

研究により Galc 欠損症であるクラッペ病においてサポシン C が欠損すると脳組織に著明な LacCer の蓄積をきたし、LacCer の蓄積と神経細胞死が時空間的相関を示すことがわかった。この結果はサポシン C が Bgal による LacCer の分解に必須であり、クラッペ病の神経病態に LacCer の分解異常が関与することを示唆する。この成果はクラッペ病の神経病態とその治療を考える上で重要である。

2) *Psap*<sup>-/-</sup> は全サポシンの欠損により全身組織に様々なGSLが蓄積し、重篤な神経症状を呈して、30日前後で死亡する (Fujita et al. *Hum Mol Genet.* 1996, 6: 711-725.)。 *Psap*<sup>-/-</sup> の出生率が極めて低いことはわかっていたが胎仔の解析は十分にはなされていなかった。本研究により PSAP/SAPs が胚発生において重要な生物機能を持つことが示唆された。胎生致死となる *Psap*<sup>-/-</sup> 胚では SAPs の欠損によって栄養膜巨細胞のライソゾームや臓側卵黄囊の巨大ライソゾームの機能低下が起こると考えられた。臓側卵黄囊は胎盤が形成される以前において、母体由来の栄養素をエンドサイトーシスによって取り込み、巨大ライソゾーム内で分解したのち、胎仔側へ供給すると考えられていることから、SAPs 欠損による巨大ライソゾームの機能障害は胎仔の発育障害をきたすと考えられる。胎盤は栄養膜巨細胞および海綿状栄養膜の異常により機能不全を起こし、胎仔の発育不全を引き起こすと考えられる。一方、羊水中の PSAP は成長因子や栄養成分の輸送タンパク質として胎生期に独自の機能を有している可能性がある。

3) GCase 酵素製剤はゴーシェ病に対する治療製剤であるが、他の酵素製剤と同様に血中での不安定性が問題の 1 つで、酵素の安定性を高める低分子化合物の開発やより安定で活性の高い酵素製剤の開発などの取り組みが行われている。我々は生体内でサポシン C が GCase による GlcCer の分解に必須であること、サポシン C ノックアウトマウス組織の GCase および Bgal の活性が界面活性剤存在下においても有意に低下すること (Yoneshige A, et al. *J. Neurosci. Res.* 2010, 88: 2118-2134.) に着目し、化学合成サポシン C の GCase 酵素製剤に対する影響を検討した。化学合成サポシン C はセレザイム®の活性化だけでなく、プロテアーゼからの保護や安定化にも有用であり、GCase 酵素タンパク質と直接相互作用して、保護タンパク質あるいはシャペロンタンパク質として作用することが示唆された。今後はゴーシェ病モデルマウスにセレザイム®とサポシン C を共投与し、ゴーシェ病の酵素補充療法におけるサポシン補充の有用性を検討していく必要がある。また、化学合成の利点を生かしてサポシンの糖鎖機能の解析を進める予定である

## E. 結論

1) Galc 欠損症であるクラッペ病においてサポシン C が欠損すると LacCer が蓄積しクラッペ病の神経病態が増悪することが明らかになった。この結果はサポシン C が Bgal による LacCer の分解に必須であり、クラッペ病の神経症状に LacCer の分解異常が関与することを示しており、クラッペ病の神経病態とその治療を考える

上で重要である。

2) PSAP/SAPs はマウスの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、羊水中には PSAP が胎仔から分泌され、マウスの胚発生に必須であることが明らかになった。この成果は PSAP/SAPs の新機能を解明する上で重要である。

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: GCCase の活性を上げ、安定化し、プロテアーゼによる GCCase の分解を抑制することを明らかにした。この成果は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示す。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) ○ Hisaki H, **Matsuda J**, Tadano-Aritomi K, Uchida S, Okinaga H, Miyagawa M, Tamamori-Adachi M, Iizuka M, Okazaki T. Primary polydipsia, but not accumulated ceramide, causes lethal renal damage in saposin D-deficient mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* (2012) **303**:F1049-1059.2) ○ Hojo H, Tanaka H, Hagiwara M, Asahina Y, Ueki A, Katayama H, Nakahara Y, Yoneshige A, **Matsuda J**, Ito Y, Nakahara Y. Chemoenzymatic synthesis of hydrophobic glycoprotein: synthesis of saposin C carrying complex-type carbohydrate. *J. Org. Chem.* (2012) **77**:9437-9446.
- 3) ○ Toyofuku T, Nojima S, Ishikawa T, Takamatsu H, Tsujimura T, Uemura A, **Matsuda J**, Seki T, Kumanogoh A. Endosomal sorting by Semaphorin 4A

in retinal pigment epithelium supports photoreceptor survival. *Genes Dev.* (2012) **26**:816-829.

### 2. 著書

- 1) ○ **松田純子**、米重あづさ: サポシンA 欠損症. 先天代謝異常症候群 第2版 (下) - 病因・病態研究、診断・治療の進歩-. 日本臨牀 別冊. 2012年12月20日発行 p. 508-512.
- 2) ○ **松田純子**、米重あづさ: サポシンB 欠損症. 先天代謝異常症候群 第2版 (下) - 病因・病態研究、診断・治療の進歩-. 日本臨牀 別冊. 2012年12月20日発行 p. 513-517.
- 3) ○ **松田純子**、米重あづさ: サポシンC 欠損症. 先天代謝異常症候群 第2版 (下) - 病因・病態研究、診断・治療の進歩-. 日本臨牀 別冊. 2012年12月20日発行 p. 518-522.
- 4) **松田純子**: シアリドーシス. 先天代謝異常症候群 第2版 (下) - 病因・病態研究、診断・治療の進歩-. 日本臨牀 別冊. 2012年12月20日発行 p. 580-583.
- 5) **松田純子**: シアリドーシス. 先天代謝異常ハンドブック. 中山書店. 2013年3月発行予定.

