

201231002A

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 24 年度総括・分担研究報告書

平成 25（2013）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 24 年度総括・分担研究年度終了報告書

平成 25(2013)年 3 月

研究代表者

衛藤 義勝

## 目次

はしがき	1
研究組織	4
総括研究報告書	6
ライソゾーム病（ファブリ病を含む）に関する調査研究 主任研究者 衛藤義勝	
付1 平成24年度班会議プログラム	11
分担研究報告書	
I. 病態把握	
1) ライソゾーム病（ファブリ病含む）に関する研究	19
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）	
2) ファブリー病の心筋肥大に対する酵素補充療法の検討	21
坪井 一哉（名古屋セントラル病院ライソゾーム病センター・血液内科）	
3) 新しい診断法の開発（酵素補充療法）	24
奥山 虎之（国立成育医療研究センター臨床検査部）	
4) ハイリスクスクリーニングで発見された Fabry 病患者の CKD 重症度に関する研究	26
北川 照男（（公財）東京都予防医学協会 理事長）	
5) 副腎白質ジストロフィー患者の受療行動と診断の遅れ	32
鈴木 康之（岐阜大学医学教育開発研究センター）	
II. 病態解析	
1) 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	37
横山 和明（帝京大学薬学部教授）	
2) 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	39
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）	
3) 小児副腎白質ジストロフィー症の早期診断における神経心理・生理学的検査の意義 小児大脳型 ALD における病型特異的な突発性徐派成分の特徴	43
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）	
4) ニーマンピック病の臨床および病態に関する研究	45
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）	

5) ライソゾーム病における酵素補充量療法の問題点	47
高柳 正樹 (千葉県こども病院副院長)	
6) ペルオキシソーム・ライソゾーム病ならびに副腎白質ジストロフィー (ALD) の分子病態解析と治療薬開発	49
今中 常雄 (富山大学大学院医学薬学研究部教授)	
7) 日本人ムコリピドーシス II/III の病態解析と日本人クラッペ病の病態解析	54
酒井 規夫 (大阪大学大学院医学系研究科小児科学講座)	
8) スフィンゴリピドーシスの神経病態解明と治療法開発に関する研究	58
松田 純子 (東海大学糖鎖科学研究所教授)	
9) D-bifunctional protein 欠損症の 2 例	63
大澤真木子 (東京女子医科大学医学部小児科学)	
10) ライソゾーム病 (ファブリ病含む) に関する調査研究	65
辻 省次 (東京大学医学部附属病院神経内科)	
11) 抗イブスルファーゼ抗体の産生とムコ多糖症 II 型酵素補充療法の治療効果に関する研究	67
田中あけみ (大阪市立大学大学院医学研究科・准教授)	
12) 重症型ムコ多糖症 II 型の成長パターンと早期診断について	71
鈴木 康之 (岐阜大学医学教育開発研究センター)	
13) 血漿 Lyso-Gb3 濃度の増加を示さない特異なファブリー病症例群の研究	73
櫻庭 均 (明治薬科大学分析化学・臨床遺伝学教授)	
14) ライソゾーム病の iPS 細胞の作成と病態代謝に関する研究	79
衛藤 義勝 (東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座)	
III. 治療法開発	
1) 新しい治療法の開発 (ケミカルシャペロン療法・iPS)	
ゴーシェ病 3 型患者に対するケミカルシャペロン療法	85
大野 耕策 (鳥取大学・医学部・教授)	
2) 小児期発症の Niemann-Pick 病 C 型における miglstat の使用経験	
一早期診断に有用な検査所見の検討	89
大澤真木子 (東京女子医科大学医学部小児科学)	
3) ゴーシェ病 III 型の骨髄移植症例の長期経過	91
渡邊 順子 (久留米大学医学部小児科)	
4) ライソゾーム病の遺伝子治療に関する研究	94
島田 隆 (日本医科大学教授)	
5) レンチウイルスベクターを用いた遺伝子治療法の開発	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)	
6) ライソゾーム病の新しい分子治療法開発	101
鈴木 義之 (国際医療福祉大学大学院特任教授)	

