85.5	3.4	81.1
2Y	90.9	5.1	87.1
3Y	98.0	4.4	94.6
4Y	102.2	5.3	101.6
5Y	108.4	6.7	108.1
6Y	112.1	5.9	114.9
8Y	115.9	5.3	128.2
10Y	117.9	5.4	139.0
12Y	119.3	3.6	152.8
15Y	120.2	8.5	168.3

表 1 Hunter 病患者の年齢別身長

	Hunter		Control
	Mean	SD	Mean
Birth	3.4	0.5	3.0
1M	5.1	0.6	4.24
3M	7.8	1.3	6.78
6M	9.2	1.1	8.16
9M	10.6	1.4	8.93
12M	12.8	2.4	9.51
18M	14.2	3.1	10.59
2Y	17.2	4.7	12.07
3Y	20.1	4.7	13.97
4Y	22.4	5.9	15.90
5Y	25.1	6.8	17.96
6Y	28.4	8.7	19.87
8Y	30.3	9.3	26.64
10Y	30.4	5.2	33.54
12Y	32.1	3.4	43.52
15Y	29.6	8.8	59.24

表 2 Hunter 病患者の年齢別体重

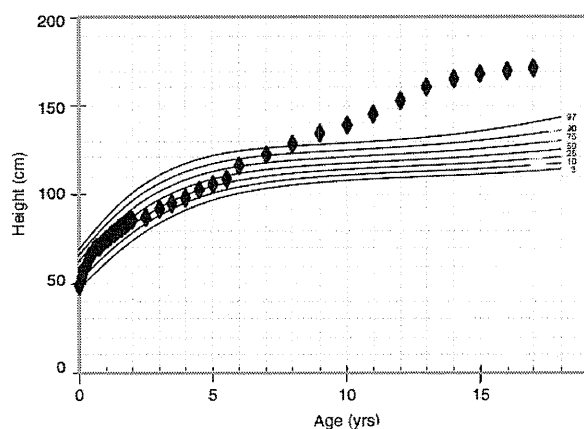


図 1 Hunter 病患者の成長曲線
(青のプロットは日本人男児の平均)

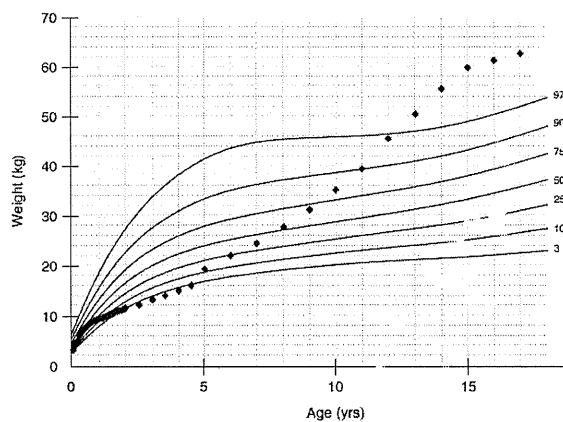


図 2 Hunter 病患者の体重曲線
(青のプロットは日本人男児の平均)

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

分担研究者：芳野 信(久留米大学教授)

研究要旨

ハンター症候群(重症型)兄弟2名に42か月にわたり酵素(イデュルスルファーゼ)補充療法を行った。その結果、著効を示す症状(心筋肥大、肝脾腫瘍)と限定的効果にとどまる症状(関節拘縮など)、無効な症状(中枢神経)の別が見られた。また、治療開始年齢が若いほど効果も大きい傾向があり、早期の治療開始が予後の改善に重要と考えられる。

研究協力者

高瀬 隆太(久留米大学小児科・助教)
大平 智子(久留米大学小児科・研究生)
渡邊 順子(久留米大学小児科・講師)