### 3. 学会発表:

- 1) 武藤真長、米重あづさ、昼沢良介、吉村真一、**松田純子**: プロサポシン強発現マウス胚組織の表現型解析. 第85回日本生化学会大会2012年12月14-16日福岡.
- 2) 昼沢良介、武藤真長、米重あづさ、吉村真一、**松田純子**: プロサポシン強発

- 現マウスの精巢の表現型解析. 第85回日本生化学会大会2012年12月14-16日 福岡.
- 3) 米重あづさ、北條裕信、武藤真長、松田純子：化学合成サポシンCのグルコシルセラミド・グルコシダーゼ活性への影響. 第85回日本生化学会大会2012年12月14-16日 福岡.
- 4) 吉川 彩、武田選理子、米重あづさ、松田純子：クラッベ病モデルマウスの免疫組織の病態解析. 第85回日本生化学会大会2012年12月14-16日 福岡.
- 5) 吉川 彩、武田選理子、米重あづさ、松田純子：クラッベ病モデルマウスの免疫系組織の病態解析. 第54回日本先天代謝異常学会2012年11月15-17日 岐阜.
- 6) Yoneshige A., Hojo H., Mutou M., Matsuda J. The activity of chemically synthesized saposin C on glucosylceramide- $\beta$ -glucosidase 第4回国際ライソゾーム病フォーラム 第17回日本ライソゾーム病研究会 2012年10月4-6日 東京.
- 7) Matsuda J, Watanabe T, Yoneshige A, Koike A, Mutou M, Suzuki A. Role of hydroxylation at sphinganine C-4 of glycosphingolipids in the mouse. The 26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012), P583, July, 22-17, 2012, Madrid, Spain.
- 8) Mutou M, Yoneshige A, Watanabe T, Matsuda J. Role of prosaposin in the embryogenesis of mouse. The 26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012), P238, July, 22-17, 2012, Madrid, Spain.
- 9) Yoneshige A, Mutou M, Watanabe T, Tano C, Hojo H, Matsuda J. The effects of chemically synthesized saposin C on glucosylceramide- $\beta$ -glucosidase. The 26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012), P611, July, 22-17, 2012, Madrid, Spain.
- 10) 渡辺昂、米重あづさ、小池礼華、武藤真長、Hama, H.、鈴木明身、松田純子：スフィンゴ糖脂質セラミド骨格の構造多様性と生物機能に関する研究. 第54回日本脂質生化学会2012年6月7-8日 福岡.

F. 知的財産権の出願・登録状況  
とくになし

## D-bifunctional protein 欠損症の2例

分担研究者：大澤真木子（東京女子医科大学医学部小児科学）

### 研究協力者：

塩田 睦記<sup>1)</sup>、下澤 伸行<sup>2)</sup>  
東京女子医科大学 医学部 小児科学<sup>1)</sup>  
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<sup>2)</sup>

### A.研究目的

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  
見を研究する。

### B.研究方法

遺伝子検査で確定したDBP欠損症の2例（7  
か月男児典型例、2歳2か月女児非典型例）  
の詳細な臨床経過を後方視的に研究した。

### C.研究成果

病初期には DBP 欠損症として臨床症状、  
検査所見とも非典型的な症例でも繰り返し  
検査する必要性を示したので、今後確定診  
断する症例が増加することが期待できる。

### D.考察

症例1は典型的な経過であったが、症例  
2では病初期には非典型的な臨床像だった。  
症例2では、DBP欠損症でしばしば認められ  
る肝腫大や特異顔貌はあるものの、逆に、  
ほとんどの症例で認められている新生児期  
からの筋緊張低下は認めなかった。新生児  
けいれんは DBP 欠損症の 90%以上に合併す  
るが、鑑別する疾患が多く特異性が低く、

診断には直結しない。さらにペルオキシゾー  
ム病に特異的な極長鎖脂肪酸の上昇が症  
例2では病初期には軽度だった。しかし、  
最近の報告では、軽症例では、極長鎖脂肪  
酸の上昇が軽度であったり、線維芽細胞で  
のみ極長鎖脂肪酸上昇が認められたりして  
いる。表現型は遺伝子変異による残存酵素  
活性に左右される。症例2は、DBP欠損症  
の平均死亡年齢の9ヶ月より長期生存であ  
り、DBP欠損症としては軽症であった。こ  
のような症例では、病初期から確定診断を  
することは困難である。症例2の様に最終  
的には典型的な経過となった場合には、病  
初期に極長鎖脂肪酸が上昇していなくても、  
繰り返し検査することが必要であると考え  
られた。

### E.結論

DBP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。また、DBP欠  
損症を疑った場合には、病初期に極長鎖脂  
肪酸が上昇していなくても、繰り返し検査  
することが必要である。

### F.研究発表

1) 塩田 睦記)、舟塚 真)、小田 絵理)、  
白戸 由理、竹下 暁子)、石垣 景子、  
斎藤 加代子、下澤 伸行)、大澤 真木子：  
極長鎖脂肪酸の反復検査で診断し得た  
D-bifunctional protein欠損症の1例 東京  
女子医大雑誌 第83巻 第E1号 受理

(平成25年1月31日発行予定)

- 2) 田良島美佳子、中野和俊、小野由子、大澤真木子、脳MRI所見の経年的変化を基にしたLeigh症候群の亜型分類 東京女子医大雑誌 第83巻 第E1号 受理 (平成25年1月31日発行予定)
- 3) 白戸由理、中野和俊、大澤真木子、ミトコンドリア細胞の嫌気培養における生存とTCA回路の酵素に関する解析 東京女子医大雑誌 第83巻 第E1号 受理 (平成25年1月31日発行予定)
- 4) 西村 敏、永木茂、大澤真木子、I-cell病(ムコリピドーシスII型)の一例 東京女子医大雑誌 第83巻 第E1号 受理 (平成25年1月31日発行予定)
- 5) High-density CT of muscle and liver may allow early diagnosis of childhood-onset Pompe disease. Ishigaki K, Yoshikawa Y, Kuwatsuru R, Oda E, Murakami T, Sato T, Saito T, Umezu R, Osawa M. Brain Dev. 2012 Feb;34(2):103-6.
- 6) Close monitoring of initial enzyme replacement therapy in a patient with childhood-onset Pompe disease. Ishigaki K, Murakami T, Nakanishi T, Oda E, Sato T, Osawa M. Brain Dev. 2012 Feb;34(2):98-102.

