

厚生労働科学研究補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究年度終了報告書

新しい治療法の開発（ケミカルシャペロン療法）  
神経型ゴーシェ病の治療マーカーとしての  
髄液グルコシルスフィンゴシン濃度と対光反射

分担研究者：成田 綾（鳥取大学医学部脳神経小児科・助教）

研究要旨

ゴーシェ病に対する酵素補充療法は臓器腫大や血液学的所見を改善させる。しかし、酵素製剤は脳血液関門を通過出来ない為、本邦のゴーシェ病患者の過半数を占める神経型の治療として、酵素補充療法の効果は乏しく、中枢神経系を標的とした新規治療法の開発が望まれている。我々は2010年より鳥取大学倫理委員会の承認を受け、神経型ゴーシェ病患者に対し、アンブロキシソールによるケミカルシャペロン療法を開始している。この臨床研究を行うに当たり、中枢神経症状の早期発見ならびに治療効果を判定する客観的指標の重要性を認識し、本年度はその探索を行った。

まず、生化学的指標として、神経型ゴーシェ病の神経変性の病態に関与すると考えられているグルコシルスフィンゴシンの髄液中濃度をLC-ESI-MS/MSを用いて測定した。神経型ゴーシェ病患者13例と正常コントロール26例で比較したところ、神経型ゴーシェ病患者は正常の29倍と著明な増加を認めた。そして、アンブロキシソールによるシャペロン療法を施行した6例において治療前後で比較したところ、全例で低下を認めた。

次に、生理学的指標として、ゴーシェ病における中枢神経系の症状として対光反射の異常の有無を、赤外線電子瞳孔計を用いて定量的に評価した。ゴーシェ病患者15例（非神経型2例、神経型13例）と正常コントロール33例で比較したところ、神経型ゴーシェ病患者において、著明な潜時の遅延ならびに縮瞳率の低下を認めた。非神経型ゴーシェ病患者では異常を認めなかった。シャペロン療法を施行した6例のうち、評価が可能であった4例に関して全例で潜時ならびに縮瞳率の改善を認めた。

これらより、髄液グルコシルスフィンゴシン濃度と対光反射の異常は、神経型ゴーシェ病の疾患マーカーとなり、また治療効果判定指標としても有用である事が示唆された。

研究協力者

大野耕策・山陰労災病院・病院長

鳥取大学医学部脳神経小児科・名誉教授

A. 研究目的

ゴーシェ病はライソゾーム酵素の一つであるグルコセレブロシダーゼの欠損により、その基質であるグルコセレブロシドが肝、脾、骨髄、神経系等に蓄積することで発症する遺伝性疾患で、臨床的には神経症状を呈さない型と、神経症状を呈する型および型に分類される。

現在、酵素補充療法が開発され、治療により肝

脾腫、貧血などの身体症状は改善するが、酵素製剤は血液脳関門を通過しないため、神経症状に対する効果は認められていない。

そこで我々はゴーシェ病の中樞神経系の治療法の開発を行ってきた。2009年にナダのグループがFDA承認薬をスクリーニングし、市販薬であるアンブロキシール(ムコサル、ムコソルバン)が、非神経型の原因変異であるN370S変異の酵素活性をあげることを見いだした。アンブロキシールは低分子化合物である為、血液脳関門を通過し、神経症状への効果が期待できる。また、去痰剤として汎用されている薬剤であり、安全性や薬物動態が比較的明らかにされている事から、より早期の臨床応用が期待できると考えた。

そこで我々は2010年より鳥取大学医学部倫理審査委員会の承認を得た後、患者家族の同意を得て神経型ゴーシェ病患者に対して、アンブロキシール投与を行い、シャペロン療法の安全性を評価しており、高い忍容性を確認している。

有効性の評価には、従来の痙攣発作頻度の観察や電気生理検査、頭部MRI、末梢血リンパ球のグルコセレブロシダーゼ活性測定を行った。酵素活性は全ての患者において評価が可能であったが、臨床症状は多様であることから、臨床症状を一律に同一評価方法で行う事は困難であった。また、通常MRIやMRS、電気生理検査所見も患者毎に様々であることから、中樞神経系に特異的で、どの患者にも適応できる客観的な評価方法の開発が必要であった。

そこで本研究では、生化学的指標として髄液グルコシルスフィンゴシン濃度を、生理学的指標として対光反射を正常コントロールと比較し、評価法として有用であるかを検討した。

## B. 研究方法

### (1) 髄液グルコシルスフィンゴシン

対象：

酵素補充療法を行っている神経型ゴーシェ病患者ならびに正常コントロール群

方法：

グルコシルスフィンゴシンと内部標準(リゾラクトシルセラミド)は購入した(MATREYA LLC (PA, USA))。QTRAP 5500 triple quadrupole mass spectrometer (AB SCIEX, MA, USA)を用いて precursor-product ionを検出し、それによって抽出されたサンプルをLC-ESI-MS/MS(Shimadzu Nexera UHPLC、京都、日本)にて測定した。統計解析はMann Whitney検定ならびにpaired t検定を用いた。