7) $\beta$ -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 ……	106
難波 栄二 (鳥取大学生命機能研究支援センター教授)	
研究成果一覧 ……	111
付2 第3回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムプログラム ……	135

## はしがき

ライソゾーム病研究班は3年間で終了し、ライソゾーム病の研究のみだけでなく、ペルオキシゾーム病&ALD研究グループを加え、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)患者の自然歴並びにこれらの患者のADL(activity of daily life)、QOL(quality of life)の解析を行い、現在患者の臨床的問題点、並びに状況を評価し、今後の医療上の援助或いは将来的な予後改善のための指標を作成することに貢献する。また、現在本邦ではゴーシェ病、ファブリ病、ポンペ病、ムコ多糖症I, II, IV型の患者での酵素補充療法の効果或いは問題点、特に抗体産生に伴う効果、副作用などを明らかにするため臨床的研究を進めてきた、又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は特に重要である。乾燥濾紙血を用いての診断法を開発し、主に行い酵素補充療法を施行している6疾患を中心にスクリーニング法の検討を行った。又現在MS/M Sを用いての診断法の開発などの研究を行っている。(3)ライソゾーム病&ペルオキシゾーム病の病態解析ではリポドーシス、特にファブリ病、ゴーシェ病又ポンペ病、ムコリポドーシスなど病態、遺伝子解析を行うと共に、ポンペ病、ゴーシェ病、ファブリ病の患者皮膚線維芽細胞からiPS細胞法作成し、電子顕微鏡による病態解析を行った。(4)遺伝子治療&細胞治療(骨髄幹細胞、iPS細胞治療を含む)、Noev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、遺伝病遺伝子協力体制の整備を行った。以下5本の柱の概要並びに成果を示す。

### (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

ファブリ病、ポンペ病、ムコ多糖症、ALD、ペルオキシゾーム病でのQOL, ADLの改善に関する調査を行った。ALDの研究では脳波上の $\delta$ 波含有量と局在はALDの早期診断と局在部位の推定に役だつ可能性を認めた。今後、症例を重ね、治療前後の脳波の徐波含有量変化を検討し、早期診断の真の指標として確立しうるかどうかが検討する必要性を明らかにした。アグルシダーゼ $\alpha$ 並びに $\beta$ による酵素補充療法の効果の比較、酵素補充療法の効果は抗体産生に対する臨床効果に及ぼす影響、造血幹細胞によるライソゾーム病、特にゴーシェ病III型、ALDに対する効果などを検討した。

### (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

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

法の開発などを進め、スクリーニング法としての精度を上げた。ファブリ病、ポンペ病、ALD患者の早期診断法として濾紙血による方法は非常に有効であることを明らかにした。

### (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ムコリピドーシスI, II型、クラベ病での遺伝子、病態解析：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。また同じくライソゾーム病のクラベ病について、日本人固有の分子病態の解明を行なった。 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⑥日本人ファブリ病患者の中に血漿 Lyso-Gb3 濃度が増加しない特異な症例群が存在することを見出した。この症例の多くは「遅発型ファブリ病」の臨床表現型を呈し、白血球 $\alpha$ -ガラクトシダーゼA (GLA)活性が低下していたが、僅かながら残存活性が認められた。GLA 遺伝子解析の結果、全例に M296I アミノ酸置換を来たす変異が見られた、⑦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。ニーマンピックC型細胞で観察される二次的に低下する酸性スフィンゴミエリナーゼ (Acid sphingomyelinase: ASM) 酵素が、細胞内コレステロール蓄積惹起に関与しており、ASM 活性上昇薬 (酪酸) がC型細胞でコレステロール蓄積の減少作用を持つことを示した。⑧ゴーシェ病を含むスフィンゴリピドーシスに対するサポシン補充の有用性を検討、これらの成果からスフィンゴリピドーシスの病態と治療法開発におけるサポシンの重要性を証明した。⑨ペルオキシゾーム病ではミスセンス変異 ABCD1 タンパク質の分解を抑制し、正常にペルオキシゾームに局在化させる低分子化合物の探索を計画して、その病態代謝を検討した。ALD では遺伝子改変マウスを導入して、中枢神経症状の発症実験や極長鎖脂肪酸の改善を指標にした治療薬開発、ペルオキシゾーム形成異常症では患者線維芽細胞より iPS 細胞の樹立に加えて、モルフオリノおよびTALENを用いたペルオキシゾーム欠損モデルフィッシュの作製による病態解明を進めている。