## ライソゾーム病(ファブリ病含む)に関する調査研究

分担研究者：辻 省次（東京大学医学部附属病院 神経内科）

### A. 研究目的

副腎白質ジストロフィー(ALD)について、発症年齢が小児期から成人までと幅広く、臨床病型も極めて多様である。この多様性をもたらす分子基盤を明らかにできれば、造血幹細胞移植の適応などを検討する上で有用であることから、本研究では、ゲノム解析に基づく分子基盤の解明を目指す。ライソゾーム病の病因遺伝子上の variation が当該ライソゾーム病以外の疾患発症に関与することが見出されており、本研究では、ライソゾーム病の病因遺伝子について網羅的なゲノム解析を行い、神経変性疾患発症のリスクになっているかどうかについて明らかにする。

### B. 研究成果

ALD 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した。135 名のコントロールについて、exome 解析を終了し、総計で 494 個の nonsynonymous variants を検出した。次年度、これらの遺伝子について、ALD の各臨床病型の症例について、網羅的な exome 解析を実施し、臨床病型を修飾する因子についての探索を実施する予定である。

ライソゾーム病の遺伝子群について、これまでにパーキンソン病発症に、GBA 遺伝子の multiple rare variants が疾患発症に関与していることを見出しているが、今回、パーキンソン病の類縁疾患である、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。231 例の MSA 症例、135 例のコントロールについて exome 解析を実施し、総計で 237 個の nonsynonymous variants を検出した。MSA 発症との関連が示唆される遺伝子が 3 つ見出されたが、confirmation のためには、さらに解析規模を拡大する必要がある。次年度、MSA 症例、コントロールの例数を増やして検討を進める。

### C. 研究目的の達成度

本年度は、exome 解析を用いた研究の基盤を構築することができ、次年度、confirmation のステップを実現できると期待され、十分な達成度と考える。

### D. 研究成果

#### 英文原著論文

- 1) Matsukawa T, Asheuer M, Takahashi Y, Goto J, Suzuki Y, Shimozawa N, Takano H, Onodera O, Nishizawa M, Aubourg P and Tsuji S. Identification of novel SNPs of ABCD1, ABCD2, ABCD3 and ABCD4 genes in patients with X-linked adrenoleukodystrophy (ALD) based on comprehensive resequencing and association studies with ALD phenotypes. *Neurogenetics* 12: 41-50, 2011

#### 国際学会発表

- 1) Takashi Matsukawa, Tomotaka

Yamamoto, Sachiko Seo, Keiki Kumano,  
Motoshi Ichikawa, Yuji Takahashi,  
Hiroyuki Ishiura, Jun Mitsui, Masaki  
Tanaka, Jun Goto 1, Mineo Kurokawa,  
Shoji Tsuji. Hematopoietic stem cell  
transplantation for adolescent and adult  
onset cerebral X-linked  
adrenoleukodystrophy. The 62<sup>nd</sup> Annual  
Meeting of American Society of Human  
Genetics. November 6-10, 2012, San  
Francisco.

## 抗イズル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

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

イズルスルファー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。最重症型（タイプ D）5 症例では、全例でイズルスルファーゼ抗体の産生が認められた。うち、2 症例において著しい抗体価の上昇をみとめ、酵素補充療法の効果も乏しかった。遺伝子解析では、タイプ D 症例は全例が null mutation であった。抗体価の著明な上昇を示した 2 症例は、それぞれ 1 塩基欠失と広範な遺伝子欠失であった。これらのことから、ムコ多糖症 II 型重症型のなかで null mutation を持つ患者については、造血幹細胞移植を積極的に行うことが勧められると考察された。

### 研究協力者

濱崎考史（大阪市立大学大学院医学研究科・講師）門野千穂・工藤聡志・坂口知子（大阪市立大学大学院医学研究科・技術職員）

した。

各々の症例について、ムコ多糖症 II 型責任遺伝子  $\alpha$ -イズロネート 2-スルファターゼ遺伝子の遺伝子解析を行った。

### A. 研究目的

2007年よりムコ多糖症II型の治療酵素製剤イズルスルファーゼ（エラプレース）が承認され、当科において15名の患者の治療を行っているが、一部の患者について抗体産生が認められている。抗体産生と治療効果について検討した。

### B. 研究方法

ムコ多糖症 II 型患者を重症度に従って下記のごとく A~D のタイプに分類し、酵素補充療法の効果を検討した。

- タイプ A：知的障害なく、軽度の身体症状を認める。
- タイプ B：知的障害なく、中等度以上の身体症状を認める。
- タイプ C：知的障害が 2 歳以降に明らかとなる。
- タイプ D：知的障害が 2 歳以前に明らかとなる。

それぞれの患者について、定期的に関節可動域、睡眠時無呼吸検査、発達テスト、心臓超音波検査、肝臓容積、頭部 MRI、尿中ムコ多糖、IgG 抗体の検査を行い、効果の評価を行った。6 分間歩行と呼吸機能検査は軽症型でのみ施行

### C. 研究結果

ムコ多糖症 II 型 15 症例は、タイプ A：3 症例、タイプ B：2 症例、タイプ C：6 症例、タイプ D：4 症例に分類された。

心駆出率、弁逆流については維持～軽度の悪化、呼吸機能については維持、6 分間歩行はやや改善であった。重症型（タイプ C、D）の発達テストについては、DQ（発達指数）は徐々に低下した。発達年齢に換算しても徐々に低下していた。肝臓容積と尿中ムコ多糖は 3~6 か月の間に著明に減少し、その後も低値を保っていた。しかしながら、タイプ D の 2 症例（図の症例 D-4 と D-5）において肝臓容積、尿中ムコ多糖ともにあまり低下が認められず、AST も高値であった（図 1, 2, 3）。

抗イズルスルファーゼ抗体は、タイプ A、B、C のすべての症例で陰性であったが、タイプ D の症例はすべて陽性であった。タイプ D における抗体上昇は、3 症例（D-1、D-2、D-3）では投与後 3~6 か月で 300~3200 倍のピークを示しその後低下したが、2 症例（D-4、D-5）では 3 か月目から上昇しその後も上昇し続けた。これら 2 症例の抗体の著明な高値は持続し、36 か月後においても D-4 は 51200 倍、D-5 は 12800 倍を示した（図 4）。抗体は中和活性