### (2) 対光反射

対象：酵素補充療法を施行中のゴーシェ病患者(神経型ならびに非神経型)ならびに正常コントロール群

方法：10分間の暗順応の後、赤外線電子瞳孔計(イリスコーダデュアルC10641、浜松ホトニクス、浜松、日本)を用いて両眼の対光反射の潜時と縮瞳率を計測した。

### (3) シャペロン療法の効果

対象：神経型ゴーシェ病患者

方法：上記(1)(2)に関して、ベースラインの評価を行ったのち、アンブロキシール25mg/kg/日を酵素補充療法に併用し、経口・経管投与を開始し、治療後の効果評価した。

本研究は鳥取大学倫理委員会の承認を得て、本人ならびに保護者の同意を得て行った。また、(3)に関しては、UMIN-CTRにも登録済である(UMIN000009392)。

## C. 結果

### (1) 髄液グルコシルスフィンゴシン

酵素補充療法を行っている神経型ゴーシェ病患者13例(型6例、型7例、中央値2.2歳、6ヶ月~49歳)ならびに正常コントロール26例(中央値2.5歳、3ヶ月~18歳)にて測定

を行った。

神経型ゴーシェ病では平均 29 倍（中央値 88.0 pg/ml、26.6-2000 pg/ml）とコントロール群（中央値 2.81 pg/ml、0-8.49 pg/ml）に比して有意に上昇していることが確認された（図 1）。

型と型の比較では、統計学的有意差は認めなかったが、乳児期発症急性進行性の型（中央値 237.45 pg/ml）が慢性進行性である型（中央値 83.95pg/ml）より高値であった。

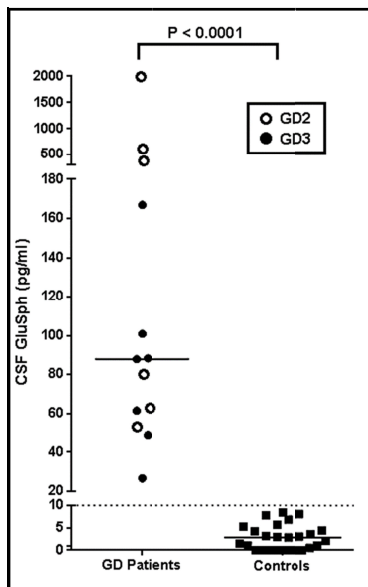


図 1 髄液グルコシルスフィンゴシン

アンプロキソールによるシャペロン療法（25mg/kg/日）をベースラインの評価後に開始し、髄液グルコシルスフィンゴシン（6 例）ならびに対光反射（4 例）の測定を 12 ヶ月後に施行した。

髄液グルコシルスフィンゴシンは全例で治療開始 12 ヶ月後にベースラインより低下を認めた（図 2）。

対光反射に関しても、評価が可能であった 4 例に関して、ベースライン時には反応が消失していた 3 例で波形の再出現を認めた。残り 1 例も縮瞳率および潜時の改善を認めた（図 3）。

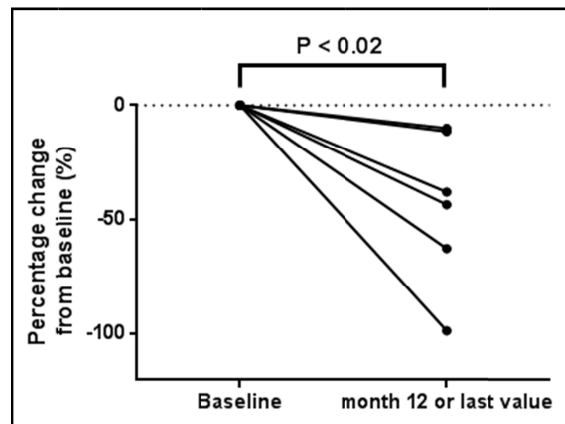


図 2 髄液グルコシルスフィンゴシンの変化

## （2）対光反射

酵素補充療法を行っている神経型ゴーシェ病患者 15 例（型 2 例、型 6 例、型 7 例）ならびに正常コントロール 33 例（コントロール 1：n=30、平均年齢 23 歳、22～37 歳、コントロール 2：n=3、平均年齢 4.7 歳、4～6 歳）にて測定を行った。