(4) ケミカルシャペロン・細胞・遺伝子治療の開発-ガラクトシダーゼ欠損症患者4検体について遺伝子変異解析を行った。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) と新規化合物MTD118について比較検討し、変異型特的なシャペロン効果を認めた。又GM1-ガングリオシドーシスのシャペロン療法のため、既存の化合物 1-deoxygalactonojirimycinを原材料として1工程で合成が可能な新規化合物MTD118を開発した。MTD118はこれまで検討してきたNOEV同様のシャペロン活性を有し、中枢神経系の変異 $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性を上昇させ、蓄積GM1を減少させた。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、またムコ多糖症VII型(MPSVII)、およびクラッペ病でのレンチウイルスを用いた遺伝子治療を検討した。又BBBの幼若性を期待して新生児期マウスへのアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターの全身投与を行った。ベクター及びASAタンパク質は肝臓や筋肉だけでなくBBBを越えて脳や脊髄でも検出された臨床効果を確認した。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24年度は以上のプロジェクトを班員26名並びに研究協力者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&ペルオキシゾーム病、或いはALDなどの疾患で悩む患者、並びに御家族の為に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25年3月

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 24 年度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(ケミカルシャペロン法)
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(ケミカルシャペロン法、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(ケミカルシャペロン法)
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)
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)
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

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
研究分担者 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
井田 博幸	東京慈恵会医科大学 遺伝子治療研究部/小児科	教授	ライソゾーム病の基質合成抑制療法&新しい酵素補充療法
大橋 十也	東京慈恵会医科大学 遺伝子治療研究部/小児科	教授	MLD, ALD 等のライソゾーム病遺伝子治療
渡邊 順子	久留米大学医学部小児科	講師	バイオマーカーの開発

## 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（Lysosomal Storage Disease, LSD）調査研究の3年が終了し、従来挙げてきた柱 I-IV に沿って今年度の業績をまとめ、以下のとおり報告がなされた。

I 病像把握のための実態調査

II 病態解析

III 新規治療法の開発

IV 遺伝子治療体制整備

欧米を中心に遺伝子治療の臨床研究の成功例も少しずつ出始めているがわが国では基礎的検討の段階を脱していない一方で、日本発のシャペロン療法が症例によっては非常に効果があることが今回も報告されている。遺伝子治療に関しては柱 I Vとしてベクター供給、安全性の評価の準備として国際フォーラムを立ち上げ、継続している。今後もこれらの柱を中心に研究を総合的に展開していくことが求められる。

### A. 研究目的

本研究の目的は LSD 患者の生命予後、日常生活動作（ADL）、生活の質（QOL）の改善にある。そのため LSD の実態調査、病態解析、新規治療法開発の3つを柱とし、加えて早期治療のための LSD、ALD の早期診断法の開発、また遺伝子治療をはじめとする根治療法の臨床応用の体制整備の検討を加えて、総合的な研究を進めていく。

### B. 研究方法

\*詳細は各研究者の報告欄を参照

（I）病像把握のための実態調査

①ろ紙血検体を用いたファブリー病新生児、ハ

イリスク患者のマススクリーニング

②ファブリー病患者の実態調査：31例を対象に心筋肥大に対する酵素補充療法の効果解析

③Liquid Logic™ Newborn Screening Analyzer によるハーラー症候群、ハンター症候群、ゴーシェ病、ポンペ病、ファブリー病の酵素活性値の同時測定によるスクリーニングを行った。