を持ち、症例 D-4 では 70%、D-5 では 95% のイズルスルファアーゼ活性阻害を示した。

遺伝子解析では、タイプ A、B、C の症例では解析が済んだすべての症例でミスセンス変異であったのに対し、症例 D-1、D-2、D-3 は pseudogene recombination であり、D-4 は一塩基欠失、D-5 は遺伝子の広範囲な欠失であった。表 1 に症例のまとめを示す。

#### D. 考察

ムコ多糖症 II 型のなかで、臨床経過より最重症のタイプ D と分類された症例は、遺伝子解析の結果においても recombination や欠失といった酵素蛋白が産生されていないあるいは構造が大きく異なっているような変異を持っており、臨床症状と矛盾しないものだった。また、これらの症例では酵素製剤に対する抗体が産生され、酵素蛋白イズルスルファアーゼを全くの異物として認識していると推測された。

さらに、抗イズルスルファア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。これらの症例の抗体は、中和抗体でありイズルスルファアーゼ活性を阻害していた。タイプ D 患者については、治療の選択肢として造血幹細胞移植を積極的に考えるのがよいと思われた。

#### E. 研究発表

##### 学会発表

- 1) Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in Mucopolysaccharidosis Type II Patients. 12<sup>th</sup> International Symposium on MPS and Related Disease 28 Jun-1 Jul, 2012, The Netherland
- 2) Tanaka A, Hamazaki T, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in the patients with Mucopolysaccharidosis Type II. SSIEM 2012, 4-7 Sep, 2012, England
- 3) Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in Mucopolysaccharidosis Type II Patients. 4<sup>th</sup> International Forum for Lysosomal Storage Disorders & 17<sup>th</sup> Japanese Society of

Lysosomal Storage Disorders, 4-6 Oct, 2012, Tokyo

- 4) Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in the patients with Mucopolysaccharidosis Type II. 第 54 回日本先天代謝異常学会 2012 年 11 月 14-17 日 岐阜

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1

症例・病型	治療開始年齢	IDS 遺伝子変異	IDS 抗体	抗体価頂値 (時期)
C-1	7 歳 6 か月	S333L	Negative	
C-2	3 歳 9 か月	R468Q	Negative	
C-3	6 歳 4 か月	R468W	Negative	
D-1	13 歳 0 か月	Pseudogene recombination	Positive	X1600 (6 か月後)
D-2	12 歳 7 か月	(Sibling of D-3)	Positive	X200 (3 か月後)
D-3	7 歳 8 か月	Pseudogene recombination	Positive	X3200 (3 か月後)
D-4	1 歳 11 か月	De63gl	Positive	X51200 (36 か月時)
D-5	2 歳 11 か月	Large delation	Positive	X12800 (36 か月時)

図 1、肝容量 (ml)

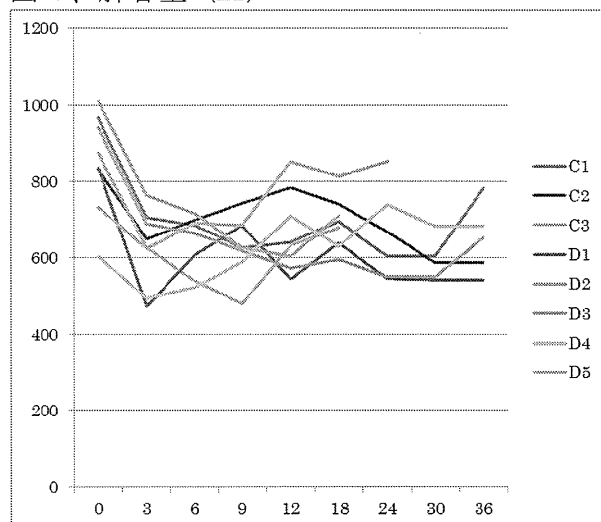


図 2、尿中ムコ多糖 (mg/g creatinine)

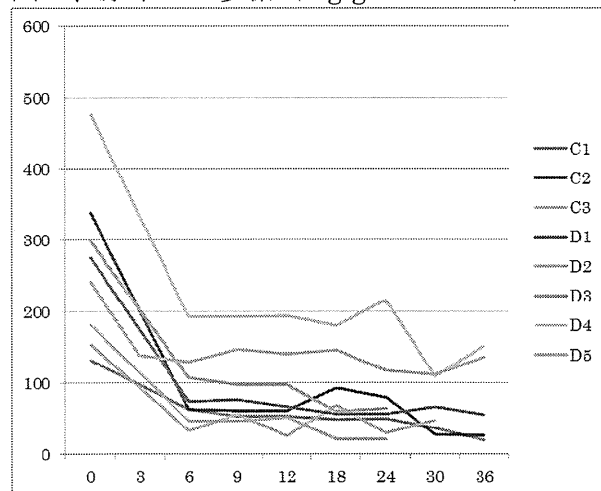


図3、AST (IU/L)

