

分担研究報告書

I. 病像把握

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 354,000 名中 84 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、5名の男児に認められた。また、ファブリー病を発症しうると考えられる変異は19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9,000名に1名、古典型ファブリー病の頻度は、男性の約35,000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9,200名の α ガラクトシダーゼ酵素活性を測定した。39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。これとは別に23名のE66Q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270人に1人、78人に1人、197人に1人であった。

さらに、DS3スコアリングを用いたファブリー病スクリーニングによって発見された患者の予後の検討をおこなった。すると、酵素補充治療前にスコア15点以上の患者では、治療開始後もスコアの平均点は約5点悪化していた。一方、酵素補充治療前のスコア15点未満の患者では、スコアの平均点が約1点改善しており、少なくとも臨床症状の悪化を防ぐことができていることがわかった。すなわち、スクリーニングによる早期発見は、臨床症状が軽度なうちに行う必要があることが明らかになった。

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。このスクリーニング検査は、ファブリー病の症状が軽度なうちにおこない、早期発見されると、酵素補充治療の効果も期待できた。一方、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。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) 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 Inherit Metab Dis.* (2012)35:777-785.

ファブリー病の心筋肥大に対する酵素補充療法の検討

分担研究者：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）

研究要旨

ファブリー病は、ライソゾーム病の一病型であり、細胞内のリソソーム加水分解酵素である α -galactosidase 活性の低下により、細胞内リソソームに globotriaosylceramide (GL-3：別名 Gb-3, CTH) などの糖脂質の蓄積を来す先天性代謝異常症である。ファブリー病に対する酵素補充療法の治療薬は、agalsidase alfa と agalsidase beta の 2 つの製剤が認められ市販されている。本研究では、日本人ファブリー病 31 症例に対し agalsidase alfa を使用した場合の酵素補充療法の有効性に関する検討を行った。agalsidase alfa 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。

A. 研究目的

ファブリー病は、ライソゾーム病の一病型であり、細胞内のリソソーム加水分解酵素である α -galactosidase 活性の低下により、細胞内リソソームに globotriaosylceramide (GL-3:別名 Gb-3, CTH) などの糖脂質の蓄積を来す先天性代謝異常症である。心筋肥大、心血管障害、腎障害に加え、疼痛、被角血管腫、角膜混濁などの多彩な症状が報告されている。遺伝形式は X 連鎖劣性遺伝形式であり、ヘテロ接合体 (heterozygote) の女性 (ヘテロ型) では無症状な症例から、心不全に至るほどの重篤な症例まで、その臨床経過は多彩となるのが近年になり報告され始めている。ファブリー病に対する酵素補充療法の治療薬は、現在、agalsidase alfa と agalsidase beta の 2 つの製剤が認められ、共に欧州で 10 年前より市販されている。本研究では、日本人ファブリー病患者に対し心臓超音波検査 (心エコー) および心電図検査を行い、心筋肥厚、左心筋肥大に対する agalsidase alfa を使用した場合の酵素補充療法の有効性に関する検討を行った。

B. 研究方法

1. 対象

当院受診したファブリー病患者のうち agalsidase alfa で酵素補充療法を 24 ヶ月以上施行している 31 症例を対象とした。

2. 方法

古典型で agalsidase alfa 単独で治療した群 (I a 群) と、agalsidase beta から agalsidase alfa に変更した群 (I b 群)、ヘテロ型で agalsidase alfa 単独で治療した群 (II a 群) と、agalsidase beta から agalsidase alfa に変更した群 (II b 群) の 4 群に分類し、6 か月毎に心臓超音波検査、心電図を行った。心臓超音波検査では心室中隔壁厚 (IVSd)、左室後壁厚 (LVpww)、駆出率 (EF)、左室心筋重量 (LV mass) の 4 項目と、心電図は RV5+SV1 の 1 項目で評価を行った。

また、心臓超音波検査にて心肥大が認められる症例と認められない症例の 2 群に分類し比較検討を行った。心肥大を伴うファブリー病患者は、古典型 5 症例、ヘテロ型 12 症例であり、

心肥大伴わないファブリー病患者は、古典型 7 症例、ヘテロ型 5 症例であった。心肥大の基準は、壁肥厚が IVSd または LVpww が 11mm 以上とした。

(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」に基づき、名古屋市立大学および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。また、解析にあたり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

心エコー検査で、LV mass の減少傾向が認められた。EF は維持され、IVSd および LVpww の減少を認めたことから、酵素補充療法により心筋に蓄積されていた代謝産物の減少が考えられた。本研究では観察期間が短く (36 ヶ月) 症例数も限られていたため慎重な検討が必要であるが、切り替え群 (I b, II b) および心肥大あり群で有意に LV mass の減少が認められた。心肥大なし群では、治療開始後も心肥大は認められず、病状の悪化は認められなかった。