④ハイリスクスクリーニングで発見された Fabry 病患者の腎障害重症度を検討

⑤小児・思春期大脳型副腎白質ジストロフィー（ALD）患者22名に対して発病初期の受療行動と診断遅れの要因について解析

（II）病態解析

①ペルオキシソーム病患者の皮膚繊維芽細胞

から全脂質を抽出、これをメタボローム解析し、極長鎖脂肪酸を含む分子種の構造を明らかにした。

②ペルオキシゾーム病に対して LC/MS/MS を用いた極長鎖脂肪酸迅速診断システムの開発、ペルオキシゾーム形成異常症患者細胞よりの iPS 細胞の樹立及び神経分化の検討、ALD モデルマウスによる検討を行った。

③ALD 発症前早期診断のために未発症および発症後の状態で脳波での局在性徐波化について検討

④ニーマンピック A, B, C 型の病態解析のため、正常培養リンパ芽球およびニーマンピック C 型リンパ芽球に対して、ASM アクチベーターである酪酸 (butyrate) を添加 (10mM) し、各細胞の 1)ASM 活性、2)ASM mRNA レベル、及び 3)細胞内コレステロール含量を調べ、次に ASM 欠損線維芽細胞およびニーマンピック C 型リンパ芽球に対して、酪酸添加による細胞内遊離コレステロールを調査

⑤LSD 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、酵素補充による中枢機能への評価、ミトコンドリア呼吸鎖酵素活性を検討

⑥患者で報告されているミスセンス変異 ABCD1 タンパク質の C 末端に GFP を付加した融合タンパク質 (変異 ABCD1-GFP) を安定発現する CHO 細胞を作製した。この細胞は、通常の培養条件下では変異 ABCD1-GFP が分解され蛍光を示さないが、プロテアソーム阻害剤処理や低温培養により回復し蛍光を示した。この細胞の蛍光を指標にしたハイスループットアッセイ系を構築し、1099 種類の既存薬ライブラリーの中からヒット化合物 (ドキシソルビシン) を見出した。

⑦ムコリピドーシス患者細胞に対し、正常細胞から塩化アンモニウム処理により作成した濃

縮ライソゾーム酵素混合液を加えることにより、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。またクラッベ病の日本人固有の分子病態の解明を行なった。

⑧ライソゾームでのスフィンゴ糖脂質の分解に酵素と共に必要であるサポシンの機能解析を行った。

⑨ペルオキシゾーム病の 1 型である D-Bifunctional protein 欠損症 (以下 DBP 欠損症) の診断に有用な臨床徴候、検査所見を検討

⑩ALD の臨床病型を修飾する因子として、Peroxisome で機能する遺伝子群 (100 遺伝子) を候補遺伝子として、exome 解析による、網羅的な変異解析システムを構築。また多系統萎縮症 (MSA) についてライソゾーム病の病因遺伝子の variants が発症に関与するかどうかを検討した。

⑪イズルスルファーマゼ製剤にて酵素補充療法中のムコ多糖症 II 型患者について、治療効果と抗イズルスルファーマゼ抗体産生の関係、および遺伝子変異との関係を検討した。

⑫重症型ムコ多糖症 II 型 (Hunter 病) 患者 29 名 (男性、治療前) の乳幼児期の成長パターンについて検討

⑬ファブリー病のバイオマーカーとして注目される血漿 Lyso-Gb3 濃度の増加を示さない特異なファブリー病症例群の検討

⑭ライソゾーム病、特にファブリー病、ポンペ病、ゴーシェ病患者由来、或いはマウス由来の皮膚繊維芽細胞よりレトロ/センダイウイルスベクターを用いて山中因子を導入して iPS 細胞を作成し、生化学的並びに形態的な手法により病態解析を行った。

(III) 新規治療法開発

①ゴーシェ病 3 型患者 3 名に対し、アンブロキシソールによるケミカルシャペロン療法効果の検討

②NPC 患者に対するミグルスタット効果の検討

③ゴーシェ病 III 型の骨髄移植症例の長期経過の検討

④MLD モデルマウスに対する AAV ベクターを用いた新生児遺伝子治療の検討

⑤クラッベ病、スライ病 (MPS VII) に対するレンチウイルスベクターを用いた新生児遺伝子治療の検討

⑥GM1-ガングリオシドーシスに対する新しい治療薬として既存の市販化合物 1-deoxygalactonojirimycin (DGJ) を原材料として、1 工程で合成が可能な MTD118 を開発し、その物性と生物活性を検討した。