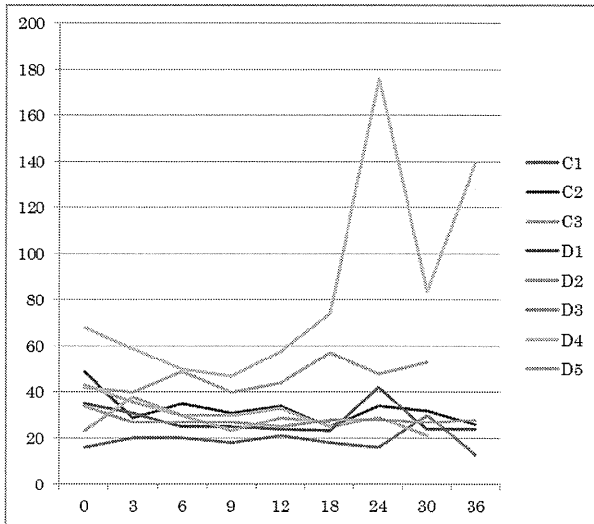
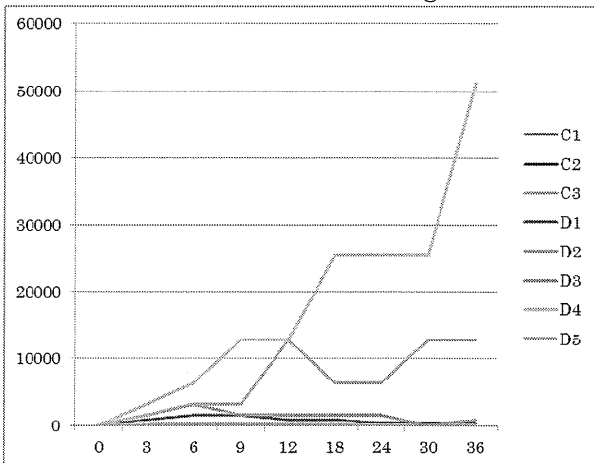


図4、抗イゾルスルファーゼ (IgG titer)



## 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

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

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し、28 名（97%）が過成長を示すこと、ヘルニア（鼠径、臍）の有無と組み合わせることで、早期診断に有用であることが明らかとなった。

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、乳幼児期の成長に関する基礎データは不十分である。今回、重症型 Hunter 病患者の乳幼児期の成長パターンを解析したので報告する。

### B. 研究方法

Hunter 病患者家族の協力を得て、重症型患者 29 名の母子手帳記録に基づき、乳幼児期の成長パターンを解析した。倫理面への配慮：連結不可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：29 名中 22 名（76%）は生後 6~18 か月において標準身長の 97 パーセンタイルを越えていた。1 歳時の平均身長 81cm。

2) 体重：29 名中 23 名（79%）は生後 6~18 か月において標準体重の 97 パーセンタイルを越えていた。1 歳時の平均体重 13kg。29 名中 28 名（97%）は身長と体重のいずれかが 97 パーセンタイルを越えていた。

4) ヘルニア：鼠径もしくは臍ヘルニアを有していたのは 29 名中 23 名（79%）であった。

5) 総合評価：①身長、②体重、③臍ヘルニア、④鼠径ヘルニアの 4 項目について、その有無を分類した結果を表に示す。

	患者数（29 名中）
4 項目陽性	10 名
3 項目陽性	9
2 項目陽性	9
1 項目陽性	1
0 項目陽性	0

29 名中 28 名（97%）が乳幼児期に過成長（高身長、過体重）を示し、ヘルニアの有無を加えると、患者前例が検出されることが明らかとなった。

### D. 考察

ムコ多糖症は以前から乳幼児期の過成長が言われてきたが、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、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。

## E. 結論

重症型 Hunter 病患者の過成長を明らかにし、ヘルニア所見と組み合わせることで 100% 臨床的に検出できることを明らかにした。このデータは Hunter 病の早期診断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

1) Shunji Tomatsu, Adriana M. Montaña, Hiroataka Oikawa, Roberto Giugliani, Paul Harmatz Mary Smith, Yasuyuki Suzuki, Tadao Orii. Defects in growth of body in mucopolysaccharidoses. The Handbook of Growth and Growth Monitoring in Health and Disease, Springer

### 2. 学会発表

1) Suzuki Y, Montaña A, Tomatsu S. Overgrowth of patients with Hunter disease during early childhood: possibility of early diagnosis. 4<sup>th</sup> International Forum for Lysosomal Storage Disorders. Oct 4-6, 2012, Tokyo

## H. 知的所有権の取得状況

なし

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

分担研究者：櫻庭 均（明治薬科大学分析化学・臨床遺伝学 教授）

研究要旨

グロボトリアオシルスフィンゴシン (Lyso-Gb3) は、ファブリー病のバイオマーカーとして注目され、多くのファブリー病患者で血漿 Lyso-Gb3 濃度が増加することが報告されている。我々は、日本人ファブリー病患者の中に血漿 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「遅発型ファブリー病」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。In silico で GLA 分子の構造解析を行ったところ、M296I アミノ酸置換により、GLA 分子表面近くに小さな構造変化が起こると予想された。血漿 Lyso-Gb3 濃度測定値をファブリー病の診断目的で利用する際には、M296I アミノ酸置換を持つ症例のような特異例の存在に注意する必要があると考えられる。

研究協力者：

兎川忠靖（明治薬科大学生体機能分析学 教授）

鈴木俊宏（明治薬科大学分析化学 講師）

月村考宏（明治薬科大学生体機能分析学 助教）

水戸部さゆり（明治薬科大学分析化学 院生）

齋藤静司（北海道情報大学医療情報学 准教授）

A. 研究目的

ファブリー病は、ライソゾーム病群の中で発生頻度が最も高い疾患のひとつであり、酵素補充療法による治療が可能であることから、その診断は重要である。最近、本症のバイオマーカーとしてグロボトリアオシルスフィンゴシン (Lyso-Gb3) が注目され、血漿 Lyso-Gb3 濃度の測定が診断に利用されるようになった。実際、多くのファブリー病患者で、血漿 Lyso-Gb3 濃度の増加が認められ、特に細胞内  $\alpha$ -ガラクトシダーゼ A (GLA) の残存活性が認められるファブリー病ヘミ接合体男性やファブリー病ヘテロ接合体女性の確定診断時に有用と

されている。

しかし、最近、我々は、日本人ファブリー病患者の中に、血漿 Lyso-Gb3 濃度の増加が見られない一群の症例が存在することを見出した。本研究では、これらの特異な症例に関して、臨床的、遺伝学的、生化学的、病理学のおよび構造学的解析を行い、その性状を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1) 試料

36名の日本人ファブリー病患者(男性24例および女性12例)を対象とした予備実験で、血漿Lyso-Gb3濃度の増加が見られない7症例(男性4例および女性3例、うち2例は小児)から血液を採取して、生化学的および遺伝学的解析のための試料とした。また、これらの症例のうち、54歳の男性患者に対して、腎生検および心内膜心筋生検を行い、得られた組織を病理学的解析のための試料として用いた。

