

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総合分担研究報告書

ファブリー病・ポンペ病のスクリーニング研究

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

ファブリー病とポンペ病はそれぞれ ガラクトシダーゼと酸性 グルコシダーゼの欠損によって発症する先天代謝異常症である。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

ファブリー病はライソゾーム酵素である ガラクトシダーゼの欠損によって発症する。また、ポンペ病は酸性 グルコシダーゼの欠損によって発症する。近年これらの疾患に対して酵素補充療法が導入され、患者の治療が可能になった。そのため、ファブリー病とポンペ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。また、乳児型ポンペ病は乳児期早期に治療を開始しなければ予後が不良であると考えられている。我々は、H22-25年度にわたって、新生児におけるろ紙血検体を用いたファブリー病とポンペ病のスクリーニングを行った。また、H22-25年度にわたって、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。

B. 研究方法

ファブリー病とポンペ病のスクリーニングにおいて、Chamolesらの方法を改変し、ろ紙血検体の ガラクトシダーゼ酵素活性と酸性 グル

コシダーゼ酵素活性とを測定した。平成 18 年 8 月から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。

また、平成 25 年 4 月からはポンペ病のマススクリーニングも追加した。ファブリー病では、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シング法を用いた -ガラクトシダーゼ遺伝子解析を行った。また、ポンペ病においては Ba/Zn 法を用いた酵素活性の測定と、皮膚線維芽細胞を用いた酵素活性の測定によって解析を行った。皮膚線維芽細胞における酵素活性測定においては、4MU-D-Glucopyranoside 基質とグリコーゲン基質のそれぞれを用いた活性を別個に測定し、確定診断を行った。

（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行った。活性低値の新生児に対して、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、ファブリー病とポンペ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。ろ紙血を用いたガラクトシダーゼ活性と酸性 グルコシダーゼ活性の測定法を用いて、説明と同意に基づいた新生児スクリーニングを行った。

ファブリー病のスクリーニングでは、遺伝子解析を含めた精密検査を行った。本研究では約 387,000 名中 82 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、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 23 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 8,400 名に 1 名、古典型ファブリー病の頻度は、男性の約 39,000 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 E66 Q 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、平成 24 - 25 年度において、成人のファブリー病患者において 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。

また、平成 24 - 25 年度において、ポンペ病のスクリーニングでは、約 7,500 検体中に 1 名の遅発型のポンペ病患者を認めた。ポンペ病の pseudo deficiency と考えられるスクリーニング陽性者は 11 名であった。Ba/Zn 法を用いることにより、pseudo deficiency による偽陽性者を著しく減らすことができた。

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。また、ポンペ病においても Ba/Zn 法を用いることにより新生児スクリーニングを効率的に行うことが可能になった。

ファブリー病とポンペ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。ポンペ病の遅発型の成人期におけるスクリーニングも同様に可能であり、ポンペ病のスクリーニングを行うことにより、発症早期に酵素補充などの治療が可能になると考えられた。

E. 結論

ろ紙血を用いたファブリー病とポンペ病のスクリーニングは、簡便で安価な検査法として有用であると考えられた。さらにファブリー病とポンペ病の安価で簡便な診断法の開発とわが国における疾患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、ファブリー病とポンペ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、ファブリー病とポンペ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とポンペ病患者の予後を改善できると考えている。

F. 研究発表

論文発表

- 1) Kido J, Nakamura K, Matsumoto S, Mitsubuchi H, Ohura T, Shigematsu Y, Yorifuji T, Kasahara M, Horikawa R and Endo F Current status of hepatic glycogen storage disease in Japan: clinical manifestations, treatments and long-term outcomes. *J. Hum. Genet.* 58, 285-292 (2013)
- 2) Lee D, Oka T, Hunter B, Robinson A, Papp S, Nakamura K, Srisakuldee W, Nickel BE, Light PE, Dyck JRB, Lopaschuk GD,

Kardami E, Opas M, and Michalak M Calreticulin induces dilated cardiomyopathy. *Plos One* 8, e56387 (2013)

- 3) Yamamoto A, Nakamura K, Matsumoto S, Iwai M, Shigematsu Y, Tajima G, Tsumura M, Okada S, Mitsubuchi H, Endo F. VLCAD deficiency in a patient who recovered from VF, but died suddenly of an RSV infection. *Pediatr Int.* 55, 775-778 (2013)
- 4) Nakamura K, Sekijima Y, Nakamura K, Hattori K, Nagamatsu K, Shimizu Y, Yazaki M, Sakurai A, Endo F, Fukushima Y, Ikeda S p.E66Q Mutation in the GLA Gene is Associated with a High Risk of Cerebral Small-Vessel Occlusion in Elderly Japanese Males. *Eur J Neurol* (2013 in press)
- 5) Inoue T, Hattori K, Ihara K, Ishii A, Nakamura K, Hirose S Newborn screening for Fabry disease in Japan: Prevalence and genotypes of Fabry disease in a pilot study. *J. Hum. Genet.* (2013 in press)
- 6) Tanaka T, Mochida T, Maki Y, Shiraki Y, Mori H, Matsumoto S, Shimbo K, Ando T, Nakamura K, Endo F, Okamoto M. Interactive network analysis of the plasma amino acids profile in a mouse model of hyperglycemia. *Springerplus.* (2013 in press)
- 7) Fujisawa D, Nakamura K, Mitsubuchi H, Ohura T, Shigematsu Y, Yorifuji T, Kasahara M, Horikawa R and Endo F Clinical features and management of organic acidemias in Japan. *J. Hum. Genet.*

(2013 in press)

- 8) 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.* 35, 777– 785 (2012).
- 9) Nishino T, Obata Y, Furusu A, Hirose M, Shinzato K, Hattori K, Nakamura K, Matsumoto T, Endo F, Kohno S. Identification of a novel mutation and prevalence study for fabry disease in Japanese dialysis patients. *Ren Fail.* 34, 566-570 (2012)
- 10) Katsuren K, Nakamura K, Ohta T. Effect of body mass index-z score on adverse levels of cardiovascular disease risk factors. *Pediatr Int.* 54, 200-204 (2012)
- 11) Nakamura K, Hattori K, Endo F. Newborn Screening for lysosomal disorders. *Am J Med Genet.* 157, 63-71 (2011)
- 12) Shigeto S, Katafuchi T, Okada Y, Nakamura K, Endo F, Okuyama T, Takeuchi H, Kroos MA, Verheijen FW, Reuser AJJ, 13) 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)
- 13) 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)
- 14) Nakamura K, Sekijima Y, Nakamura K, Hattori K, Nagamatsu K, Shimizu Y, Yasude T, Ushiyama M, Endo F, Fukushima Y, Ikeda S. Cerebral hemorrhage in Fabry's disease. *J Hum Genet.* 55, 259-61 (2010)