心電図では心肥大を示唆する RV5+SV1 で評価を行ったが、治療開始前と各観察時において有意な差は認められなかった。

D. 考察

ファブリー病は酵素活性の低下により、多くの組織に Gb-3 が蓄積し、特に、心臓では心筋細胞のリソソーム内に蓄積を認め、心筋の腫大、不整脈、伝導障害などを高頻度に呈し、心機能低下は進行性である。ファブリー病に対する酵素補充療法は、欧州で 2001 年に承認され、本邦においても、2004 年に承認された。治療の有効性に関しては、心筋生検、腎生検により組織中内の GL-3 の蓄積の減少が報告されているが、報告例が少なく、定期的に行うには極めて侵襲性が高い。本研

究において心臓エコー検査で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。また、心臓エコー検査による定期的な LV mass の計測は、治療効果を評価する上で有用であると考えられた。

E. 結語

agalsidase alfa 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。なお、検討した症例数および評価項目が少ないことから、今後、更なる検討が必要と考えられる。

◇今度の検討課題

現在、ファブリー病患者の予後因子として各種サイトカイン (ICAM-1, VEGF など) に加え、腎機能の評価として蛋白尿・アルブミン尿に関しても解析中である。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

- 1) Tsuboi, K., S. Suzuki, et al. "Descriptive Epidemiology of Fabry Disease Among Beneficiaries of the Specified Disease Treatment Research Program in Japan." *Journal of Epidemiology* 22(4): 370-374.2012
- 2) Tsuboi, K. and H. Yamamoto (2012). 3-year follow up data on Japanese Fabry disease patients switching from agalsidase beta to agalsidase alfa. 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders, 17th Japanese Society of Lysosomal Storage Disorders Joint Meeting, Tokyo, Japan.
- 3) Tsuboi, K. and H. Yamamoto (2012). "Clinical observation of patients with Fabry disease after

switching from agalsidase beta (Fabrazyme) to agalsidase alfa (Replagal).” Genetics in Medicine advance online publication (in press).

- 4) Yamamoto, H. and K. Tsuboi (2012). “Age-influence upon Auditory Dysfunction in Patients with Fabry Disease.” Journal of Transportation Medicine 64(3,4): 25-29.
- 5) 後藤裕美, 曾村富士, et al. (2012). 当院におけるファブリー病の心症状の特徴と酵素補充療法の効果. 第54回日本先天代謝異常学会総会, 岐阜.
- 6) 山本浩志, 坪井一哉, et al. (2012). 鼻咽腔粘膜から見たファブリー病へミ接合体とヘテロ接合体の比較. 第54回日本先天代謝異常学会総会, 岐阜.
- 7) 坪井一哉, 山本浩志, et al. (2012). アガルシダーゼベータからアガルシダーゼアルファに切り替えたファブリー病13症例の検討. 第54回日本先天代謝異常学会総会, 岐阜.
- 8) 田中あけみ, 坂口知子, et al. (2012). ムコ多糖症ハイリスク・スクリーニングの試み. 第39回日本マス・スクリーニング学会学術集会, 東京.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

新しい診断法の開発(酵素補充療法)

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

ライソゾーム病の早期発見・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、治療可能なライソゾーム病 5 疾患を対象にした血液ろ紙検体による簡便かつ迅速なスクリーニング法の開発を目標とした。健康対照者 284 検体およびハーラー症候群、ハンター症候群、ゴーシェ病、ポンペ病、ファブリー病患者 70 検体を対象として、Liquid Logic™ Newborn Screening Analyzer によるライソゾーム病 5 疾患の酵素活性値の同時測定を行った。その結果、すべてのライソゾーム酵素活性測定において健康対照者と患者を鑑別することが可能であった。今後は検体数を増やし酵素活性測定値の結果を蓄積し、本法によるスクリーニングにおける適正なカットオフ基準値の設定について検討していく。

A. 研究目的

ライソゾーム病に対する酵素補充療法は、症状が進行する以前に開始することにより最大の治療効果が得られるため、ライソゾーム病の早期発見・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の開発が注目されている。

我々は、すでにライソゾーム病のひとつであるポンペ病の酵素活性測定をろ紙微量血液検体を用いて可能とし、新生児マススクリーニングを開始した。本研究では、現在、我が国で酵素補充療法による治療が可能であるライソゾーム病 5 疾患のライソゾーム酵素をろ紙微量血液検体を用いて同時測定することにより新生児マススクリーニングを可能とする系の確立を目標とした。

B. 研究方法

ろ紙微量血液検体を用いて、 α -L-イズロニダーゼ（ハーラー症候群）、イズロネート酸-2-スルファターゼ（ハンター症候群）、 β -グルコセレブロシダーゼ（ゴーシェ病）、酸性 α -グルコシダーゼ（ポンペ病）、 α -ガラクトシダーゼ（ファブリー病）の各ライソゾーム酵素を Liquid Logic™ Newborn Screening Analyzer（Advanced Liquid Logic 社、米国）による 4 MU 法により同時測定を行った。検体は本研究に同意が得られた 284 名の健康新生児からなる正常対照群と 70 名の患者群（ハーラー症候群 4 名、ハンター症候群 15 名、ゴーシェ病 2 名、ポンペ病 31 名、ファブリー病 18 名）から得られたろ紙検