⑦GM1-ガングリオシドーシス患者皮膚線維芽細胞に対する NOEV, MTD118 によるシャペロン効果の検討

(IV) 遺伝子治療体制整備として年に 1 回、本年度第 3 回国際遺伝子治療フォーラムを開催し、政府、企業への協力を要請する足がかりとした。また各製薬企業に対する啓蒙活動を含め、遺伝子治療に対する開発意欲を高めるために本フォーラム開催は重要な役割を果たしている。

### C. 研究結果および考察

\*詳細は各研究者の報告欄を参照

#### (I) 病像把握のための実態調査

①ろ紙血検体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。

②ファブリー病患者の実態調査：31 例を対象に心筋肥大に対する酵素補充療法の効果解析した結果、治療開始 12 ヶ月、24 ヶ月の観察時に左室心筋重量の減少傾向が認められ、ファブリー病に対する agalsidase alfa を使用した酵素補充療法の有効性が示唆された。

③284 名の正常対照群と 70 名のライソゾーム患者群のろ紙微量血液検体を用いたライソゾーム病 5 疾患のライソゾーム酵素活性同時測定により正常対照群とライソゾーム患者群の鑑別が可能であった。

④ハイリスクスクリーニング陽性ファブリー病患者の重症度検討では  $\alpha$ -gal A 蛋白値の低下と GL-3 の蓄積、および年齢は予後を左右する重要な因子である。

⑤ALD 患者 22 名に対して発病初期の受療行動について解析したところ、他の疾患が疑われて確定診断までに多くの医療機関を受診している例が多く、本疾患の初期症状の特徴についての啓発が一層必要と思われた。

#### (II) 病態解析

①Zellweger 症候群患者由来繊維芽細胞の極長鎖脂肪酸含有するホスファチジルコリンの構造を解析したところ、グリセロール 1 位に含まれるものが多かった。これら分子種は患者間で個体差を認めた。

②ALD では遺伝子改変マウスを導入して、中枢神経症状の発症実験や極長鎖脂肪酸の改善を指標にした治療薬開発

③ALD 発症例の  $\delta$  波含有量は前頭型では前方、後頭型では後方に多く、未発症型では 2 例が前頭型、5 例が後頭型に類似した型を示した。未発症型 1 例で治療後は  $\delta$  波含有量の減少が認

められた。

④ニーマンピック病 C 型で観察される二次的 ASM 低下はコレステロール蓄積の増悪因子となっている可能性を示した。

⑤酵素補充療法は中枢神経系の障害に対する酵素補充量の効果は極めて弱く、十分に完成された治療法ではないと考えられる。コンプライアンス（アドヒアランス）の改善は患者の QOL の上昇に必須なので十分な検討が必要である。

⑥変異 ABCD1-GFP を発現した CHO 細胞の蛍光強度を基に、ミスセンス変異 ABCD1 の安定化を指標にしたハイスループットスクリーニング系を構築し、実際に、このアッセイ系を使用してヒット既存薬（ドキシソルビシン）を見いだした。

⑦ 1) ムコリピドーシスは大半のライソゾーム酵素の減少をとまなうことにより、基質の蓄積以上に細胞内の様々な機能異常を来しているが、ライソゾーム酵素の混合液の治療により、有効に細胞内に取り込まれることが明らかになり、今後の治療開発の将来性を示すものと考えられた。

2) クラッペ病の病院として変異蛋白の比活性のみならず、翻訳後のプロセッシングにも問題があることが示唆され、今後の治療法の開発にも意義のある所見と思われる。

⑧ 1) サポシン C は GM1- $\beta$ -ガラクトシダーゼ (Bgal) によるラクトシルセラミド (LacCer) の分解に必須で、LacCer の蓄積はクラッペ病の神経病態を増悪させることを明らかにした。