## 2) 臨床的解析

小児期に出現するファブリー病の症状(疼痛、アンジオケラトーマおよび低汗症)と成人期に出現するファブリー病の症状(腎障害、心障害および脳血管障害)の有無について調査した。

## 3) GLA遺伝子解析

白血球を試料として、GLA 遺伝子の蛋白質コード領域およびイントロン/エクソン境界領域を PCR で増幅し、その塩基配列を決定した。

## 4) 白血球 GLA 活性測定

4-メチルウムベリフェリル- $\alpha$ -D-ガラクトピラノシドを用いた蛍光法で、白血球を試料とし、GLA 活性の測定を行った。蛋白質の測定は、ウシ血清アルブミンを標準とし、市販の蛋白質測定用キットを用いて行った。

## 5) 血漿 Lyso-Gb3 の測定

血漿を試料として、その脂質画分中の Lyso-Gb3 を *o*-フタルアルデヒド誘導体化した後、高速液体クロマトグラフィー法により測定した。

## 5) 血漿グロボトリアオシルセラミド(Gb3)の測定

血漿を試料として、その脂質画分中の Gb3 をスフィンゴ脂質セラミド *N*-デアシラーゼで Lyso-Gb3 に転換した後に、*o*-フタルアルデヒド誘導体化し、高速液体クロマトグラフィー法により測定した。

## 6) 腎および心筋組織の病理学的解析

生検で得られた腎および心筋組織を試料として、ヘマトキシリン・エオジン染色した標本を光学的顕微鏡で、オスミウム酸固定した標本を電子顕微鏡で解析した。

## 6) GLA の構造学的解析

ヒト GLA の結晶構造情報 (PDB コード:1R46) を基に、ホモロジーモデリングにより、M296I アミノ酸置換を持つ GLA 変異

体の構造予測を行った。この変異体 GLA と野生型 GLA とを比較し、M296I による GLA の立体構造変化を予測した。

(倫理面への配慮)

本研究は、明治薬科大学倫理委員会の承認を得るとともに、インフォームドコンセントを得て行った。

## C. 研究結果

### 1) 患者の臨床表現型

男性患者 4 名中の 3 名および女性患者 3 名中 2 名は、小児期の症状が見られず、遅発型ファブリー病の臨床像を示した。残りの男性 1 名および女性 1 名に関しては、疼痛、アンジオケラトーマまたは低汗症の症状を示したが、その程度は軽度であった。

### 2) 患者の遺伝子型

当該症例群の遺伝子解析の結果、男性患者の全例において、296 番目のアミノ酸がメチオニン (コード:ATG) からイソロイシン (コード:ATA) に換わる遺伝子変異 (M296I) が認められた。また女性患者では、M296I がヘテロ状態で観察された。

### 3) 白血球中の GLA 活性

健常者における白血球中の GLA 活性の平均±標準偏差 [試料数] は、 $49 \pm 15$  nmol/h/mg 蛋白 [33] であった。一方、当該男性患者の白血球中 GLA 活性は、1~2 nmol/h/mg 蛋白であり、健常者平均の約 3% の値を示した。当該女性患者は、健常者対照と男性患者の中間の値を示した。

### 4) 血漿中 Lyso-Gb3 の濃度

当該男性患者および女性患者の血漿中 Lyso-Gb3 濃度は、全例で 2nmol/L 以下であり、健常者対照との間に差が見られなかった。

### 5) 血漿中 Gb3 の濃度

当該男性患者および女性患者の血漿中

Gb3 濃度は 2.1~6.1  $\mu\text{g/mL}$  であり、健常者対照 (4.6 $\pm$ 1.6  $\mu\text{g/mL}$ [18], 平均 $\pm$ 標準偏差[試料数])との間に差が見られなかった。

## 6) 生検組織の光学顕微鏡および電子顕微鏡所見

M296I 変異を有する遅発型ファブリー病男性患者から生検で得られた腎臓組織のタコ足細胞および心臓組織の心筋細胞内には、光顕で空胞が、電顕で層状封入体が認められた。

## 7) M296I に基づく GLA の構造変化

M296I アミノ酸置換に基づく GLA の構造変化は、分子表面近くの領域に限定される小さなものであると予想された。

## D. 考察

近年、ファブリー病のバイオマーカーとして Lyso-Gb3 が注目され、ファブリー病患者の多くで血漿 Lyso-Gb3 濃度が増加していることが報告されている。

我々が経験した、血漿中 Lyso-Gb3 濃度の増加が見られない特異なファブリー病患者は、共通して、M296I アミノ酸置換を来たす変異を有した。*In silico* での構造解析の結果、M296I アミノ酸置換により、GLA 分子表面近くに小さな構造変化が起こると予想された。M296I 変異を持つファブリー病患者において血漿中 Lyso-Gb3 が増加しない理由は明らかではない。細胞内で生合成された変異 GLA 分子のほとんどは、変性または「細胞の質管理システム」により過剰に分解されると考えられる。しかし、当該患者では僅かながら残存酵素活性が存在することから、この残存酵素の働きにより、組織内での Gb3 分解には至らないまでも、Gb3 よりも疎水性が弱く酵素が働きやすい血漿中 Lyso-Gb3 はぎりぎり分解され、臨床表現型も古典型ではなく晩期発症で遅発

型をとるのかも知れない。これらの症例の病態解明には、今後の詳しい検討が必要である。

M296I 変異は、日本人ファブリー病患者で見られる遺伝子変異として、比較的頻度が高いことが知られている。従って、血漿 Lyso-Gb3 濃度の測定結果をファブリー病の診断に利用する場合、M296I 変異を持つ特異的な症例に注意する必要があると考えられる。

## E. 結論

M296I 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。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Tsukimura T, Kawashima I, Togawa T, et al: Efficient uptake of recombinant  $\alpha$ -galactosidase A produced with a gene-manipulated yeast by Fabry mice kidneys. *Mol Med* 18: 76-82, 2012
- 2) Saito S, Ohno K, Suzuki T, et al: Structural bases of Wolman disease and cholesteryl ester storage disease. *Mol Genet Metab* 105: 244-248, 2012
- 3) Saito S, Ohno K, Sekijima M, et al: Database of the clinical phenotypes, genotypes, and mutant arylsulfatase B structures in mucopolysaccharidosis type VI. *J Hum Gene* 57: 280-282, 2012
- 4) Togawa T, Tsukimura T, Kodama T, et al: Fabry disease: Biochemical, pathological and structural studies of the  $\alpha$ -galactosidase A with E66Q amino acid substitution. *Mol Genet Metab* 105: 615-620, 2012
- 5) Doi K, Noiri E, Ishizu T, et al: High-throughput screening identified



disease-causing mutants and functional variants of  $\alpha$ -galactosidase A gene in Japanese male hemodialysis patients. *J Hum Genet* 57: 575-579, 2012

- 6) Mitobe S, Togawa T, Tsukimura T, et al: Mutant  $\alpha$ -galactosidase A with M296I does not cause elevation of the plasma globotriaosylsphingosine level. *Mol Genet Metab* 107: 623-626, 2012
- 7) Maita N, Taniguchi H, Sakuraba H: Crystallization, X-ray diffraction analysis and SIRAS phasing of human  $\alpha$ -L-iduronidase. *Acta Cryst F* 68: 1363-1366, 2012
- 8) Mawatari K, Yasuoka H, Oba T, et al: Screening for Fabry disease in patients with left ventricular hypertrophy. *Int J Cardiol*, in press
- 9) Ogawa Y, Tanaka M, Tanabe M, et al: Impaired neural differentiation of induced pluripotent stem cells generated from a mouse model of Sandhoff disease. *PLoS ONE*, in press

## 2. 学会発表

### 国際学会 招待講演

- 1) Sakuraba H: Lyso-glycosphingolipids as biomarkers of sphingolipidoses. The 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders & The 17th Japanese Society for Lysosomal Disorders, 2012/10, Tokyo, Japan
- 2) Sakuraba H: Unraveling Fabry disease, improving care. The 2nd European Fabry Expert Lounge 2012, 2012/10, Munich, Germany
- 3) Sakuraba H: Construction of a database and development of new enzyme replacement therapy for Fabry disease. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS

Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan

### 国際学会 一般講演・ポスター発表

- 1) Shibasaki F, Nakano S, Sakuraba H: Diagnostic values of modified immuno-PCR method (MUSTag) to detect  $\alpha$ -galactosidase A proteins in Fabry disease. The 4<sup>th</sup> International Forum for Lysosomal Storage Disorders & The 17<sup>th</sup> Japanese Society for Lysosomal Disorders, 2012/10, Tokyo, Japan
- 2) Tsukimura T, Mitobe S, Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H: Construction of a high-throughput screening system for male patients with Fabry disease. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan
- 3) Mitobe S, Togawa T, Tsukimura T, Kodama T, Tanaka T, Otsuka T, Suzuki T, Sakuraba H: Mutant  $\alpha$ -galactosidase A with M296I does not cause elevation of the plasma globotriaosylsphingosine level. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan
- 4) Aizawa Y, Takada M, Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H: An improved method for determination of mannose 6-phosphate residues in acid  $\alpha$ -glucosidase by means of HPLC. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan
- 5) Ishibashi Y, Nakajima Y, Takatsuji Y, Suzuki T, Sakuraba H: SPR analysis on molecular interaction between GLA/modified NAGA and antibodies against them. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan

- 6) Fukano K, Ono Y, Kamikura A, Suzuki T, Sakuraba H: Ultrasensitive assay method for measurement of  $\alpha$ -galactosidase A protein in blood from Fabry patients. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan
- 7) Yamamoto S, Sekiguchi M, Terauchi K, Suzuki T, Sakuraba H: Identification of miRNA associated with gefitinib resistance in lung cancer cell lines. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan.
- 8) Ohyama M, Arai T, Ito K, Suzuki T, Sakuraba H: Arsenic trioxide can overcome cisplatin resistance in lung cancer cell lines. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan
- 9) Takasawa K, Yamashita S, Mitobe S, Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H: New method for determination of globotriaosylceramide in plasma and urine from Fabry patients. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan

#### 国内学会 招待講演

- 1) 櫻庭 均: ファブリー病～早期診断の重要性～、愛知ファブリー病研究会、2012/ 1、愛知
- 2) 櫻庭 均: 神経内科医が遭遇する疾患 ファブリー病、第 53 回日本神経学会学術大会、2012/5、東京
- 3) 櫻庭 均: 蛋白尿に潜む疾患 ファブリー病、第 55 回日本腎臓学会学術総会、2012/6 横浜
- 4) 櫻庭 均: 分子設計に基づくファブリー病新

- 規治療戦略、第 57 回(社)日本透析医学会学術集会・総会、2012/6、札幌
- 5) 櫻庭 均: ファブリー病の分子病態と腎障害、第 47 回日本小児腎臓病学会学術集会、2012/6、東京
- 6) 櫻庭 均: 日常の診療に潜むファブリー病: 病態・診断・治療、沖縄ファブリー病セミナー、2012/8、沖縄
- 7) 櫻庭 均: 隠れ心筋症? ファブリー病～その診断と治療の最先端～、第 123 回みなとセミナー 第 15 回心臓病センター病診連携学術講演会、2012/8、横浜
- 8) 櫻庭 均: ファブリー病 診断と治療の実際、第 18 回 日本腹膜透析医学会 学術集会・総会、2012/9、徳島
- 9) 櫻庭 均: 酵素/低分子化合物複合体形成機構の熱力学的・構造学的検討、第 1 回日本シャペロン療法研究会、遺伝性難病の治療を目指して、2012/11、東京

#### 国内学会 一般講演・ポスター発表

- 1) 渡邊 徹、高岡友紀、川島育夫、櫻庭均、千葉靖典: サポシン B 欠損症治療薬を目指したヒトサポシン B の生産、日本農芸化学会 2012 年度大会、2012/3 京都
- 2) 向日良夫、鈴木俊宏、兔川忠靖、片山昌勅、松田兆史、櫻庭 均: 分析実習におけるビュレット操作の問題点日本薬学会第 132 年会、2012/3、札幌。
- 3) 兔川忠靖、児玉 敬、月村考宏、柏 志保、川島育夫、鈴木俊宏、櫻庭 均: ファブリー病の診断における Lyso-Gb3 の評価、日本薬学会第 132 年会、2012/3、札幌
- 4) 鈴木俊宏、入澤 愛、西尾和人、大森亨、兔川忠靖、櫻庭 均: Micro RNA によるゲフィチニブ耐性関連因子の調節、第 16 回日本がん分子標的治療学会学術集会、2012/6、福岡

- 5) 兎川忠靖、月村考宏、水戸部さゆり、鈴木俊宏、川島育夫、櫻庭 均: グロボトリアオシルセラミドの新規測定法、第 54 回日本先天代謝異常学会総会／第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2012/11、岐阜
- 6) 水戸部さゆり、兎川忠靖、月村考宏、土井研人、野口英世、赤井靖宏、齋藤能彦、芳野 信、竹中俊宏、櫻庭 均: M296I 変異 GLA を有するファブリー病患者は血漿中 Lyso-Gb3 濃度の増加を伴わない、第 54 回日本先天代謝異常学会総会／第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2012/11、岐阜
- 7) 辻 大輔、難波建多郎、石丸直澄、櫻庭 均、伊藤孝司: Tay-Sachs 病患者由来 iPS 細胞の樹立と分化神経系細胞に対する酵素補充効果の検討、第 54 回日本先天代謝異常学会総会／第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2012/11、岐阜
- 8) 北風圭介、辻 大輔、難波建多郎、浅沼大祐、神谷真子、浦野泰照、櫻庭 均、伊藤孝司: 新規人工蛍光基質を用いたリソソーム酵素の脳内補充効果の *in vivo* イメージング、第 54 回日本先天代謝異常学会総会／第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2012/11、岐阜
- 9) 月村考宏、田中利絵、大塚智子、水戸部さゆり、鈴木俊宏、齋藤静司、兎川忠靖、櫻庭 均: ハイリスク群の男性を対象としたファブリー病スクリーニング、第 54 回日本先天代謝異常学会総会／第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2012/11、岐阜
- 10) 鈴木俊宏、櫻庭 均: ヒト正常組織由来培養細胞における組換えリソソーム酵素の取り込み、第 85 回日本生化学会大会、2012/12、福岡
- 11) 月村考宏、田中利絵、大塚智子、水戸部さゆり、鈴木俊宏、齋藤静司、兎川忠

靖、櫻庭 均: 男性を対象としたファブリー病のハイリスク・スクリーニング、第 85 回日本生化学会大会、2012/12、福岡

- 12) 水戸部さゆり、兎川忠靖、月村考宏、児玉 敬、齋藤静司、鈴木俊宏、櫻庭 均: 血漿中 Lyso-Gb3 濃度の増加しないファブリー病症例群の解析、第 85 回日本生化学会大会、2012/12、福岡

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし

## ライゾゾーム病の iPS 細胞の作成と病態代謝に関する研究

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

ライゾゾーム病、特にファブリー病、ポンペ病、ゴーシェ病患者或いはマウスより皮膚繊維芽細胞よりレトロウイルス或いはセンダイウイルスベクターを用いて山中 3 因子或いは 4 因子を導入し、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。

共同研究者：

樋口 孝<sup>1)</sup>、河越しほ<sup>1)</sup>、小林博司<sup>2)</sup>、井田博幸<sup>3)</sup>、  
大橋十也<sup>4)</sup>

研究協力者：

高村歩美<sup>4)</sup>、藤崎美和<sup>4)</sup>、大樂武範<sup>4)</sup>、岩本武夫<sup>5)</sup>

1. 東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座
2. 東京慈恵会医科大学遺伝子治療部
3. 東京慈恵会医科大学小児科講座
4. 財団法人脳神経疾患研究所先端医療研究センター
5. 東京慈恵会医科大学共用研究施設

### A) センダイウイルスを用いたヒトファブリー病由来 iPS 様細胞の樹立

Generation of iPS like cells from human Fabry disease using Sendai virus

【目的】ファブリー病はライゾゾーム病の一つで、 $\alpha$ -galactosidase 遺伝子の欠損によりその基質である GL-3 が皮膚、腎臓、心臓などの全身の細胞に蓄積する。主な症状として腎障害や四肢末端痛などがあり、特に心臓に蓄積すると不整脈、心肥大などを呈する。iPS 細胞は皮膚細胞などに初期化因子を導入することにより樹立された、人工多能性幹細胞である。我々はファブリー病の心筋病態を解析することを目的として、センダイウイルスベクターを用いてファブリー病患者皮膚線維芽細胞由来 iPS 様細胞を樹立した。

### 【方法・結果】

初期化 4 因子を搭載したセンダイウイルスベクターをヒトファブリー病患者皮膚線維芽細胞に感染させたところ、感染 5 日目にマウス iPS 細胞様の初期コロニーが確認できた。

その後 RNAi を用いてセンダイウイルスの除去を行うと、ヒト iPS 様コロニーが確認できた。ヒト iPS 様細胞は未分化マーカーである SSEA-4、TRA-1-60、TRA-1-81 タンパク質を発現しており、かつアルカリホスファターゼ染色において陽性であった。

また、センダイウイルスのヌクレオカプシドタンパク質の発現を解析したところ陰性であった。又電子顕微鏡による解析では、iPS 細胞内に多数のミエリン膜用の封入体の蓄積を認めたが、皮膚細胞に見られる成熟した封入体と異なり、iPS 細胞の封入体はまだ未熟な形成過程の封入体であった。

### 【考察・展望】

センダイウイルスのゲノム RNA は感染細胞の細胞質に存在し、ゲノムに組み込まれず理論的に遺伝的毒性がないため感染細胞内で初期化因子を安定的に発現させる事が出来るという特徴を持つ。そのため、レトロウイルスベクターを用いて作成した iPS 細胞と比べてセンダイウイルスベクターでは高品質の iPS 細胞を作成でき、iPS 様細胞を心筋細胞に分化誘導させ、ファブリー病心筋細胞の病態解析を更に進めていく。