A. 研究目的

ハンター症候群(重症型)患児2名で長期酵素(イデュルスルファーゼ)補充療法(ERT)の効果とその限界について検討する。

B. 研究方法

対象は9歳5か月および4歳7か月のハンター症候群(重症型)兄弟(年齢はいずれもERT開始時)。観察期間は42か月。

C. 研究結果

1. 尿中ウロン酸の排泄

兄弟ともERT導入後18か月までにほぼ正常化した。

身長・体重の推移：ERT導入後、兄は身長のカッチアップ、体重の適正化(身長に釣り合った体重)がみられ、弟は正常範囲の身長、体重の伸びが確保できた。

2. 肝脾腫

兄弟ともERT導入後18か月までに著明に縮小した。

3. 心筋厚(各年齢の平均のSDで表示)

兄は心室中隔厚は6か月までに減少(3.5SD→1.0SD)、その後ほぼ同じレベルを維持、心室後壁は30か月までに正常化(3.2SD→0.5SD)したがその後、再肥厚傾向を示した。弟は心室中隔厚は30か月までに減少(4.3SD→1.0SD)、その後ほぼ同じレベルを維持、心室後壁は30か月までに正常化(3.8SD→1.0SD)した。

4. 関節可動域

兄弟とも肘、腰、膝、足関節の可動域の制限は進行が阻止されたが、肩関節の拘縮は進行した。

5. 頭部MRI画像

兄はERT導入前から大脳の瀰漫性萎縮と全脳室拡大をみとめ、ERT導入42か月時も不変であった。弟はERT導入前に側脳室を中心とした脳室拡大が見られ、ERT経過中に軽度進行した。

D. 考察

イデュルスルファーゼ補充の効果は、間葉系の組織(心筋、骨など)や、肝臓、脾臓など血流の多い臓器には好影響を与えた。半面、関節拘縮などに対する効果は限定的であった。以上から、臓器組織ごとの細胞膜酵素受容体や臓器の血流の多寡が臓器、組織ごとの治療効果の差異に関与している

のではないかと推測される。また、治療開始年齢が若いほど効果も大きい傾向があった。

E. 結論

42 か月にわたるハンター症候群(重症型)患児に対するイデュルスルファーゼ補充療法は、心筋肥厚、肝脾腫縮小、身長なのびには有効であり、関節拘縮はおおむね進行を阻止する効果が認められた。いっぽう中枢神経病変の進行は阻止できなかった。また治療開始時期は早いほど病状の改善または進展を阻止する効果は高いと考えられ、早期の治療開始が予後の改善に重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 芳野 信：ライソゾーム病の病態におけるサイトカインなど生物活性物質の役割. ライソゾーム病－最新の病態、診断、治療の進歩－. 衛藤義勝 責任編集. 診断と治療社(東京), 35-37. 総頁数 274, 2011
- 2) 渡邊順子：コバラミン代謝異常症 F 型 ライソゾーム病－最新の病態、診断、治療の進歩－. 衛藤義勝 責任編集. 診断と治療社(東京), 235-236. 総頁数 274, 2011
- 3) Harada H, Uchiwa H, Nakamura M, Ohno S, Morita H, Kato A, Yoshino M, Ikeda H : Laronidase replacement therapy improves myocardial function in mucopolysaccharidosis I. *Mol Genet Metab* 103 : 215-219, 2011 (doi : 10.1016/j.ymgme.2011.03.016)

2. 学会発表

- 1) Yoshino M, Watanabe Y, Yabe H, Kato S, Otomo T, Sakai N, Gasa S, Hayasaka-Sukegawa K : Long-term survival and restoration of GLCNAC-1-phosphotransferase activity in peripheral lymphocytes of a patient with I-cell disease who received allogenic bone marrow transplantation. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism 2011.8.30-9.2 (Geneva)
- 2) 芳野 信, 渡邊順子, 岡田純一郎, 高瀬隆太 : ムコ多糖症Ⅱ型の酵素補充療法の効果の長期観察. 平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金, 難治性疾患克服研究事業 班会議, 東京, 2011.9.28
- 3) 芳野 信 : Fabry 病 : アップデート 第 68 回 久留米大学 CPC, 久留米, 2011.1.18

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 新規出願

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

分担研究者：高柳 正樹(千葉県こども病院副院長)