②サポシン (SAPs) および前駆体プロサポシン (PSAP) はマウス胚組織である脱落膜、栄養膜細胞、卵黄嚢細胞に強く発現し、マウスの胚発生に必須であることを明らかにした。③均一な糖鎖を持つ化学合成サポシン C がゴーシェ病の欠損酵素：グルコシルセラミド- $\beta$ -グルコ

シダーゼ (GCase) の活性を上げ、安定化し、プロテアーゼによる GCase の分解を抑制することを明らかにした。

⑨DBP 欠損症では、臨床像・経過に幅があり、経過を追うことによって典型的な臨床像になることが示唆された。

⑩多系統萎縮症 (MSA) についてライソゾーム病の病因遺伝子の関与を証明するにはもっと大規模な研究が必要とされた。

⑪抗イズルスルファラーゼ抗体のタイターが著明に上昇した 2 症例においては、酵素補充療法の効果が乏しかった。

⑫母子手帳の記録を集計し、重症型 Hunter 病患者の成長パターンを明らかにすることができた。

⑬M296I 変異を持つファブリー病患者は、血漿 Lyso-Gb3 濃度の増加が見られないことから、その診断に注意が必要である。

⑭ゴーシェ病では II 型 (神経型) の iPS 様細胞は樹立できたが、I 型 (非神経型) の iPS 様細胞は作成出来なかった。ポンペ病では乳児型 (心臓型) も遅発型 (筋肉型) も iPS 様細胞が樹立できた。

(III) 治療法開発

①ゴーシェ病 3 型患者へのアンブロキシソールの大量長期経口投与は、有害事象を伴わず、患者の残存酵素活性を上昇させた。また、進行例であってもミオクローヌスや対光反射の改善等の神経症状に対する改善効果を有する可能性が示唆された。

②mig1stat の神経症状に対する効果の客観的な評価として MRS に加え、脳波検査、聴性脳幹反応などが有用と考えられるが、症例が少なく今後のさらなる検討が重要である。治療 2 カ月後の評価では、副作用としての下痢は認めず、

覚醒度が上昇し、また、覚醒時脳波にて徐波の減少傾向を認め、大脳皮質機能の活性化が示唆された。

③AAV ベクター及び ASA タンパク質は肝臓や筋肉だけでなく BBB を越えて脳や脊髄でも検出された。又、ASA に対する免疫寛容が誘導され、ASA が長期間血中に分泌されていた。18 ヶ月後の治療マウスは未治療マウスと比較して運動機能が著明に改善していた。脳や脊髄では ASA タンパク質の持続発現とサルファチドの減少が確認された。

④レンチウイルスベクターを用いた新生児遺伝子治療モデルで MPSVII、Krabbe ともに改善したが、前者でより著明に改善が見られた。

⑤MTD118 はこれまで検討してきた NOEV 同様のシャペロン活性を有し、中枢神経系の変異  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性を上昇させ、蓄積 GM1 を減少させた。しかも NOEV とは異なったミスセンス変異にも有効であり、新しいシャペロン薬として開発が可能であると期待される。

⑥8 人の GM1-ガングリオシドーシス患者由来皮膚線維芽細胞について NOEV と新規シャペロン化合物 MTD118 のシャペロン効果を検討した結果、5 細胞と 6 細胞においてそれぞれ NOEV と MTD118 の有意なシャペロン活性反応を認めた。

#### I V) 遺伝子治療体制整備

平成 25 年 1 月に第 5 回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムが東京・田町で開催され活発な討論が行われた。

#### D. 総合的考察

病像把握のための実態調査、病態解析、新規治療法の開発、の 3 本柱に沿って多くの研究が相互的に進展している。従来から検討されている遺伝子治療に加え、シャペロン療法などの新規治療法も現実化しつつあり、今後の更なる推進が必要である。

#### E. 結論

今回も LSD の予後改善を目指して多くの研究が行われ、酵素補充に続きシャペロン、遺伝子治療も臨床を見据えた基礎研究の段階に入りつつある。更にここでの総合的な成果を統合し発展させていく必要がある。