体を対象とした。

（「ライソゾーム病の新生児スクリーニング検査」、独立行政法人国立成育医療研究センター倫理委員会承認、平成 22 年 11 月 30 日、受付番号 443）。

C. 研究結果

対照群と患者群のそれぞれのライソゾーム酵素活性平均値は、 α -L-イズロニダーゼ 23.6 (9.3-41.9) および 2.1 (1.4-2.6) $\mu\text{mol/L/h}$ 、イズロネート酸-2-スルファターゼ 27.7 (15.2-51.3) および 8.3 (3.9-12.1) $\mu\text{mol/L/h}$ 、酸性 α -グルコシダーゼ 22.3 (9.4-46.6)、4.9 (2.3-8.3) および 5.7 (2.6-15.5、pseudodeficiency 群) $\mu\text{mol/L/h}$ 、 α -ガラクトシダーゼ 32.5 (1.3-90.5)、4.6 (1.9-8.9)、および 7.4 (2.7-19.2、女性保因者) $\mu\text{mol/L/h}$ 、 β -グルコセレブロシダーゼ 10 (4.7-22.1) および 1.93 (1.6-2.2) $\mu\text{mol/L/h}$ であった。

D. 考察

本研究では、対照群と患者群のライソゾーム酵素活性平均値は明らかに違いがみられ、Liquid Logic™ Newborn Screening Analyzer によるライソゾーム病スクリーニングが可能であることが示唆された。しかしポンペ病の pseudodeficiency（偽陰性）とファブリー病の女性保因者の酵素活性値は一部が患者群あるいは対照群の結果とオーバーラップする結果もみられた。スクリーニングを実施するにあたり、これらの問題点を克服する必要がある。した

がって、さらに検体数を増やし酵素活性測定値の結果を蓄積し、本法によるスクリーニングにおける適正なカットオフ基準値の設定について検討していく必要である。

E. 結論

284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。

F. 研究成果

1. 論文発表

- 1) Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Takakura H, Sawada T, Tanaka T, Otomo T, Ohashi T, Ishige-Wada M, Yabe H, Ohura T, Suzuki N, Kato K, Adachi S, Kobayashi R, Mugishima H, Kato S. Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: A nationwide survey in Japan. *Mol Genet Metab.* 2012;107:513-520.
- 2) Sasaki T, Niizeki H, Shimizu A, Shiohama A, Hirakiyama A, Okuyama T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Ishiko A, Tanese K, Miyakawa SI, Sakabe JI, Kuwahara M, Amagai M, Okano H, Suematsu M, Kudoh J. Identification of mutations in the prostaglandin transporter gene *SLCO2A1* and its phenotype-genotype correlation in Japanese patients with pachydermoperiostosis. *J Dermatol Sci.* 2012;68:36-44.
- 3) ○Hwu WL, Okuyama T, But WM, Estrada S, Gu X, Hui J, Kosuga M, Lin SP, Ngu LH, Shi H, Tanaka A, Thong MK, Wattanasirichaigoon D, Wasant P, McGill J. Current diagnosis and management of mucopolysaccharidosis VI in the Asia-Pacific region. *Mol Genet Metab.*2012;107:136-144.
- 4) ○D'Aco K, Underhill L, Rangachari L, Arn P, Cox GF, Giugliani R, Okuyama T, Wijburg F, Kaplan P. Diagnosis and treatment trends in mucopolysaccharidosis I: findings from the MPS I Registry. *Eur J Pediatr.*2012;171:911-919.

2. 学会発表

(海外)

- 1) M.Kosuga, Fuji N, Kida K, Okuyama T. Newborn screening for infantile Pompe disease:Report of a pilot study in National

Center for Child Health and Development, The American Society Of Human Genetics 62nd Annual Meeting,Nov.8 2012,San Francisco,USA.

- 2) Kosuga M, Fuji N, Kida K, Okuyama T. Newborn Screening for infantile-onset Pompe disease in National Center for Child Health and Development. 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders, 17Th Japanese Society of Lysosomal Storage Disorders Joint Meeting, October.4-6,2012.Tokyo,Japan.

(国内)

- 1) 藤直子、小須賀基通、開山麻美、荒木尚美、五十嵐仁美、木田和宏、奥山虎之. Liquid Logic Newborn Screening Analyzer を用いた新生児スクリーニング. 第54回日本先天代謝異常学会、岐阜、2012.11.16.