神経型（型および型）ゴーシェ病では 12/13 例（92.3%）に潜時の遅延や縮瞳率の低下を認めた。非神経型（型）の 2 例にはいずれの異常も認めなかった。

## （3）シャペロン療法の効果

酵素補充療法を行っている神経型ゴーシェ病患者 6 例（型 2 例、型 4 例）に対して

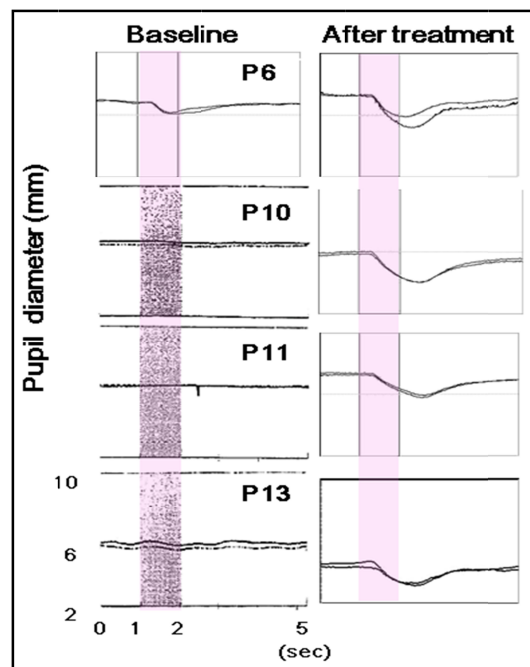


図 3 対光反射の変化

## D. 考察

本研究では、LC-ESI-MS/MS を用いて髄液グルコシルスフィンゴシンの安定した測定系を構築した。LC-ESI-MS/MS による髄液グルコシルスフィンゴシンの測定は初の報告となる。

この測定系を用いると、神経型ゴーシェ病では年齢や神経学的重症度、先行する酵素補充療法等の患者背景に影響を受けず、髄液グルコシルスフィンゴシンの有意な上昇を認めた。グルコシルスフィンゴシンはゴーシェ病の蓄積基質であるグルコセレブロシドが脱アシル化されて合成されるリゾ体で、神経型の中樞神経に過剰蓄積し、神経変性に関与すると考えられている。グルコシルスフィンゴシンの主な供給源はスフィンゴ脂質が過剰に蓄積したゴーシェ細胞と考えられているため、血清中でも検出可能だが、酵素補充療法にて低下するため、先行する酵素補充療法の時期や投与量が均一でない患者群での評価は困難である。一方で髄液では酵素補充療法が移行しないため、先行治療歴に関わらず評価が可能であり、中樞神経系の評価として特異性が高いと考える。

加えて、全例でシャペロン療法後に低下を認められたことは、シャペロンによる変異酵素の安定化が促進された結果、グルコセレブロシドやグルコシルスフィンゴシンの分解と蓄積の抑制が得られた事を示唆するものであり、治療効果の客観的指標として有用であると考えられた。

また、神経ゴーシェ病では対光反射の異常が生じる事も、電子瞳孔計による客観的評価系を用いる事ではじめて明らかにした。ゴーシェ病で対光反射の生じる機序は明確ではないが、網膜～視神経～中脳～動眼神経に至る対光反射経路のいずれかの神経機能不全がゴーシェ病では生じており、基質の減少に伴って、神経回路の機能不全が改善する結果、消失していた対光反射が再出現するものと考えられる。今回の症例では視神経や動眼神経に明らかな障害を認めなかったこと、またムコ多糖症などの他のライソゾーム病では網膜のグリア細胞に基質が蓄積する事が知られてい

ることなどから、ゴーシェ病でも網膜や脳幹のグリア細胞の機能不全によるがあるも推測され、今後更なる研究を進めていくこととしている。

## E. 結論

神経型ゴーシェ病では髄液グルコシルスフィンゴシンが増加し、対光反射の異常を呈する事が明らかになった。また、シャペロン療法を行う事で、両パラメーターの改善を確認する事が出来た。

これらより髄液グルコシルスフィンゴシンならびに対光反射測定は、神経型ゴーシェ病の早期診断とシャペロン療法による中樞神経治療に対する客観的評価法として有効であることが示唆された。

今後は症例数を増やし、非神経型の評価も加え、より神経型の指標としての特異性を検討するとともに、シャペロン療法の効果判定法としての有効性を更に検証していく。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 成田綾、大野耕策：先天代謝異常症と眼； Gaucher 病の眼科所見と治療. 神経眼科 29 (3): 303-309、2012

### 2. 学会発表

- 1) Aya Narita, Kousaku Ohno, et al. Chaperone therapy for neuronopathic Gaucher disease. 13<sup>th</sup> Lysosomal Disease Network World Symposium .Orlando, Feb. 2013
- 2) 成田綾、板村真司、大野耕策他 神経型 Gaucher 病に対するアンプロキソールを用いたケミカルシャペロン療法 第 55 回日本小児神経学会学術集会.大分,2013.5
- 3) Aya Narita, saori Kosugi, Kosaku Ohno, et al. Elevated CSF Glucosylsphingosine in neuronopathic Gaucher disease: relation to phenotype and therapeutic response with chaperone therapy. The 55th Annual

meeting of JSIMD/The 3rd ACIMD,  
maihama, Nov.2013

G . 知的財産権の出願・登録状況  
なし