#### 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

#### H.知的財産権の出願・登録状況

各研究者の報告欄参照

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

日 時：平成 24 年 10 月 4 日 (木) 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 座長 今中常雄

- 1) Exome 解析を用いた副腎白質ジストロフィー患者における表現型を規定する修飾因子の探索  
：松川敬志<sup>1</sup>、三井 純<sup>1</sup>、高橋祐二<sup>1</sup>、石浦浩之<sup>1</sup>、吉村 淳<sup>2</sup>、  
土井晃一郎<sup>2</sup>、後藤 順<sup>1</sup>、鈴木康之<sup>3</sup>、下澤伸行<sup>4</sup>、高野弘基<sup>5</sup>、  
小野寺理<sup>6</sup>、西澤正豊<sup>5</sup>、森下 真一<sup>2</sup>、辻 省次<sup>1</sup>  
(1. 東京大学医学部神経内科  
2. 東京大学大学院新領域創成科学学科情報生命科学専攻  
3. 岐阜大学医学教育開発センター  
4. 岐阜大学生命科学総合研究支援センター  
5. 新潟大学脳研究所神経内科  
6. 新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター)
- 2) ペルオキシソーム病の診断、病態解明研究  
：下澤伸行  
(岐阜大学生命科学総合研究支援センター)
- 3) 副腎白質ジストロフィーの治療薬開発：ミスセンス変異 ABCD1 タンパク質の安定化を指標にしたスクリーニング系の構築  
：守田雅志、川口甲介、今中常雄  
(富山大学大学院・医学薬学研究部)

10 : 40 座長 下澤伸行

- 4) 小児大脳型 ALD における病型特異的な突発性徐波成分の特徴  
：崎原ことえ、軍司敦子、稲垣真澄、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知的障害研究部)
- 5) ペルオキシソーム病において極長鎖脂肪酸を含有するリン脂質クラスの分析  
：横山和明  
(帝京大学薬学部)

11:00

座長 大野耕策

- 6) ポンペ病患者細胞におけるオートファジー誘導機構の解析  
: 嶋田洋太<sup>1</sup>、西山由梨佳<sup>1</sup>、小林博司<sup>1</sup>、衛藤義勝<sup>2</sup>、井田博幸<sup>3</sup>、大橋十也<sup>1</sup>  
(1. 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所 遺伝子治療研究部  
2. 東京慈恵会医科大学 遺伝病研究講座  
3. 東京慈恵会医科大学 小児科学講座)
- 7)  $\beta$ -ガラクトシダーゼシヤペロン NOEV の化学合成と生物活性  
: 鈴木義之  
(国際医療福祉大学)
- 8) Molecular characteristics of mutant galactocerebrosidase  
: Mohammad Arif Hossain、酒井規夫  
(大阪大学大学院医学系研究科小児科学研究室)
- 9) 大規模 exome 解析に基づく、シヌクレイノパチーに関連するライソゾーム病遺伝子変異の検討  
: 三井 純<sup>1</sup>、Budrul Ahsan<sup>1</sup>、石浦浩之<sup>1</sup>、市川弥生子<sup>1</sup>、吉村 淳<sup>2</sup>、土井晃一郎<sup>2</sup>、後藤 順<sup>1</sup>、森下真一<sup>2</sup>、辻 省次<sup>1</sup>  
(1. 東京大学医学部神経内科  
2. 東京大学大学院新領域創成科学学科情報生命科学専攻)

11:40

研究費経理の処理に関して：千葉亜由美（東京慈恵会医科大学財務部研究支援課）

☆☆ 休憩 (60分) : 大学管理棟 9階カンファレンスルームA・B ☆☆

13:00

ご挨拶 厚生労働省健康局疾病課 課長 山本尚子  
(課長補佐 中尾武史)

13:10

座長 大澤真木子

- 10) ライソゾーム病におけるミトコンドリア呼吸鎖酵素活性の検討  
: 村山 圭、高柳正樹  
(千葉県こども病院代謝科)
- 11) ファブリー病患者血中 Gb3 および Lyso-Gb3 の測定と解析  
: 兎川忠靖<sup>1</sup>、櫻庭 均<sup>2,3</sup>  
(1. 明治薬科大学 生体機能分析学  
2. 明治薬科大学 分析科学  
3. 明治薬科大学 臨床遺伝学)

12) ファブリー病の心筋肥大に対する酵素補充療法の効果

: 坪井一哉

(名古屋セントラル病院 ライソゾーム病センター・血液内科)

13 : 40

座長 遠藤文夫

13) Krabbe 病、ムコ多糖症に対する遺伝子治療

: 小林博司<sup>1</sup>、有賀賢典<sup>2</sup>、嶋田洋太<sup>1</sup>、衛藤義勝<sup>3</sup>、井田博幸<sup>2</sup>、  
大橋十也<sup>1</sup>

(1. 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所 遺伝子治療研究部

2. 東京慈恵会医科大学 遺伝病研究講座

3. 東京慈恵会医科大学 小児科学講座)

14) Niemann-Pick 病 C 型の早期発見に有用な検査所見の探索

: 衛藤 薫、伊藤 康、大澤真木子

(東京女子医科大学小児科)

15) D-bifunctional protein 欠損症 2 例における詳細な臨床経過

: 塩田睦記、大澤真木子

(東京女子医科大学小児科)

16) ニーマンピック病の臨床および病態の研究

: 平山雅士、高橋 勉

(秋田大学小児科)

14 : 20

座長 高柳正樹

17) ベータガラクトシダーゼ欠損症に対するシャペロン療法

: 難波栄二

(鳥取大学生命機能研究支援センター遺伝子探索分野)

18) ムコソルバンによるゴーシェ病の神経症状への治療～シャペロン療法の実際～

: 成田 綾、大野耕策

(鳥取大学医学部脳神経小児科)

19) ゴーシェ病 III 型の骨髄移植症例

: 芳野 信、渡邊順子

(久留米大学医学部小児科学)

休憩 (10分)

15:00

座長 櫻庭 均

- 20) 副腎白質ジストロフィー患者の初期症状と受療行動について  
: 鈴木康之  
(岐阜大学医学教育開発研究センター)
- 21) Iduronate 2-sulfatase knock-out mouse における中枢神経病変の電子顕微鏡的検索  
: 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)
- 22) スフィンゴ脂質活性化タンパク質-サポシンの機能解析  
: 松田純子  
(東海大学未来科学技術共同研究センター)

15:30

座長 奥山虎之

- 23) 脳室内へのベクター投与によるライソゾーム病の遺伝子治療  
: 山崎吉之、島田 隆  
(日本医科大学分子遺伝学)
- 24) ラ  
ライソゾーム病患者皮膚細胞由来 iPS 細胞の作製と、それを用いたライソゾーム病の病態解析への試み  
: 樋口 孝、衛藤義勝  
(東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座)
- 25) Hunter 病患者の成長パターンと早期診断について  
: 鈴木康之  
(岐阜大学医学教育開発研究センター)

16:00

座長 鈴木康之

- 26) ライソゾーム病のスクリーニング  
: 小須賀基通、奥山虎之  
(国立成育医療研究センター臨床検査部)
- 27) ファブリー病のスクリーニング  
: 服部希世子、中村公俊、遠藤文夫  
(熊本大学医学部附属病院小児科)
- 28) ハイリスクスクリーニングで発見されたファブリー病患者の CKD 重症度  
: 北川照男<sup>1</sup>、鈴木 健<sup>1</sup>、石毛信之<sup>1</sup>、大橋十也<sup>2</sup>、衛藤義勝<sup>3</sup>  
(1. (財)東京都予防医学協会、  
2. 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部、

3. 東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座)

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

日 時：平成 24 年 10 月 6 日 (土) 15 時 10 分～  
場 所：東京プリンスホテル「マグノリアホール」

**15:10**

今後の研究について：衛藤義勝

(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 班長)