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

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

分担研究者：北川 照男（(公財) 東京都予防医学協会 理事長）

研究要旨

われわれが開発した Fabry 病スクリーニング法で 2004 年から 2010 年の 7 年間に診断した 202 症例（男性 105 例、女性 97 例）について、eGFR 値、尿蛋白量を用いて 2012 年に改変された KDIGO CKD ガイドラインによって Fabry 病診断時の重症度の staging を試みた。2004 年から 2006 年の前半 3 年間に診断した症例に比べて 2007 年から 2010 年の後半 4 年間に診断した症例では重症例が減少して軽症例が増加する結果が得られ、本症のスクリーニングがファブリー病の予後の向上に有用であることを明らかにした。

研究協力者：

鈴木 健（公財）東京都予防医学協会
石毛信之（公財）東京都予防医学協会
藤川研人（公財）東京都予防医学協会
穴澤 昭（公財）東京都予防医学協会
大和田操（公財）東京都予防医学協会
大橋十也 東京慈恵会医科大学小児科
井田博幸 東京慈恵会医科大学小児科
衛藤義勝 東京慈恵会医科大学小児科

A. 研究目的

Fabry 病 (FD) は慢性腎臓病 Chronic Kidney Disease (CKD) の一疾患であり、腎不全を予防するには、その家族歴が認められたり、本症に似た症状を呈する症例について早い時期に本症をスクリーニングして早期に治療を開始する必要がある。FD 患者の重症度を評価する指標としては、いろいろな重症度のスコアが開発されている。CKD の重症度分類は、腎合併症の重症度の評価が中心であるが、2012 年に日本腎臓学会が CKD の重症度分類を改訂したので、本症が疑われる症状や家族歴が認められるた

めに、FD か否かの検査を依頼されて本症と診断した患者の CKD staging を、新しい分類に従って検討したので報告する。

B. 対象および研究方法

【対象】全国の 114 の病院・クリニックから依頼された、FD が疑われる症状や家族歴のあるハイリスク症例 202 名の酵素補充療法開始前の随時尿と、そのスクリーニング陽性者の尿と血漿を研究対象とすると共に、健常成人 432 名の随時尿および 211 名の血漿を対象として本研究を行った。

【方法】一次スクリーニングは、尿 α -gal A 蛋白を ELISA 法で測定し、陽性の時は一次検査と同様に尿 α -gal A 蛋白を測定するとともに、尿 globotriaosylceramide (GL-3) をタンデム質量分析計 (MS/MS) で測定した。この検査で陽性のものは、血漿 α -gal A 蛋白測定に加えて、 α -gal A 活性を Chamoles 法の変法で測定した。検査結果が陽性のものは、主治医の了解の下に東京慈恵会医科大学小児科に遺伝子解析による診断を依頼し、最終的に FD 患者と診断さ

れた症例については、主治医から臨床診断名、治療状況等の報告を受け、これをもとにこれらの症例のCKDのstage分類を行い、検討した。

【CKDの定義、およびGFRと蛋白尿による重症度ランキング表】

1) 尿に異常があったり、腎臓病を示す血液生化学的所見が認められたり、腎臓のX線、超音波検査等に異常所見がみられたり、腎病理所見に異常がある。2) GFRが60mL/min/1.73m²以下で、1)と2)の所見が3か月以上継続するものをCKDと定義されているので、本報告でもこれを用いた。

図1にGFRと蛋白尿による重症度ランキング表を示した。この表は2009年度から米国で使用されており、2012年に日本腎臓学会が改訂したもので、緑色のカラムはあまり心配のないもの、黄色は危険の軽いもの、橙色は進行する危険のあるもの、赤色は高度な危険のあるものに分類されており、これをFDと診断された症例の重症度分類に使用した。

C. 研究結果

1. 図2および図3に示すように、ハイリスク症例のスクリーニング成績は、男性105名のうち最終結果を得たのは88名であったが、古典型49例、心型亜型7例、腎型亜型5例が診断され、正常27名であった。女性97名のうち最終結果を得たのは76名であったが、古典型40例、心型亜型9例、腎型亜型5例、正常22名であった。

2. 図4にはFDへミ接合体と診断された61例の中でe-GFR、蛋白尿のすべてが報告された58症例の診断時のcomposite rankingと年齢を示した。46.6%の症例は、予後が最も良好なグループに属し、17.2%は最もリスクの高いグループに属していた。また、予後良好なグループの症例の48.2%は19歳未満、そのグループの症例の63.2%は29歳未満であり、若い年

齢の者が多く、最もリスクの高い予後不良群では、その90%が30歳以上であり、60%が50歳以上であった。従って、FDはなるべく早くにスクリーニングして20歳までに診断するか、遅くとも30歳までに診断すると治療成績が良いと思われた。

図5に示すように、54例の女性のうち個々の症例の尿蛋白量、e-GFRおよび年齢が報告されたのは51例で、その68.1%の症例がリスクの最も低い予後良好なグループであり、11.8%が最もリスクの高い予後不良のグループであった。この結果から、ヘテロ接合体はヘミ接合体に比較すると、ハイリスクスクリーニングで予後良好な症例が多く発見されるので、これを早期に受ければ患者の予後は一層良好になると思われた。

ハイリスクスクリーニングで診断された男性FD患者の年度別のCKD重症度の変化をみると、2004年～2006年に診断された症例と2007年～2010年に診断された症例のCKD重症度を比較すると、後者は前者に比べてCKDの軽症例が増加し、CKD重症例は減少の傾向を示した(図6)。

D. 考察および結語

α -gal A蛋白値の低下とGL-3の蓄積はFD患者の予後を左右する重要な因子であるが、年齢も腎臓能障害を悪化させる他の因子と思われる。

FDの臨床診断は屢々困難であるので、20～30歳にその疑いのある症例についてスクリーニングを行うことは、腎機能障害を予防する上でも、致命的な予後を改善する上でも有用である。

もしも、患者において尿蛋白がみられるならば、早期診断と治療を可能にするために、FDもその考えの中に入れてハイリスクスクリーニングを早く行うべきと思われる。

E. 研究発表

1. 学会発表

- 1) Kitagawa T: Screening for Fabry disease(FD) in Patients Referred to Metabolic or Nephrologic clinics and Patients Referred to Dialysis Centers. The 2nd ACIMD/12th AEWIEM/12th KCIMD Joint Meeting, ISSN, Vol12 Supple.1 ,Symposium II, P42, 2012.
- 2) 鈴木健, 石毛信之, 北川照男, 他 : CKD とファブリー病スクリーニング. 日本マス・スクリーニング学会誌, 22, 2, 60(172), 2012.
- 3) 鈴木健, 石毛信之, 北川照男, 他 : ハイリスクスクリーニングで診断された Fabry 病患者の CKD staging について . 日本先天代謝異常学会雑誌, 28, 162, 2012.

E. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

図1. GFRと蛋白尿による重症度ランキング表

正常グループ ◻ 軽症グループ ◻ 中等症グループ ◻ 重症グループ ◼

蛋白尿基準,区分および範囲 (urinary protein/creatinine g/g)			A1	A2	A3
			正常～痕跡 <0.15	中等度 0.15~0.49	重度 ≥0.50
GFR 基準, 区分および範囲 (ml/min/1.73m ²)			G1 正常 >90	◻	◻
			G2 わずかな減少 60~89	◻	◻
G3a わずか~中等度の減少 45~59	◻	◻	◼		
G3b 中等度~重度の減少 30~44	◻	◼	◼		
G4 重度の減少 15~29	◼	◼	◼		
G5 腎不全 (ESKD) <15	◼	◼	◼		

Composite ranking for relative risks by GFR and Proteinuria at the Conference of Kidney Disease : Improving Global Outcome (KDIGO) 2009 was modified for Japanese in 2012

図2. ファブリー病ハイリスク症例の検査~診断までの経緯 (2004-2010)

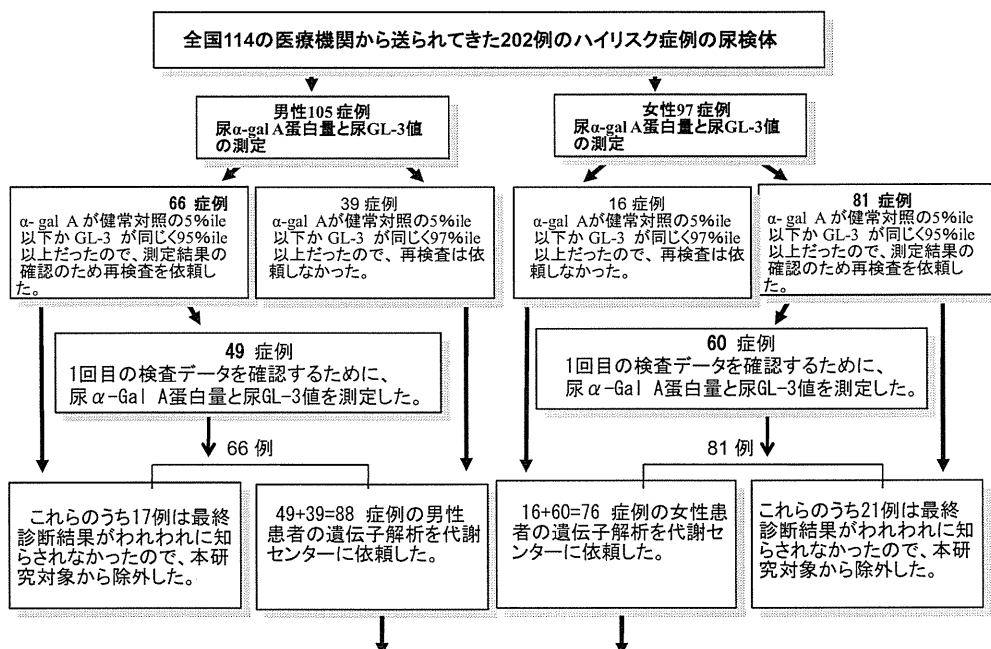


図.3 ファブリー病患者の遺伝型・表現型調査結果

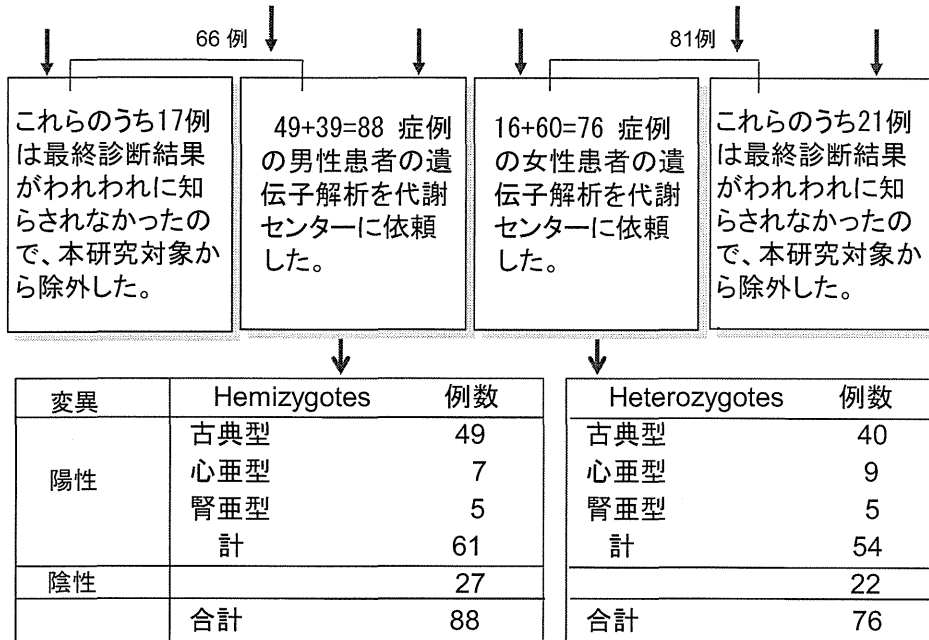
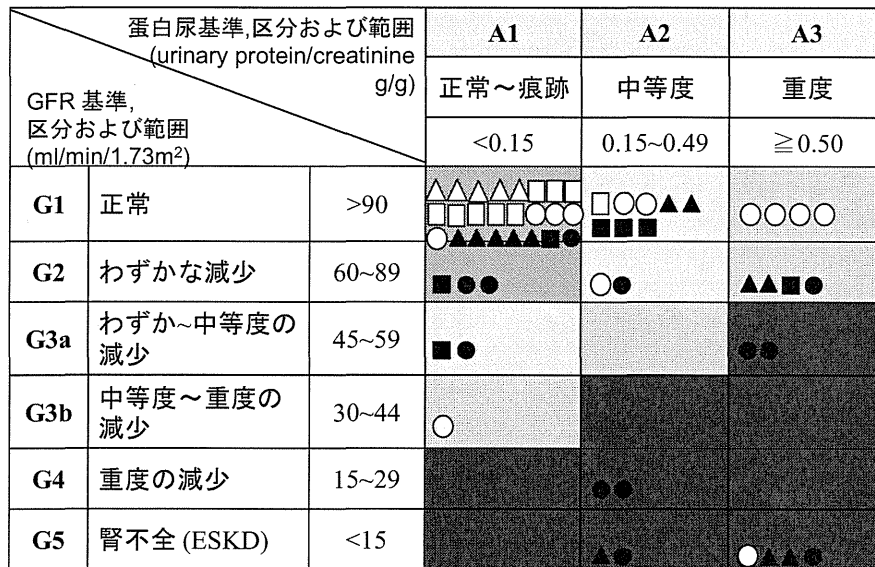


図4. GFRと蛋白尿による重症度ランキング表 (男性)

年齢区分 △ : <10 □ : 10~19 ○ : 20~29 ▲ : 30~39 ■ : 40~49 ● : >50



Composite ranking for relative risks by GFR and Proteinuria at the Conference of Kidney Disease : Improving Global Outcome (KDIGO) 2009 was modified for Japanese in 2012

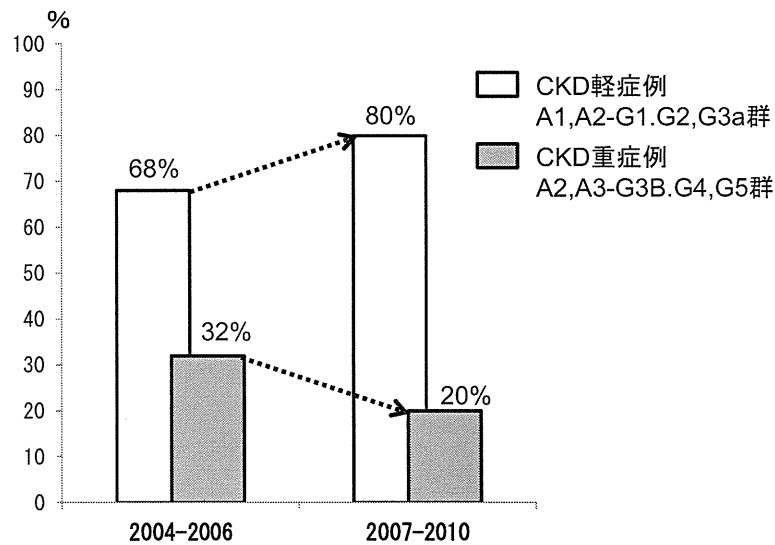
図5. GFRと蛋白尿による重症度ランキング表（女性）

年齢区分 △: <10 □: 10~19 ○: 20~29 ▲: 30~39 ■: 40~49 ●: >50

蛋白尿基準,区分および範囲 (urinary protein/creatinine g/g)			A1	A2	A3	
			正常~痕跡	中等度	重度	
			<0.15	0.15~0.49	≥0.50	
GFR 基準, 区分および範囲 (ml/min/1.73m ²)	G1	正常	>90	△△△△△ □□□□□ ○○○○○ ▲▲▲▲▲ ■ ■ ■ ■ ■ ●●●●●	○	▲▲▲■
	G2	わずかな減少	60~89	▲▲▲●●	●	●
G3a	わずか~中等度の減少	45~59	▲■●	●	●	
G3b	中等度~重度の減少	30~44		●	●●	
G4	重度の減少	15~29				
G5	腎不全 (ESKD)	<15				

Composite ranking for relative risks by GFR and Proteinuria at the Conference of Kidney Disease : Improving Global Outcome (KDIGO) 2009 was modified for Japanese in 2012

図6. ハイリスクスクリーニング診断年度別ファブリー病患者CKD重症度の変化(男性)



副腎白質ジストロフィー患者の受療行動と診断の遅れ

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

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した。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。

研究協力者

下澤伸行（岐阜大学）

A. 研究目的

副腎白質ジストロフィー(ALD)は中枢神経の脱髄、副腎機能障害、極長鎖脂肪酸の蓄積を特徴とする X 連鎖劣性遺伝病であり、造血幹細胞移植による治療が行われているが、治療成績の向上には早期診断が不可欠である。今回、22 例の小児・思春期大脳型 ALD 患者の発病初期の受療行動について検討したので報告する。

B. 研究方法

ALD 親の会の協力を得て、患者の発病初期の症状と受療行動について調査した。

（倫理面への配慮）本研究は匿名化されたデータを使用した。

C. 研究結果及び考察

1) 初期症状

学業不振・記憶障害	14 名
不器用・動作緩慢	12
転倒	12
視力低下	11
性格変化・対人関係の悪化	7
易疲労性	3
てんかん発作	3

不器用・動作緩慢は従来あまり強調されてこなかった初期症状である。

2) 初期症状の発見者

母 22 名、教員・保育士 7 名、父 3 名、友人 2 名であった。教員・保育士の観察は重要である。

3) 診断までに要した医療機関

3 機関以上を受診した例が 12 名おり、2 名は 5 機関以上を受診していた。

4) 診断までに要した期間

診断まで 3 か月以上を要した例が 13 名おり、4 名は 1 年以上を要していた。

5) 診断までの受療行動（症例 1～5）

家族、医療機関、教育機関それぞれに問題点があり、一層の啓発が必要と思われた。

症例 1：8 歳過ぎから動作が鈍くなり、不器用になった。先生に反抗したり、友達とけんかをするようになった。遠足で変な歩きかたに気づかれ、斜視も出てきたため病院（眼科、整形外科）を受診したが、病名は不明であった。1 年後に全身痙攣をおこし、大学病院小児科で MRI の異常を認め、ALD と診断された。

症例 2：7 歳過ぎから動作が鈍くなり、足を引きずり、疲れやすくなった（スイミングクラブの指導者）。町の相談所で「赤ちゃんがえりしているので心のケアが必要」と言われた。神経内科で白質疾患を疑われたが、病名は不明であった。肺炎で小児科入院した際に ALD を疑われ診断された。

症例3：10歳過ぎから集中力がなくなり、書字拙劣、性格や行動も変わった。学校カウンセラーから子どもへの接し方を変えるよう指導を受け3か月経過観察。こども病院心理発達外来を受診、精査を勧められALDと診断された。

症例4：8歳過ぎから聞き返すことが多くなり、耳鼻科受診。聴力検査で異常なく、心因性かもしれないと言われた。かかりつけ小児科で、大学耳鼻科受診を勧められ、耳鼻科から精神科、精神科から小児科へと紹介され、診断された。

D. 考察

ALDは依然として早期診断の難しい疾患であり、初期症状の一層の啓発を行う必要がある。

E. 結論

小児ALD患者の発病初期の受療行動を明らかにした。早期診断のために一層の啓発が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし

分担研究報告書

Ⅱ. 病態解析

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

分担研究者：横山 和明（帝京大学薬学部教授）

研究要旨

Zellweger 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。

研究協力者氏名

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）

今中常雄（富山大学大学院医学薬学研究部 教授）

A. 研究目的

Zellweger 症候群 (ZS) や副腎白質ジストロフィー (ALD) などのペルオキシソーム病において、蓄積する極長鎖脂肪酸を含有している脂質の構造について、メタボローム解析の手法によって解析することにより、ALD発症診断マーカーを明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

ペルオキシソーム病患者の皮膚政権により得られた繊維芽細胞を、大量に培養し、回収してBligh & Dyer法により全脂質を抽出した。これをESI-LC-MS/MS法によるメタボローム解析に供し、極長鎖脂肪酸を含む分子種の構造を明らかにした。

（倫理面への配慮）

各所属機関における倫理委員会の審査を受け、承認を受けたうえで実施した。

C. 研究結果

ZSとALDの検体をESI-LC-MS法で解析したところ、両者ともリン脂質画分で通常では検出されない大きな分子量で疎水性の高いスポットが多数検出された。特にZSで著しいため、今年度の解析ではZSを優先し、昨年解析したホスファチジルコリンの分子構造をさらに詳細に解析するとともに、患者の個人差についても検討した。

ホスファチジルコリン (PC) のMS/MSフラグメントイオン解析では、脂肪酸のフラグメントイオンが検出されるが、各ピークとも極長鎖脂肪酸のシグナルと通常の脂肪酸を1本ずつ含んでいた。さらに、この解析ではグリセロール2位の脂肪酸のシグナルが強くなるが、ほとんどの分子種で極長鎖脂肪酸ではないシグナルの方が強かった。この結果から極長鎖脂肪酸を含有するPCの大部分の分子種では、極長鎖脂肪酸1本をグリセロール1位に結合することがわかった。

異なる患者由来のサンプルを比較したところ、意外にも共通するシグナルは半数以下であり、共通する分子種よりも異なる分子種が多いことがわかった。

D. 考察

今後実施するALDの解析においても、脂質分子種の解析において、個体差にも留意する必要があることがわかった。

E. 結論

ZS患者繊維芽細胞のPCの分子種を特定した。また患者間で個体差があった。

F. 研究発表

1. 論文発表

投稿準備中

2. 学会発表

- 1) 極長鎖脂肪酸含有脂質の定量解析による2つのペルオキシソーム病の比較、第 133 回日本薬学会、ファルマシア49巻号・頁未定・2013年3月

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

ペルオキシソーム病に関する診断・病態解明に関する研究

分担研究者：下澤 伸行（岐阜大学生命科学総合研究支援センターゲノム研究分野・教授）

研究要旨

平成 24 年の 1 年間の国内診断実績として、Zellweger 症候群 3 例、新生児型副腎白質ジストロフィー 1 例、副腎白質ジストロフィー(ALD) のうち、小児大脳型 5 例、成人大脳型 1 例、AMN 1 例、アジソン病 1 例、女性保因者 12 例、発症前患者 4 例を診断した。さらに海外症例の診断支援として 3 年間にアジア・中東のペルオキシソーム病を 15 例診断した。病態解明・治療法開発研究では 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、ペルオキシソ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、モルフォリノおよび TALEN を用いたペルオキシソ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。これらの成果はこの 1 年間に英文原著論文 6 編、和文総説 20 編として発表している。また 24 年度保険収載改訂では日本先天代謝異常学会を通じて、脂肪酸分析の保険収載に寄与した。

研究協力者

高島茂雄（岐阜大学ゲノム研究分野・助教）
本田綾子（岐阜大学ゲノム研究分野・研究補佐員）
梶原尚美（岐阜大学ゲノム研究分野・技術補佐員）
豊吉佳代子（岐阜大学ゲノム研究分野・
技術補佐員）
大場亜希子（岐阜大学ゲノム研究分野・
技術補佐員）

A. 研究目的

稀少疾患であるペルオキシソーム病を国内に周知し、診断システムを確立して早期診断、早期介入に繋げるとともに新たな疾患単位を発見する。さらに集積した患者リソースや iPS 細胞に、疾患モデル生物を用いて本症の病態解明から治療法の開発を進める。

B. 研究方法

1. ペルオキシソーム病診断システム：

ガスクロマトグラフィー質量分析計（GC/MS）および液体クロマトグラフィータンデム質量分析計(LC/MS/MS)を用いて患者血液よりペルオキシソーム代謝産物を測定し、細胞、タンパク、遺伝子レベルでの解析にて、確定診断を行う。

2. ペルオキシソーム病患者のiPS細胞樹立及び神経分化：

同意が得られたペルオキシソーム病患者の皮膚線維芽細胞に山中 4 因子を導入して iPS 細胞を樹立し、神経分化させ、対照との比較解析により病態を解明する。

3. 疾患モデル生物による検討：

- ALD ノックアウトマウスに催炎症性薬剤や外的要因を負荷し、中枢神経症状を発症させて大脳型 ALD モデルを作製し、発症機