研究要旨

これまで当院においてゴーシェ病 5 例、ハーラー病 1 例、ハンター病 3 例、ファブリー病 1 例の計 10 症例で酵素補充療法を行った。

酵素補充療法は定期的な(1 回/週または 1 回/2 週)病院への来院が必要である。このため酵素補充のコンプライアンスを保つことが難しい症例がある。また何らかの工夫を加えることでコンプライアンスを保つことに成功している症例もある。

学校に在籍している時も頻回な通院にはかなり困難が伴う。しかし就業した後の定期的な通院にはさらなる困難が伴う。全く症状のない時期からの酵素補充療法の継続には、患者の疾患に対する十分な理解と、受診の容易さを担保する方策が必要である。

患者の生活環境が患者ごとに大きく異なるので、患者毎にコンプライアンスが向上する方法を患者と医療従事者との間で、十分に考えて調整することが必要である。

A. 研究目的

当院においてこれまでに施行したライソゾーム病に対する酵素補充療法は、各種疾患合計 10 症例である。これら症例に行った酵素補充療法におけるコンプライアンスに関する問題点を検討して報告する。

B. 研究方法

症例はゴーシェ病 5 例、ハーラー病 1 例、ハンター病 3 例、ファブリー病 1 例の計 10 症例である。使用した製剤は、ゴーシェ病に対してはセレダーゼ® 1 例、セレザイム® 5 例、アウドラザイム® 1 例、エラプレース® 3 例、リプラガル® 1 例である。

これら症例への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、各種医療記録より事後的に収集して検討した。

(倫理面への配慮)

個人が特定されないように配慮した。

C. 研究結果

1. 16 歳時診断の腎ファブリー病

27 歳 7 カ月(2008 年 3 月)から酵素補充療法開始した。

症状はまったくない。このため病識はほとんどない。就職しているが雇用状況が不安定。日常生活も不規則。

これまで長期、短期の未受診や頻回の予約のキャンセルなどを繰り返している。特定疾患の申請の継続も中断したこともあった。

コンプライアンスを上げるため、酵素補充療法の意義を患者に十分理解してもらうため説明を繰り返した。酵素補充を土曜日(当院休診日)にも行えるようにした。

2. ハーラー症候群：

施設入所中なので付き添いの施設職員の勤務調整が必要で、週 1 回の通院には多くの困難がある。

3. ハンター症候群：

就職に当たって勤務先に1週に1回の病院受診を理解してもらうことが必要。就職後も理解がないと通院できない。

4. ゴーシェ病Ⅰ型：

学校をなるべく休まないために、平日でも午後遅い時間帯の受診とした。

5. ゴーシェ病Ⅱ型：

重症心身障害のため通院が大変なので、当院の近くに転居なされた。

6. ゴーシェ病Ⅲ型：

重症心身障害のため当院受診が大変なので、酵素補充の半分を近くの開業医にお願いして、当院への通院が半分になった。

D. 考 察

学校に在籍している時も頻回な通院にはかなり困難が伴う。しかし就業した後の定期的な通院にはさらなる困難が伴う。

全く症状のない時期からの酵素補充療法の継続には、患者の疾患に対する十分な理解と、受診の容易さを担保する方策が必要である

患者の生活環境が患者ごとに大きく異なるので、患者毎にコンプライアンスが向上する方法を患者と医療従事者との間で、十分に考えて調整することが必要である。

コンプライアンスを上げる方策として、以下のような事が検討されるべきであろう。

1. 在宅自己注射。
2. 土曜、日曜、祝日に補充療法を行う。入院治療として扱うと問題が少ない。

3. 平日でも夕方入院として治療をおこない、即日または翌朝早く退院。

4. 日曜、祝日に診療している開業医と協力して、日曜、祝日に補充療法を行う。

E. 結 論

酵素補充療法は定期的な(1回/週または1回/2週)病院への来院が必要である。このため酵素補充のコンプライアンスを保つことが難しい症例がある。

症例によりいろいろな工夫を行い、十分なコンプライアンスを保つことに留意することが大切である。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 高柳正樹, 村山 圭, 川内恵美：酵素補充療法におけるコンプライアンスについて. 第15回日本ライソゾーム病研究会抄録集, 20, 2011

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし