

ら水平性追視を行う<sup>15)</sup>事もある。また、水平性に加え垂直性眼球運動障害や斜視、眼瞼下垂、視運動性眼振や前庭眼反射の急速相の消失などを伴う事もある。

先天性眼球運動失行(COMA)との鑑別としては、基本的にCOMAは生下時から症状を認め(例:目つきが奇妙、首がすわる前からよく頭を振る)、幼児期もhead thrustingなどが持続するが、更に年齢を重ねると目立たなくなる。一方、2型GDでは生後3ヶ月位までの眼球運動は正常に見えるが、平均6.89ヶ月<sup>16)</sup>から視覚刺激に対する反応が不良となる、いわゆる退行を認める事が一般的で<sup>17,18)</sup>、退行して頭部コントロールが不良となった後でもhead thrustingを認める事がある<sup>19)</sup>。3型では幼児期から症状が出現する場合もあるが、軽微な為に成人期になって初めて指摘される事もある。

乳児期早期から急速に進行する2型GDでは眼球運動障害が肝脾腫の出現に先行し、初発症状となる場合がある<sup>16)</sup>。よって乳児期早期の斜視や眼球運動障害を見た際は本症を鑑別する必要がある。乳幼児では診察協力を得る事が難しい為、視運動性眼振(生後1カ月以上で通常はmanual spinningにて誘発可能)や、前庭眼反射の消失(locking-up)が saccadic initiation failureの簡便な評価法として有用である<sup>14,20)</sup>。

GDの眼球運動障害の病態生理に関してこれまで多くの検討がなされてきたが、詳細な機序は未だ不明である。剖検例の検討<sup>9,21-23)</sup>から、病巣として基底核・脳幹の諸核(Ⅲ, V, VI, VII, VIII神経核)や背側被蓋、視蓋前域、橋被蓋網様核や傍正中橋網様体(PPRF)を含む網様体、中位縫線核などの中脳から脊髄に至る背側脳幹正中部のグリオーシスや、小脳歯状核・室頂核の著明な神経脱落とグリオーシスが知られている。saccadeと pur-

suitの解離を説明する病巣としては、PPRFが挙げられる。サルにおいてPPRFを選択的に障害すると、初期は水平性眼球運動が saccadeも smooth pursuitも共に障害されるが、回復過程でpursuitが回復し saccadeの障害が持続する<sup>24)</sup>。剖検では病変はびまん性でPPRFに限局する異常を指摘する事は困難であるが、GDではPPRFの脆弱性があり、進行に従って水平性だけではなく垂直性眼球運動障害も呈する事から、その障害が内側縦束(MLF)を巻き込むように吻側に拡大していく事が想定される。

## 2. 眼底異常

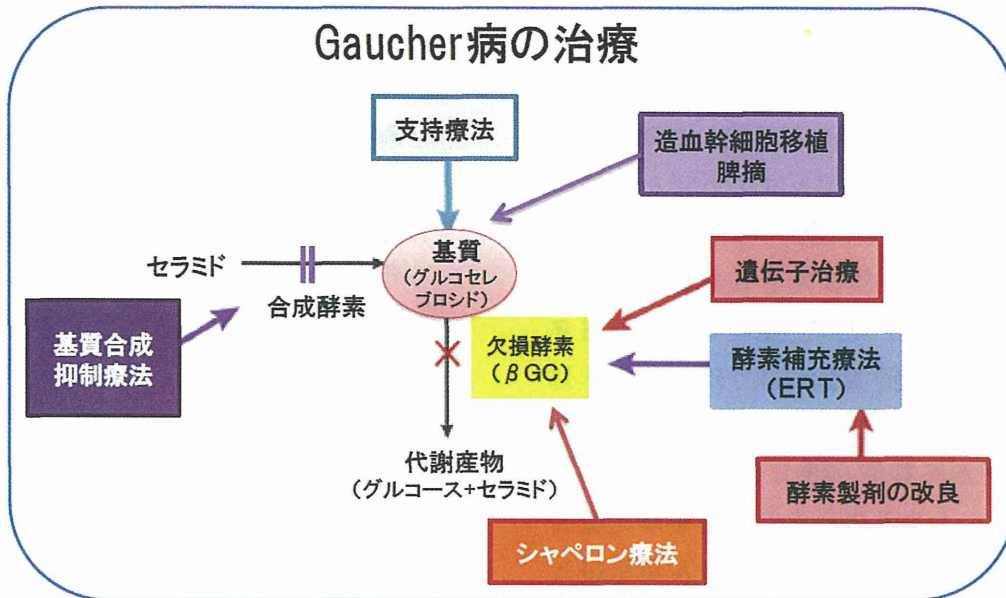
GDの眼底異常として preretinal and intraretinal white spotsが知られ、Gaucher細胞の浸潤と考えられている<sup>11)</sup>。1型GDも眼病変を呈し、角膜上皮や前房隅角、毛様体、瞳孔縁などにwhite spotsが沈着する<sup>10,11,25,26)</sup>。硝子体の混濁による視力低下を来とし、ERTにより軽快した報告<sup>27)</sup>もある為、定期的な眼底評価を要する。

## GDの治療

GDの治療を表に示す。以前は対症療法が中心であったが、酵素製剤の開発により本邦でも1998年から酵素補充療法(ERT)が可能となった。ERTによって臓器腫大や血液学的異常、骨症状の改善が得られるようになったが、酵素製剤は血液脳関門を通過出来ない為、中枢神経症状への治療効果は乏しい。この問題を解決する為に、血液脳関門を通過する化合物を用いた低分子療法(基質合成抑制療法:SRTとシャペロン療法)の開発が望まれている。

基質合成抑制療法(SRT)は、グルコシルセラミド合成酵素に対する競合阻害薬を用いて糖脂質の合成を抑制する治療法である。現在

表 GD の治療



1. 対症療法	抗痙攣薬、脾摘、輸血、呼吸管理、栄養管理、整形外科的治療、リハビリテーションなど
2. 酵素補充療法	セレザイム® 点滴静注(2週間毎)
3. 低分子療法	
基質合成抑制療法	NB-DNJ(ミグルスタット;ブレーザベス®) Genz-112638 (エリグルスタット) ※ ミグルスタットは欧米で1型GDに適応があるが、本邦では未承認。
ケミカルシャペロン療法	NN-DNJ、NOV、isofagomine、NOV-NJ、 Ambroxol(ムコソルバン®)
4. 造血幹細胞移植	1型成人例で有効例があるが、ERTが1st choice
5. 遺伝子治療、細胞治療	

NB-DNJ: N-butyldeoxynojirimycin NN-DNJ: N-nonyldeoxynojirimycin

NOV: N-octyl-β-valienamine NOI-NJ: N-octyliminomethylidene-NJ

SRTは1型GDとニーマンピック病C型(NPC)に対して欧米で臨床応用されており、NPCでは29例のNPC患者において、ミグルスタットを用いたランダム化対照試験を1年間行い、水平性衝動性眼球運動の改善を認めている

28). ミグルスタットは2012年5月より本邦でもNPCに対して使用可能となったが、1型GDは未承認である。神経型GDに対する治療効果としては、30名の3型GD患者において酵素補充療法と併用下でランダム化対照試

験を2年間行い、衝動性眼球運動に改善を認めなかったとする報告<sup>29)</sup>がある一方、症例報告ではあるが眼球運動障害の進行抑制や改善<sup>30,31)</sup>、ミオクロームスや痙攣の改善<sup>32)</sup>など神経系への効果を示す例もある為、更なる検討が必要であると考ええる。

シャペロン療法とは遺伝子異常に起因する患者の変異酵素蛋白のフォールディングを安定化し、活性の復元を図る治療法である<sup>33,34)</sup>。通常、変異酵素蛋白は、その構造異常(ミスフォールディング)の為に小胞体で分解・不活化されるが、低分子化合物(ケミカルシャペロン)は変異酵素の構造を安定化する為、分解を免れてライソゾームに到達し、そこで、蓄積基質を分解出来るようになる。現在、多くのシャペロン化合物が報告されており、培養線維芽細胞やモデル動物での有効性が示されている<sup>35-41)</sup>が、いずれも臨床応用には至っていない。Isfagomine (Plicera<sup>TM</sup>)は1型GDに対して臨床試験が行われたが、phase IIで中止となっている。そこで我々は2009年にカナダのグループが去痰薬のAmbroxol (ムコソルバン<sup>®</sup>)がGD患者由来線維芽細胞でシャペロン活性を示す事を報告<sup>40)</sup>した事を受け、鳥取大学倫理委員会の承認とインフォームドコンセントを得たのち、2010年より神経型GD患者に対しERTと併用したAmbroxolによるシャペロン療法を導入し、現在その神経学的効果と安全性を評価しており、水平性衝動性眼球運動障害の改善を認めている(データ非公表)。

### 結語

GDは希少疾患だが治療が可能となってきた為、特徴的な眼所見(水平性衝動性眼球運動障害、斜視)を認めた場合は、積極的に疑い診断を行う必要がある。

利益相反： (無) ・ 有

### 文 献

- 1) Rajappa M, Goyal A, et al: Inherited metabolic disorders involving the eye: a clinico-biochemical perspective. *Eye* **24**: 507-518, 2010
- 2) Sanderson S, Green A, et al: The incidence of inherited metabolic disorders in the West Midlands, UK. *Arch Dis Child* **91**:896-899, 2006
- 3) Applegarth DA, Toone JR, et al: Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. *Pediatrics* **105**: e10, 2000
- 4) Charrow J, Andersson HC, et al: The Gaucher registry: demographics and disease characteristics of 1698 patients with Gaucher disease. *Arch Intern Med* **160**: 2835-2843, 2000
- 5) Tajima A, Yokoi T, et al: Clinical and genetic study of Japanese patients with type 3 Gaucher disease. *Mol Genet Metab* **97**: 272-277, 2009
- 6) Patterson MC, Horowitz M, et al: Isolated horizontal supranuclear gaze palsy as a marker of severe systemic involvement in Gaucher's disease. *Neurology* **43**: 1993-1997, 1993
- 7) Accardo AP, Pensiero S, et al: Saccadic analysis for early identification of neurological involvement in Gaucher disease. *Ann N Y Acad Sci* **1039**: 503-507, 2005
- 8) Harris CM, Taylor DS, et al: Ocular motor abnormalities in Gaucher disease. *Neuropediatrics* **30**: 289-293, 1999
- 9) Winkelman MD, Banker BQ, et al: Non-infantile neuronopathic Gaucher's disease: a clinicopathologic study. *Neurology* **33**: 994-1008, 1983

- 10) Cogan DG, Chu FC, et al: Fundal abnormalities of Gaucher's disease. *Arch Ophthalmol* **98**: 2202–2203, 1980
- 11) Ueno H, Matsuo N, et al: Electron microscopic study of Gaucher cells in the eye. *Jpn J Ophthalmol* **24**: 75–81, 1980
- 12) Tylki-Szymanska A, Vellodi A, et al: Neuronopathic Gaucher disease: demographic and clinical features of 131 patients enrolled in the International Collaborative Gaucher Group Neurological Outcomes Subregistry. *J Inherit Metab Dis* **33**: 339–346, 2010
- 13) Tripp JH, Lake BD, et al: Juvenile Gaucher's disease with horizontal gaze palsy in three siblings. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **40**: 470–478, 1977
- 14) Harris CM, Shawkat F, et al: Intermittent horizontal saccade failure ('ocular motor apraxia') in children. *Br J Ophthalmol* **80**: 151–158, 1996
- 15) Cogan DG, Chu FC, et al: Ocular motor signs in some metabolic diseases. *Arch Ophthalmol* **99**: 1802–1808, 1981
- 16) 若林太一, 田嶋朝子, 他: 日本人における Gaucher 病 2 型 42 例の臨床的特徴と遺伝子異常. *脳と発達* **43**: 5248, 2011
- 17) Prows CA, Sanchez N, et al: Gaucher disease: enzyme therapy in the acute neuronopathic variant. *Am J Med Genet* **71**: 16–21, 1997
- 18) 宮田理英, 渡辺章充, 他: Gaucher 病 2 型における神経生理学的検討 病変部位の推定. *脳と発達* **38**: 289–293, 2006
- 19) Campbell PE, Harris CM, et al: A model of neuronopathic Gaucher disease. *J Inherit Metab Dis* **26**: 629–639, 2003
- 20) Garbutt S, Harwood MR, et al: Comparison of the main sequence of reflexive saccades and the quick phases of optokinetic nystagmus. *Br J Ophthalmol* **85**: 1477–1483, 2001
- 21) Buttner-Ennever JA, Uemura T, et al: Horizontal saccadic palsy associated with gliosis of the brainstem midline. *Prog Brain Res* **171**: 597–603, 2008
- 22) Conradi N, Kyllerman M, et al: Late-infantile Gaucher disease in a child with myoclonus and bulbar signs: neuropathological and neurochemical findings. *Acta Neuropathol* **82**: 152–157, 1991
- 23) Verghese J, Goldberg RF, et al: Myoclonus from selective dentate nucleus degeneration in type 3 Gaucher disease. *Arch Neurol* **57**: 389–395, 2000
- 24) Cohen B, Komatsuzaki A, et al: Electrooculographic syndrome in monkeys after pontine reticular formation lesions. *Arch Neurol* **18**: 78–92, 1968
- 25) Wang TJ, Chen MS, et al: Fundus abnormalities in a patient with type I Gaucher's disease with 12-year follow-up. *Am J Ophthalmol* **139**: 359–362, 2005
- 26) Wollstein G, Elstein D, et al: Preretinal white dots in adult-type Gaucher disease. *Retina* **19**: 570–571, 1999
- 27) vom Dahl S, Niederau C, et al: Loss of vision in Gaucher's disease and its reversal by enzyme-replacement therapy. *N Engl J Med* **338**: 1471–1472, 1998
- 28) Patterson MC, Vecchio D, et al: Miglustat for treatment of Niemann-Pick C disease: a randomised controlled study. *Lancet neurology* **6**: 765–772, 2007
- 29) Schiffmann R, Fitzgibbon EJ, et al: Randomized, controlled trial of miglustat in Gaucher's disease type 3. *Ann Neurol* **64**: 514–522, 2008
- 30) Accardo A, Pensiero S, et al: Eye movement impairment recovery in a Gaucher patient treated with miglustat. *Neurol Res Int* 2010: 358534, 2010
- 31) Cox-Brinkman J, van Breemen MJ, et al:

- Potential efficacy of enzyme replacement and substrate reduction therapy in three siblings with Gaucher disease type III. *Journal of inherited metabolic disease* **31**: 745–752, 2008
- 32) Capablo JL, Franco R, et al: Neurologic improvement in a type 3 Gaucher disease patient treated with imiglucerase/miglustat combination. *Epilepsia* **48**: 1406–1408, 2007
- 33) Suzuki Y, Ogawa S, et al: Chaperone therapy for neuronopathic lysosomal diseases: competitive inhibitors as chemical chaperones for enhancement of mutant enzyme activities. *Perspectives in medicinal chemistry* **3**: 7–19, 2009
- 34) Fan JQ, Ishii S, et al: Accelerated transport and maturation of lysosomal alpha-galactosidase A in Fabry lymphoblasts by an enzyme inhibitor. *Nat Med* **5**: 112–115, 1999
- 35) Lin H, Sugimoto Y, et al: N-octyl-beta-valienamine up-regulates activity of F213I mutant beta-glucosidase in cultured cells: a potential chemical chaperone therapy for Gaucher disease. *Biochimica et biophysica acta* **1689**: 219–228, 2004
- 36) Luan Z, Higaki K, et al: A Fluorescent sp2-aminosugar with pharmacological chaperone activity for gaucher disease: synthesis and intracellular distribution studies. *Chembiochem : a European journal of chemical biology* **11**: 2453–2464, 2010
- 37) Khanna R, Benjamin ER, et al: The pharmacological chaperone isofagomine increases the activity of the Gaucher disease L444P mutant form of beta-glucosidase. *The FEBS journal* **277**: 1618–1638, 2010
- 38) Chang HH, Asano N, et al: Hydrophilic iminosugar active-site-specific chaperones increase residual glucocerebrosidase activity in fibroblasts from Gaucher patients. *The FEBS journal* **273**: 4082–4092, 2006
- 39) Sawkar AR, Cheng WC, et al: Chemical chaperones increase the cellular activity of N370S beta -glucosidase: a therapeutic strategy for Gaucher disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**: 15428–15433, 2002
- 40) Maegawa GH, Tropak MB, et al: Identification and characterization of ambroxol as an enzyme enhancement agent for Gaucher disease. *J Biol Chem* **284**: 23502–23516, 2009
- 41) Luan Z, Li L, et al: The chaperone activity and toxicity of ambroxol on Gaucher cells and normal mice. *Brain Dev*, 2012 (Epub ahead of print)

# ライソゾーム病

成田 綾 大野 耕策

## はじめに

ライソゾームは細胞内物質の分解を主な役割とする細胞内小器官であり、その内部に60種以上もの酸性水解酵素を含み、蛋白質や糖質、ムコ多糖などの分解を行う。また、コレステロールの恒常性や、細胞膜の修復、組織や細胞内小器官のリモデリング、細胞死、感染防御など多岐にわたる細胞機能に参与している。

ライソゾーム病は、このライソゾーム中の酸性水解酵素の遺伝的欠損により分解基質が蓄積することで発症する。また、ライソゾームの膜輸送障害によって生じるものもある。

ライソゾーム病では、分解できない基質がライソゾーム内に蓄積し、罹患臓器系(中枢神経系、骨・軟骨、実質臓器、結合組織)の進行性の機能障害を生じる。とりわけ中枢神経系は脆弱であり、多くのライソゾーム病で精神運動発達遅滞や退行、痙攣、不随意運動、歩行障害、視力障害などを呈するが、疾患によってその表現型は多彩であり、診断に難渋することが度々経験される。

ライソゾーム病の個々の疾患の頻度は決して多くはないものの(最も頻度の高いとされる Gaucher 病で4~6万人当たり1人)、含まれる疾患数が30種以上にのぼることから、日常診療で決して無縁の疾患ではない。また、酵素補充療法の開発により現在6疾患[Gaucher病, Fabry病, Pompe病, MPS(mucopolysaccharidosis) I型, II型, VI型]が治療可能となっている。また、低分子療法(シヤペロン療法, 基質合成抑制療法)や細胞治療・遺伝子治療など多くの治療法の開発が期待されており、適切に診断していくことが求められる。

本稿では、ミオクローヌスを手掛かりとして、ライソゾーム病をどのように疑って診断を進めていくか概説する。

## ライソゾーム病を疑う契機となる所見

ライソゾーム病の神経学的症状は同一疾患においても病期や個人によって多様性に富んでおり、不随意運動一つをとってみても同様である。しかし、図1に示すように疾患群により多少の傾向は見てとれる。進行性ミオクローヌスてんかんの病因にライソゾーム病は多く含まれることから、原因不明の小児期発症のミオクローヌスを認めた際は、ライソゾーム病を鑑別にあげる必要がある。また、発症様式によっても各種神経代謝疾患の鑑別があげられる(図2)。

ライソゾーム病を疑った場合は、神経学的・身体的随伴所見の評価を行う。表にミオクローヌスを来す代表的なライソゾーム病の随伴所見を示す。

## ミオクローヌスを来す代表的なライソゾーム病

### 1. Gaucher 病

Gaucher病はグルコセレブロシダーゼ(GBA)遺伝子変異に基づくβグルコセレブロシダーゼ活性の低下により、その基質であるグルコセレブロシドが網内系細胞や中枢神経系に蓄積することで発症する。その3徴は肝脾腫、貧血・血小板減少、骨症状(骨痛、病的骨折)である。神経症状の有無と重症度により非神経型(I型)と神経型(II, III型)に

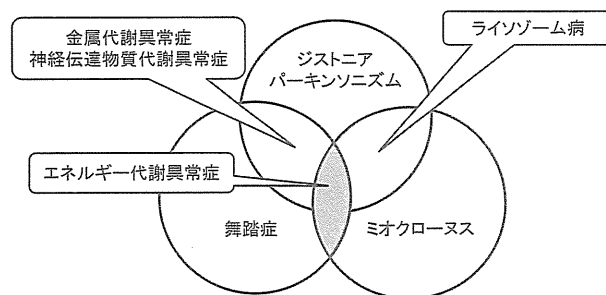


図1 不随意運動から推測する神経代謝疾患

なりた あや 鳥取大学/脳神経小児科学助教  
おの こうさく 同 教授

分類される。

II型は乳児期発症の筋緊張亢進、後弓反跳、斜視、著明な肝脾腫を伴い、急速に神経症状が進行する予後不良な型である。一方、III型はII型より神経症状の進行は緩徐で、水平性眼球運動障害や痙攣、ミオクローヌス、小脳失調などを呈する。

III型の中で N188S のヘテロ接合を有する場合、10~15 歳前後でミオクローヌスてんかんにて発症し、肝脾腫や貧血・血小板減少などの所見が軽症で、残存酵素活性が比較的高値であるという共通した特徴が自験例やこれまでの報告で認められる<sup>1~7)</sup>。また、この N188S 変異はアジア圏から複数の報告がなされていることから、本邦における若年発症のミオクローヌスてんかんでは Gaucher 病を鑑別にあげる必要があると考える。

また、LIMP-2 (lysosomal integral membrane protein type 2) は  $\beta$  グルコセレブロシダーゼの小胞体からライソゾームへの輸送を担うライソゾーム膜蛋白である<sup>8)</sup>。Action myoclonus-renal failure syndrome (AMRF) はこの LIMP-2/SCARB2

の遺伝子変異によって生じる進行性ミオクローヌスてんかんと失調、腎機能障害を主徴とする疾患で<sup>9)</sup>、培養皮膚線維芽細胞では  $\beta$  グルコセレブロシダーゼ活性の低下を認める。なかには腎機能障害を呈さない例もあるため<sup>10)</sup>、Gaucher 病との鑑別を要する。

Gaucher 病を疑った際の確定診断は、リンパ球および培

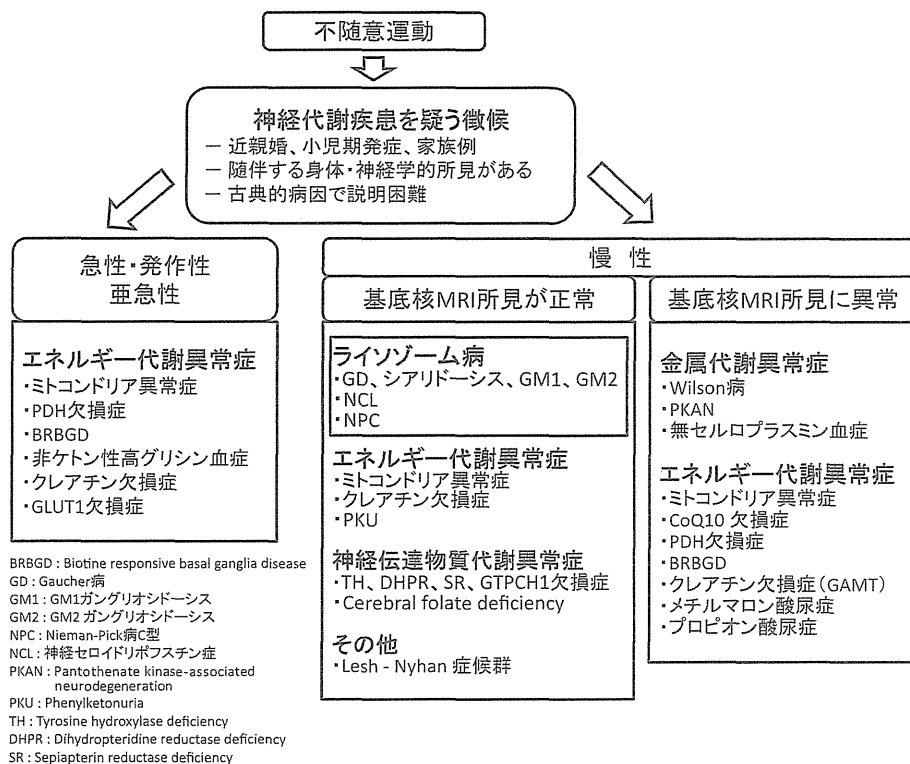


図 2 発症様式から推測する神経代謝疾患

ミオクローヌスを来すライソゾーム病に随伴する神経・身体所見

	肝脾腫	眼球運動障害	眼底異常			聴覚過敏	失調	特徴的顔貌	リンパ球空胞化
			Cherry-red spot	網膜色素変性	視神経萎縮				
GD	○	○(水平性)					○	○	
NCL			○	○	○		○	○(CNL3)	
NPC	○	○(垂直性)					○	○	
シアリドーシス	○(II型)		○				○(II型)	○	
ガラクトシアリドーシス	○		○				○	○	
GM1	○		○(乳児・若年型)		○	○	○	○	
GM2			○(乳児・若年型)		○	○(T-S)	○(T-S)	○	

GD : Gaucher 病 ; NCL : 神経セロイドリポフスチン症 ; NPC : Nieman-Pick 病 C 型  
 GM1 : GM1 ガングリオシドーシス ; GM2 : GM2 ガングリオシドーシス ; T-S : Tay-Sachs 病

養皮膚線維芽細胞での $\beta$ グルコセレブロシダーゼ活性測定および遺伝子検査となる。他にも、血清酸性ホスファターゼ(ACP)やアンジオテンシン変換酵素(ACE)の高値は本症を疑わせる。

本症に対する治療としては酵素補充療法(ERT: enzyme replacement therapy)が行われ、肝脾腫や貧血・血小板減少や骨症状に対して有効である。しかし、酵素製剤は脳血液関門を通過できないため、本邦のGaucher病患者の過半数を占める神経型の中樞神経症状にERTは無効であり、新規治療法(シャペロン療法、基質合成抑制療法、遺伝子治療など)の開発が望まれる。

本症におけるミオクローヌスならびにミオクローヌスでんかんでは、体性感覚誘発電位でのgiant SEPやC反射(long-latency long-loop reflex)を認めることから、皮質が起源であると推定される。一方で、ミオクローヌスと対応する脳波異常を認めず、剖検にて小脳歯状核と上小脳脚(歯状核赤核視床線維)に局限した神経変性を認めたⅢ型の報告もあり<sup>11)</sup>、皮質過敏性に対する小脳の影響は重要であると推測されるが、その機序に関しては不明である。治療としては、バルプロ酸やベンゾジアゼピン系のクロナゼパムやニトラゼパム、レベチラセタム、ピラセタムなど各種抗てんかん薬が用いられるが、しばしば多くの薬剤に抵抗性である。フェニトインはその副作用(小脳失調)やUnverricht-Lundborg病での平均寿命の短縮と痴呆の悪化<sup>12)</sup>が報告されているが、病期の進んだ進行性ミオクローヌスでんかん9例(Gaucher病Ⅲ型1名を含む)に対してフェニトインを使用し、ミオクローヌスの軽減や痙攣重積の予防に有効であった報告もある<sup>13)</sup>。

## 2. 神経セロイドリポフスチン症

(Neuronal ceroid lipofuscinoses; NCL)

神経セロイドリポフスチン症は進行性の精神運動退行、視力喪失、ミオクローヌス、難治性でんかんを主徴とし、病理学的には神経細胞や線維芽細胞などの多くの細胞のライソゾーム内に自家蛍光を発するリポフスチン顆粒が蓄積していることが特徴である。原因遺伝子として現在8種類(CNL1, CNL2, CNL3, CNL5, CNL6, CNL7, CNL8, CNL10)が知られている。報告されている変異の大部分は乳児型(CNL1)、遅発乳児型(CNL2)、若年型(CNL3)であるが、多様な臨床病型や地域・人種分布を示す。神経セロ

イドリポフスチン症では遺伝子異常に起因するライソゾーム酵素の欠損(CNL1; PPT1 活性低下, CNL2; TPP1 活性低下)の他、ライソゾーム膜蛋白の障害<sup>14, 15)</sup>、アポトーシス<sup>16)</sup>やミトコンドリアのターンオーバー異常<sup>17)</sup>、後期エンドソーム膜の形態形成と膜輸送に関与するとされるBMP(bis monoacylglycerol phosphate)の合成の異常(CNL3)<sup>18)</sup>など、多くの細胞機能に関与していることが推測されているが、その病態に関してはまだ十分には分かっていない。

ミオクローヌスや痙攣に対しては、バルプロ酸やベンゾジアゼピン系のクロナゼパム、ラモトリジン、レベチラセタムやトピラメートなどが用いられる。ラモトリジンは乳児型および若年型神経セロイドリポフスチン症でその有効性が報告されている<sup>19, 20)</sup>一方、ミオクローヌスの悪化や舞踏病、振戦、眼球運動異常を生じることもあるため<sup>21, 22)</sup>、注意を要する。

## 3. シアリドーシス

シアリドーシスはシアリダーゼ(NEU1)遺伝子変異に基づくシアリダーゼ活性の低下により中樞神経系や骨などの全身臓器にシアル酸-オリゴ糖複合体が蓄積して発症する常染色体劣性遺伝病である。また、モデルマウスの解析で、Neu1自体がライソゾーム膜蛋白であるLAMP-1(lysosome-associated membrane protein 1)との相互作用で、ライソゾームの細胞内輸送を制御するという報告もある<sup>23)</sup>。

本症は2つの臨床型(I型, II型)に分類され、I型は顔貌や骨の異常を伴わない軽症型で、チェリーレッドスポットミオクローヌス症候群とも呼ばれる。通常10歳代で視力の低下、ミオクローヌス、てんかんが出現する。また、手足の焼けるような痛みが特徴的で、高温にて悪化する特徴がある。ミオクローヌスは自発性で、随意運動や音、接触刺激などにより誘発される。また、口周囲の不規則なミオクローヌスも特徴的で、四肢のミオクローヌスとは異なり睡眠時も持続する。ミオクローヌスはしばしば治療抵抗性であるが、知的障害は伴わないことが多い。II型は視力の低下やミオクローヌスに加えて、粗野な顔貌や骨の異常(腰椎骨前面のくちばし状変形)を伴い、I型より早期に発症する。神経症状は進行性で知的障害を認める。シアリドーシスを疑った場合は、末梢血リンパ球や培養皮膚線維芽細胞を用いたシアリダーゼ活性測定を行う。本症の治療として特異的なものはない。



#### 4. ガラクトシアリドーシス

ガラクトシアリドーシスはライソゾーム性保護蛋白質/カテプシン A をコードする CTSA 遺伝子変異に基づく常染色体劣性遺伝病である。CTSA はそれ自身がカテプシン A (酸性カルボキシペプチダーゼ, 中性デアミダーゼ) としての酵素活性を持つと共に, ライソゾーム内ではシアリダーゼ (NEU1) や  $\beta$ -ガラクトシダーゼ 1 (GLB1) と共に高分子複合体を形成し, NEU1 を活性化し, GLB1 をプロテアーゼによる分解から保護する機能を持つ多機能性糖蛋白質である。この CTSA の異常により, 一次的なカテプシン A 活性の低下と二次的なシアリダーゼおよび  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性の低下がおり, その結果, シアリドーシス類似の臨床症状を来す疾患がガラクトシアリドーシスである。カテプシン A およびシアリダーゼの活性低下は著しいが,  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性低下は部分的であるため, その臨床症状はシアリドーシスに極めて類似する。

発症年齢および重症度により 3 つの臨床型に分類される。I 型 (早期乳児型) は生直後より浮腫, 腹水で発症し, 肝脾腫や骨変形, 顔貌異常を伴い, 心不全, 呼吸障害, 中枢神経症状を伴って急速に進行する最重症型である。II 型 (若年・成人型) は 10 歳前後に視力障害, ミオクロームス, 痙攣, 小脳失調で発症し, 被角血管腫 (angiokeratoma) を伴う。III 型 (晩期乳児型) は肝脾腫, 骨変形や心臓弁膜症などを伴うが比較的緩徐な経過をたどり, 神経症状は示さないか, あっても軽度である。特異的な治療法はないが, ミオクロームスに対してレベチラセタムが有効であった報告<sup>24)</sup>もある。

#### 診 断

ライソゾーム病の主な診断法については, 一部は検査会社 (SRL 社) への委託が可能である。また, 複数の大学研究室にても検査を受託しているため, 詳細は下記ウェブサイトを参照いただき, 事前に測定施設と検体採取や送付方法について検討されたい。

日本ライソゾーム病研究センターホームページ: ライソゾーム病の診断治療施設案内

<http://www.japan-lsd.jp/establishment.html>

厚生労働省難治疾患克服事業: ライソゾーム病 (Fabry 病を含む) に関する調査研究班

<http://www.japan-lsd-mhlw.jp/diagnostics.html>

#### 文 献

- 1) Park JK, Orvisky E, Tayebi N, et al. Myoclonic epilepsy in Gaucher disease: genotype-phenotype insights from a rare patient subgroup. *Pediatr Res.* 2003; 53: 387-95.
- 2) Kim JW, Liou BB, Lai MY, et al. Gaucher disease: identification of three new mutation in Korean and Chinese (Taiwanese) populations. *Hum Mutat.* 1996; 7: 214-8.
- 3) Choy FY, Wong K, Shi HP. Glucocerebrosidase mutations among Chinese neuronopathic and non-neuronopathic Gaucher disease patients. *Am J Med Genet.* 1999; 84: 484-6.
- 4) Filocamo M, Mazzotti R, Stroppiano M, et al. Early visual seizures and progressive myoclonus epilepsy in neuronopathic Gaucher disease due to a rare compound heterozygosity (N188S/S107L). *Epilepsia.* 2004; 45: 1154-7.
- 5) Kowarz L, Goker-Alpan O, Banerjee-Basu S, et al. Gaucher mutation N188S is associated with myoclonic epilepsy. *Hum Mutat.* 2005; 26: 271-3.
- 6) Choy FY, Zhang W, Shi HP. Gaucher disease among Chinese patients: review on genotype/phenotype correlation from 29 patients and identification of novel and rare alleles. *Blood Cells Mol Dis.* 2007; 38: 287-93.
- 7) Tajima A, Ohashi T, Hamano S, et al. Gaucher disease patient with myoclonus epilepsy and a novel mutation. *Pediatr Neurol.* 2010; 42: 65-8.
- 8) Reczek D, Schwake M, et al. LIMP-2 is a receptor for lysosomal mannose-6-phosphate-independent targeting of  $\beta$ -glucocerebrosidase. *Cell.* 2007; 131: 770-83.
- 9) Balreira A, Gaspar P, et al. A nonsense mutation in the LIMP-2 gene associated with progressive myoclonic epilepsy and nephritic syndrome. *Hum Mol Genet.* 2008; 17: 2238-43.
- 10) Dibbens LM, Berkovic SF, Gambardella A, et al. SCARB2 mutations in progressive myoclonus epilepsy (PME) without renal failure. *Ann Neurol.* 2009; 66: 532-6.
- 11) Verghese J, Goldberg RF, Desnick RJ, et al. Myoclonus from selective dentate nucleus degeneration in type 3 Gaucher disease. *Arch Neurol.* 2000; 57: 389-95.
- 12) Kälviäinen R, Khyuppenen J, Koskenkorva P, et al. Clinical picture of EPM1-Unverricht-Lundborg disease. *Epilepsia.* 2008; 49: 549-56.
- 13) Miyahara A, Saito Y, Sugai K, et al. Reassessment of phenytoin for treatment of late stage progressive myoclonus epilepsy complicated with status epilepticus. *Epilepsy Res.* 2009; 84: 201-9.
- 14) Golabek AA, Kida E, Walus M, et al. CNL3 protein regulates lysosomal pH and alters intracellular processing of Alzheimer's amyloid-beta protein precursor and cathepsin D in human cells. *Mol Genet Metab.* 2000; 70: 203-13.
- 15) Ramirez-Montealegre D, Pearce DA, et al. Defective lysosomal arginine transport in juvenile Batten disease. *Hum Mol Genet.* 2005; 14: 3759-73.
- 16) Puranamu KL, Guo WX, Qian WH, et al. CLN3 defines a novel antiapoptotic pathway operative in neurodegeneration and mediated by ceramide. *Mol Genet Metab.* 1999; 66: 294-308.
- 17) Margraf LR, Boriack RL, Routheut AA, et al. Tissue expression and subcellular localization of CLN3, the Batten disease protein. *Mol Genet Metab.* 1999; 66: 283-9.
- 18) Hobert JA, Dawson G. A novel role of the Batten disease gene CLN3: association with BMP synthesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007; 358: 111-6.
- 19) Santavuori P, Himberg J-J, Ahola A, et al. Lamotrigine therapy in infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Epilepsia.* 1995; 36 (suppl 3): S264.
- 20) Aberg LE, Backman M, Kirveskari E, et al. Epilepsy and antiepileptic drug therapy in juvenile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Epilepsia.* 2000; 41: 1296-302.
- 21) Das KB, Harris C, Smyth DP, et al. Unusual side effects of lamotrigine therapy. *J Child Neurol.* 2003; 18: 479-80.
- 22) Crespel A, Genton P, Berramdane M, et al. Lamotrigine associated with exacerbation or de novo myoclonus in idiopathic generalized epilepsies. *Neurology.* 2005; 65: 762-4.
- 23) Yogalingam G, Bonten EJ, van de Vlekkert D, et al. Neuraminidase 1 is a negative regulator of lysosomal exocytosis. *Dev Cell.* 2008; 15: 74-86.
- 24) Abaroa L, Garretto NS, Araki T, et al. Myoclonus and angiokeratomas in adult galactosialidosis. *Mov Disord.* 2011; 26: 756-7.

## BRIEF COMMUNICATION

**Abnormal pupillary light reflex with chromatic pupillometry in Gaucher disease**

Aya Narita<sup>1</sup>, Kentarou Shirai<sup>1</sup>, Norika Kubota<sup>2</sup>, Rumiko Takayama<sup>3</sup>, Yukitoshi Takahashi<sup>3</sup>, Takanori Onuki<sup>4</sup>, Chikahiko Numakura<sup>4</sup>, Mitsuhiro Kato<sup>4</sup>, Yusuke Hamada<sup>5</sup>, Norio Sakai<sup>5</sup>, Atsuko Ohno<sup>6</sup>, Maya Asami<sup>7</sup>, Shoko Matsushita<sup>7</sup>, Anri Hayashi<sup>8</sup>, Tomohiro Kumada<sup>8</sup>, Tatsuya Fujii<sup>8</sup>, Asako Horino<sup>9</sup>, Takeshi Inoue<sup>9</sup>, Ichiro Kuki<sup>9</sup>, Ken Asakawa<sup>10</sup>, Hitoshi Ishikawa<sup>10</sup>, Koyo Ohno<sup>1</sup>, Yoko Nishimura<sup>1</sup>, Akiko Tamasaki<sup>1</sup>, Yoshihiro Maegaki<sup>1</sup> & Kousaku Ohno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Child Neurology, Institute of Neurological Science, Tottori University Faculty of Medicine, Yonago, Japan

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, National Hospital Organization Matsue Medical Center, Shimane, Japan

<sup>3</sup>Department of Clinical Research, National Epilepsy Center, Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorders, Shizuoka, Japan

<sup>4</sup>Department of Pediatrics, Yamagata University School of Medicine, Yamagata, Japan

<sup>5</sup>Department of Pediatrics, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan

<sup>6</sup>Department of Pediatric Neurology, Aichi Children's Health and Medical Center, Aichi, Japan

<sup>7</sup>Department of Pediatrics, School of Medicine, Iwate Medical University, Morioka, Japan

<sup>8</sup>Department of Pediatrics, Shiga Medical Center for Children, Shiga, Japan

<sup>9</sup>Department of Pediatric Neurology, Children's Medical Center, Osaka City General Hospital, Osaka, Japan

<sup>10</sup>Department of Orthoptics and Visual Sciences, Kitasato University School of Allied Health Sciences, Kanagawa, Japan

**Correspondence**

Aya Narita, Division of Child Neurology, Institute of Neurological Sciences, Faculty of Medicine, Tottori University, 36-1 Nishi-cho, Yonago, Japan. Tel: +81-859-38-6777; Fax: +81-859-38-6779; E-mail: aya.luce@nifty.com

**Funding Information**

This study was supported by grants from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan (H23-25 Nanji-Ippan-002).

Received: 3 September 2013; Revised: 20 December 2013; Accepted: 20 December 2013

*Annals of Clinical and Translational Neurology* 2014; 1(2): 135–140

doi: 10.1002/acn3.33

**Introduction**

Gaucher disease (GD) is the lysosomal storage disorder, caused by a deficiency of the lysosomal enzyme glucocerebrosidase (GBA), which catalyzes the degradation of glucosylceramide. GD phenotypes are clinically divided into three types: type 1 (GD1), the non-neuronopathic form; type 2 (GD2), infantile onset and rapid relentless neurological progression leading to death, usually by 2 years of age; type 3 (GD3), subacute neuronopathic, characterized by slower and more variable neurological progression.<sup>1</sup>

**Abstract**

The hallmark of neuronopathic Gaucher disease (GD) is oculomotor abnormalities, but ophthalmological assessment is difficult in uncooperative patients. Chromatic pupillometry is a quantitative method to assess the pupillary light reflex (PLR) with minimal patient cooperation. Thus, we investigated whether chromatic pupillometry could be useful for neurological evaluations in GD. In our neuronopathic GD patients, red light-induced PLR was markedly impaired, whereas blue light-induced PLR was relatively spared. In addition, patients with non-neuronopathic GD showed no abnormalities. These novel findings show that chromatic pupillometry is a convenient method to detect neurological signs and monitor the course of disease in neuronopathic GD.

GD often involves the visual system and oculomotor deficits are the earliest symptoms identified in neuronopathic GD patients.<sup>2</sup> The most common manifestation is saccadic initiation failure, which has been variously labeled as “ocular motor apraxia” or “horizontal supranuclear gaze palsy.”<sup>3,4</sup> These findings are pathognomonic and play an important role in diagnosis, whereas it is difficult to record saccades objectively in uncooperative patients and in children.

In addition to these ocular manifestations, we noticed that some patients with neuronopathic GD have dilated pupils and reacted sluggishly to a broad-spectrum (white)

light. Pupillary light reflex (PLR) can be measured noninvasively using a pupillometer, which uses an infrared camera to measure the pupil's reaction to light. Certain commercially available models allow for short testing times and minimal patient cooperation. Such devices are currently used in the clinic and in clinical research to measure retina, optic nerve, oculomotor, and brainstem functions.<sup>5,6</sup>

In this study, we evaluated pupil responses using chromatic pupillometry in GD patients to assess the incidence of PLR impairment and establish whether PLR is useful in the detection of neurological symptoms.

## Subjects and Methods

### Subjects

Data were acquired from 10 GD patients (one GD1 patient, five GD2 patients, and four GD3 patients) and 32 healthy controls (Control 1:  $n = 30$ , median age 23, range 22–37 years of age; Control 2: 4-year-old female; Control 3: 6-year-old female). The diagnosis of GD was confirmed by a deficiency of GBA activity in leukocytes or cultured fibroblasts and mutation analysis of the GBA gene. All GD patients underwent enzyme replacement therapy (imiglucerase, 60 IU/kg every 2 weeks) during the study. Moreover, they underwent general ophthalmological assessments and electrophysiologic studies (electroretinogram: ERG and visual evoked potential: VEP) to exclude other causes of visual impairment before PLR was assessed. All participants gave written informed consent to participation in the study, which had secured ethical approval from the institutional review board (Tottori University School of Medicine Ethics Committee Approval 2012).

### Chromatic pupillometry

A binocular infrared pupillometer, IrisCorder Dual C10641 (Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japan) was used for all experiments. This device is the same as that described by Ishikawa et al.,<sup>7</sup> and capable of recording PLR under blue (470 nm) and red (635 nm) LED light stimuli. The stimulation luminance is selectable from 10, 100, and 270  $\text{cd}/\text{m}^2$ . For this experiment, we selected 1-sec blue and red stimuli of 100  $\text{cd}/\text{m}^2$ . This protocol was based on the assumption that a high-intensity blue stimulus (100  $\text{cd}/\text{m}^2$ , <480 nm) sensitizes intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGCs), whereas a high-intensity red stimulus (100  $\text{cd}/\text{m}^2$ , >620 nm) sensitizes L/M cones.<sup>8,9</sup>

Before recording, the subjects were asked to wear the goggles for 10 min for dark adaptation. In each series, the red stimulus was presented first, followed by the blue stimulus. PLR was measured in the same eye that received the light stimulation (closed-loop paradigm). One set of

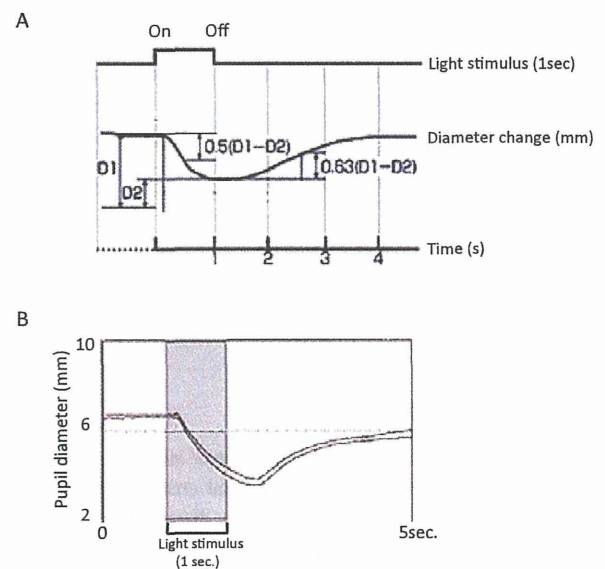
pupillary response tests consisted of three parts: 1 sec before stimulation, 1 sec during stimulation, and 3 sec after stimulation (a total of 5 sec). Figure 1 shows a representative normal pupil response.

### Pupil recording and analysis

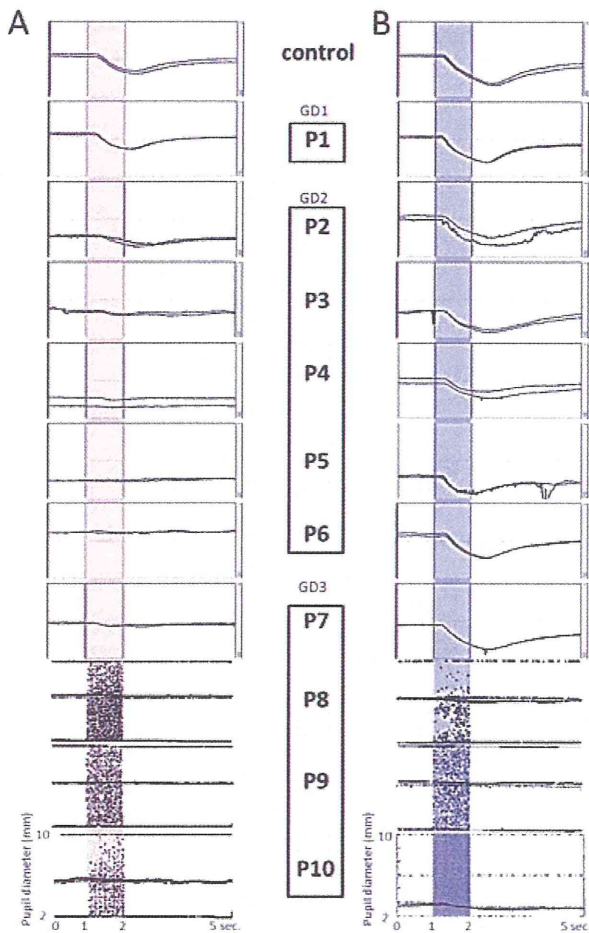
We evaluated the initial constriction rate (CR). CR was calculated using the following formula:  $\text{CR} (\%) = (\text{initial pupil diameter: } D1 - \text{minimum pupil diameter: } D2) / D1 \times 100$ .  $D1$  was derived from the median size during the 1 sec just before the onset of each light stimulus, after dark adaptation. Negative constriction was defined as responses <5% to distinguish evoked pupil responses from random noise. Each procedure was tested twice after a minimum interval of 1 min without light stimulation. For each pupillometric variable, we used the average of all measurements for both eyes.

## Results

The clinical characteristics and findings are provided in Figure 2 and Table 1. The graphic representation of the pupillary response to monochromatic light stimulation showed that red light-induced CRs (R-CRs) were markedly attenuated or absent in neuronopathic GD patients (Patients 2–10). Although R-CR was measured quantitatively in four patients (Patients 2, 3, 4, and 7), visibly



**Figure 1.** Example of a normal pupillary light reflex (PLR) profile. (A) PLR parameters.  $D1$  = Initial pupil diameter (mm),  $D2$  = Minimum pupil diameter (mm) after a pupillary reaction to light,  $\text{CR}$  = Initial constriction rate  $(\%) = (D1 - D2) / D1 \times 100$  (B) Actual PLR recordings for both pupils.



**Figure 2.** The pupillary light reflex (PLR) to monochromatic light stimulation, as measured in 10 GD patients and controls. Each trace was elicited by a red (A) or blue (B) single flash stimulus, with duration of 1 sec and intensity of 100 cd/m<sup>2</sup>. (A) Red light-induced PLRs were normal in P1 (GD1: non-neuronopathic type) but markedly attenuated or absent in neuronopathic GD patients (P2–6: type 2, P7–10: type 3) except for P2. (B) Blue light-induced PLRs were normal in P1 and relatively spared in GD2 patients but absent in GD3 patients (except for P7). The mean measurements of initial constriction rate (CR) are shown in Table 1.

clear waveforms were confirmed in only one patient (Patient 2); the remaining three patients showed significantly low R-CRs. In contrast, blue light-induced CRs (B-CRs) were relatively spared. All neuronopathic patients already exhibited horizontal saccadic initiation failure at initial PLR examination. Patient 1 (GD1) had no abnormalities in all assessments.

## Discussion

In this study, we successfully used pupillometry to identify PLR impairment in neuronopathic GD patients. We

noted that the qualitative trend for reduced R-CRs was associated with the severity of the neurological symptoms, as indicated by activity of daily living (ADL) deficits. Our findings suggest that neuronopathic GD progression induces severe attenuation of R-CR, with relative sparing of B-CR. To our knowledge, the abnormal PLR in neuronopathic GD is a novel physiological finding.

The PLR pathway begins with the axons of photosensitive retinal ganglion cells (RGCs) that convey information to the optic nerve. The optic nerve subsequently connects to several targets in the midbrain, including the olivary pretectal nucleus (OPN) and Edinger–Westphal nucleus (EWN), and the oculomotor nerve. Neuronopathic GD is known to involve the midline of the dorsal brainstem, EWN, and oculomotor nucleus.<sup>10–12</sup> Thus, it is possible that PLR abnormalities may reflect dysfunctional parasympathetic innervation between the dorsal midline of the midbrain and the iris. However, the physiology that underlies the difference between R-CR and B-CR remains unclear. These findings led us to propose two hypotheses: (1) relative sparing of B-CR may be derived from the function of ipRGCs; (2) functional changes of the inner retina may lead to loss of R-CR.

For decades, rods and cones were considered the only photoreceptors, and both provide excitatory input to conventional RGCs via bipolar cells. However, the discovery of ipRGCs and the presence of the characteristic photopigment melanopsin in them have led to changes in this classical view.<sup>13,14</sup> Melanopsin-expressing ipRGCs comprise 0.2% RGCs and respond to light stimulation in the absence of any synaptic rod/cone input.<sup>15</sup> The ipRGCs combine their direct photoresponses with synaptic rod/cone input and project to several brain nuclei that regulate circadian rhythms (the suprachiasmatic nucleus), PLR (OPN) and the imaging-forming system (the lateral geniculate nucleus). However, little is known about the differences in the pathways of conventional RGCs and ipRGCs in the optic nerve and brainstem.

Recently, increasing evidence has indicated that ipRGCs are resistant to neurodegeneration. Histopathological studies in patients with mitochondrial optic neuropathy have shown relative sparing of ipRGCs compared with conventional RGCs,<sup>16</sup> with pupillometry analysis showing a slight reduction in CR in the affected eye.<sup>17</sup> In addition, only ~17% ipRGCs need to be activated to drive full pupillary constriction in ipRGC-knockout mice.<sup>18</sup> Thus, we speculate that ipRGCs likely have a high cellular resistance to metabolic derangement, leading to relative preservation of B-CR.

Next, we investigated why neuronopathic GD patients show R-CR impairment even though their rods and cones remain functional. Several prior studies have suggested the utility of chromatic pupillometry to monitor each photoreceptor separately using stimuli of different wavelengths and

**Table 1.** Genotypes, phenotypes, and clinical findings of GD patients.

ID	Sex	Age at onset of HSIF	Age at PLR exam	Phenotype	Genotype	ADL	Communication	Results of pupillometry		Visual acuity	Horizontal gaze		Vertical gaze palsy	VOR	VEP	ERG	
								R-CR (%)	B-CR (%)		SIF	PF					
1	M	(-)	24 years	1	L444P/D409H	N	N	28.8	46.8	N	(-)	(-)	(-)	(+)	N	N	
2	M	7 months	7 months	2	F213I/R120W	N	N	22.7	55.0	N	(+)	(+)	(-)	(+)	N	N	
3	F	6 months	7 months	2	V230G/R296X	B/Tra/Tu	I	15.0	44.5	NA	(+)	(+)	(+)	NA	NA	N	
4	F	3 months	9 months	2	L444P/R120W	B/Tra/Tu/V	I	5.5	40.0	NA	(+)	(+)	(+)	(-)	Giant VEP	OPs↓	
5	F	?	2 years	2	RecNcil?	B/Tra/Tu/V	I	(-)	44.7	NA	(+)	(+)	(+)	(-)	N	OPs↓	
6	F	2 months	3 years	2	F213I/RecNcil	B/Tra/Tu/V	I	(-)	38.8	NA	(+)	(+)	(+)	(-)	Giant VEP	OPs↓	
7	F	8 months	9 years	3	L444P/L444P	N	N	7.0	51.0	N	(+)	(+)	(-)	(-)	N	N	
8	F	16 years	16 years	3	N188S/?	TA	N	(-)	(-)	N	(+)	(-)	(-)	Fast phase (-)	N	N	
9	F	20 years	20 years	3	N188S/?	TA	N	(-)	(-)	N	(+)	(-)	(-)	Fast phase (-)	Giant VEP	N	
10	F	14 years	29 years	3	N188S/ G193W	B/Tra/Tu	I	(-)	(-)	NA	(+)	(+)	(+)	(-)	Giant VEP	N	
Control 1 (n = 30)		Median age: 23 years (range: 22 – 37 years, M:F = 9:13)						35.1 ± 7.0	48.1 ± 5.6								
Control 2		4 years (F)						45.0	56.0								
Control 3		6 years (F)						38.0	53.5								

F, female; M, male; HSIF, horizontal saccadic initiation failure; PLR, pupillary light reflex; ADL, activity of daily living; N, normal or age-appropriate; B, bedridden; Tra, tracheotomy; V, ventilation; Tu, tube feeding; TA, total assistance; I, impaired; R-CR, red light-induced initial constriction rate; B-CR, blue light-induced initial constriction rate; (-), negative construction (CR < 5%); SIF, saccadic initiation failure; PF, pursuit failure; VOR, vestibulo-ocular reflex; ERG, electroretinogram; VEP, visual evoked potential; NA, not available; OPs, oscillatory potentials; ↓, attenuated.

intensities.<sup>8,9,19</sup> M/L cones can be uniquely stimulated at wavelengths beyond 620 nm (red light,  $\lambda_{\max} = 543, 566$  nm), whereas other photoreceptors are thought to be insensitive. Rods respond to blue light ( $\lambda_{\max} = 507$  nm) at low luminance levels (normal threshold at  $-3$  to  $-5$  log cd/m<sup>2</sup>) and ipRGCs are sensitized to blue light ( $\lambda_{\max} = 482$  nm) at higher luminance levels (100 cd/m<sup>2</sup>).

In this study, we selected high-intensity blue and red stimuli to sensitize ipRGCs and L/M cones. Although all patients exhibited normal a-wave amplitudes with flash-ERG, which reflects cone activity, R-CR was severely impaired. On the other hand, decreased ERG OPs were found in our patients and decreased ERG b-wave amplitudes have been reported in a visually asymptomatic GD patient.<sup>20</sup> Lowering OPs and b-wave amplitudes are typically attributed to changes in the inner nuclear layer (amacrine cells and Müller cells) of the retina.

Therefore, we assume that the primary deficit (storage of substrate) caused secondary functional changes to the inner retina, and the synaptic rod/cone inputs to both RGCs via bipolar cells may be blocked, resulting eventually in the progression of R-CR (derived from cone/rod activation via conventional RGCs and ipRGCs) to loss. On the other hand, B-CR may be relatively spared because of their intrinsic response of ipRGCs. While further studies are warranted, chromatic pupillometry can be used to facilitate future investigation of GD pathophysiology.

In conclusion, neuronopathic GD patients have PLR impairments and chromatic pupillometry appears to be a useful method to evaluate such patients, regardless of age or neurocognitive status. Further studies are required to investigate the utility of this method to monitor prognosis and as a predictor of disease progression in larger patient samples.

## Acknowledgment

This study was supported by grants from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan (H23-25 Nanji-Ippan-002).

## Author Contribution

Kentarou Shirai, M.D., Koyo Ohno, M.D., Yoko Nishimura, M.D., and Akiko Tamasaki, M.D. were involved in examining the patients and collecting the resulting data. Norika Kubota, Ph.D., M.D., Rumiko Takayama, M.D., Yukitoshi Takahashi, Ph.D., M.D., Takanori Onuki, M.D., Chikahiko Numakura, Ph.D., M.D., Mitsuhiro Kato, Ph.D., M.D., Yusuke Hamada, M.D., Norio Sakai, Ph.D., M.D., Atsuko Ohno, M.D., Maya Asami, M.D., Shoko Matsushita, Ph.D., M.D., Anri Hayashi, M.D., Tomohiro Kumada, Ph.D., M.D., Tatsuya Fujii, Ph.D., M.D., Asako Horino, M.D., and

Takeshi Inoue, M.D., Ichiro Kuki, M.D. were responsible for introducing the patients to our hospital and actively involved in the methods employed for the purpose of this study. Ken Asakawa, Ph.D., Hitoshi Ishikawa, Ph.D., M.D., Yoshihiro Maegaki, Ph.D., M.D., and Kousaku Ohno, Ph.D., M.D. supervised the entire study, providing value inputs for the methods and discussion aspects of the manuscript.

## Conflict of Interest

None declared.

## References

1. Scriver CR. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 7th ed. New York: McGraw-Hill, Health Professions Division, 1995.
2. Tytki-Szymanska A, Vellodi A, El-Beshlawy A, et al. Neuronopathic Gaucher disease: demographic and clinical features of 131 patients enrolled in the International Collaborative Gaucher Group Neurological Outcomes Subregistry. *J Inherit Metab Dis* 2010;33:339–346.
3. Patterson MC, Horowitz M, Abel RB, et al. Isolated horizontal supranuclear gaze palsy as a marker of severe systemic involvement in Gaucher's disease. *Neurology* 1993;43:1993–1997.
4. Harris CM, Taylor DS, Vellodi A. Ocular motor abnormalities in Gaucher disease. *Neuropediatrics* 1999;30:289–293.
5. Kardon R, Anderson SC, Damarjian TG, et al. Chromatic pupillometry in patients with retinitis pigmentosa. *Ophthalmology* 2011;118:376–381.
6. Kawasaki A, Crippa SV, Kardon R, et al. Characterization of pupil responses to blue and red light stimuli in autosomal dominant retinitis pigmentosa due to NR2E3 mutation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:5562–5569.
7. Ishikawa H, Onodera A, Asakawa K, et al. Effects of selective-wavelength block filters on pupillary light reflex under red and blue light stimuli. *Jpn J Ophthalmol* 2012;56:181–186.
8. Kardon R, Anderson SC, Damarjian TG, et al. Chromatic pupil responses: preferential activation of the melanopsin-mediated versus outer photoreceptor-mediated pupil light reflex. *Ophthalmology* 2009;116:1564–1573.
9. Park JC, Moura AL, Raza AS, et al. Toward a clinical protocol for assessing rod, cone, and melanopsin contributions to the human pupil response. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:6624–6635.
10. Buttner-Ennever JA, Uemura T, Arai Y, et al. Horizontal saccadic palsy associated with gliosis of the brainstem midline. *Prog Brain Res* 2008;171:597–603.
11. Kaga K, Ono M, Yakumaru K, et al. Brainstem pathology of infantile Gaucher's disease with only wave I and II of

- auditory brainstem response. *J Laryngol Otol* 1998;112:1069–1073.
12. Grafe M, Thomas C, Schneider J, et al. Infantile Gaucher's disease: a case with neuronal storage. *Ann Neurol* 1988;23:300–303.
  13. Qiu X, Kumbalasisri T, Carlson SM, et al. Induction of photosensitivity by heterologous expression of melanopsin. *Nature* 2005;433:745–749.
  14. Hattar S, Kumar M, Park A, et al. Central projections of melanopsin-expressing retinal ganglion cells in the mouse. *J Comp Neurol* 2006;497:326–349.
  15. Dacey DM, Liao HW, Peterson BB, et al. Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature* 2005;433:749–754.
  16. La Morgia C, Ross-Cisneros FN, Sadun AA, et al. Melanopsin retinal ganglion cells are resistant to neurodegeneration in mitochondrial optic neuropathies. *Brain* 2010;133:2426–2438.
  17. Kawasaki A, Herbst K, Sander B, et al. Selective wavelength pupillometry in Leber hereditary optic neuropathy. *Clin Experiment Ophthalmol* 2010;38:322–324.
  18. Guler AD, Ecker JL, Lall GS, et al. Melanopsin cells are the principal conduits for rod-cone input to non-image-forming vision. *Nature* 2008;453:102–105.
  19. Markwell EL, Feigl B, Zele AJ. Intrinsically photosensitive melanopsin retinal ganglion cell contributions to the pupillary light reflex and circadian rhythm. *Clin Exp Optom* 2010;93:137–149.
  20. Seidova SF, Kotliar K, Foerger F, et al. Functional retinal changes in Gaucher disease. *Doc Ophthalmol* 2009;118:151–154.

<口>

## 舌が大きい

大橋十也\*

### I. 横断症例

症例 13歳 女児

起始・経過 40週3日、3555gにて出生。周産期に異常を認めなかった。定頸4か月、寝返り6か月、つかまり立ち11か月、つたい歩き1歳、独歩1歳3か月、と発達の遅れは認めなかった。しかしながら、2歳になっても有意語がでなかった。2歳半のときに有意語がないことを主訴に近医を受診したが、精査をしないまま経過観察となった。4歳時に水頭症の診断でVPシャント施行。小学校は養護学校に通学した。9歳時に精神発達遅滞、低身長、関節が完全に伸びない、特有の顔貌を主訴に来院した。

既往症 3歳児に膈ヘルニアの手術、4歳児脳室拡大でVPシャント術施行

家族歴 特記すべきことなし。

来院時の理学的所見 身長120cm(-1.9SD)、体重:30kg(+0.1SD)、頭囲拡大あり。前額部の突出あり。特有の顔貌を認める。口は開いたままで舌がでてくる(図1)。心音に異常は認めない。騒音性呼吸を認める。肝臓は右鎖骨中線で3横指ふれる。脾臓は触知しない。脊柱の一部が突出して、後方への彎曲している。手の指が鷲の爪のように内側に曲がっている。皮膚は硬い。角膜の混濁を認める。



図1 顔の写真  
(大阪市立大学小児科 田中あけみ先生より御供与)

血液検査:特記すべき異常はない。CT:脳室の拡大を認める(図2)。

### II. 鑑別診断

血管奇形(リンパ管腫, 血管腫), Beckwith-Weidemann 症候群, アミロイドーシス, Down 症候群, 甲状腺機能低下症, 神経線維腫症, 末端肥大症, 糖原病II型, フコシドーシス,  $\alpha$ マンノシドーシス, Klippel-Trenaunay-Webers 症候群

### III. 確定診断

上記の臨床所見よりムコ多糖症を疑い、尿中グリコサミノグリカンの分析を行った。結果はデル

OHASHI Touya

\* 東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部/小児科

[〒105-8461 東京都港区西新橋3-25-8]

TEL 03-3433-1111 FAX 03-3433-1230

E-mail: tohashi@jikei.ac.jp





## 1

# ライソゾーム蓄積症への 酵素補充療法

## Enzyme Replacement Therapy for Lysosomal Storage Diseases

Toya Ohashi, MD, PhD\*

大橋 十也 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター DNA医学研究所遺伝子治療研究部

### ● はじめに

ライソゾーム蓄積症(LSD)はライソゾームに存在する加水分解酵素の欠損によりさまざまな基質が細胞内に蓄積し、さまざまな臨床症状を呈する疾患群であり、現在約40種類が知られている。そのうち6疾患(ゴーシェ病、ファブリー病、ポンペ病、ムコ多糖症I型、II型、VI型)に対して酵素補充療法(ERT)が承認されている(表)。ライソゾーム酵素は糖蛋白質であり、糖鎖中のマンノースの6位がリン酸化されている。一方、細胞表面にはマンノース6リン酸の受容体があり、ライソゾーム酵素はこの受容体を介して細胞内に取り込まれライソゾームに局在する。ただ、後述するゴーシェ病は例外で、マンノース6リン酸受容体ではなくマンノース受容体を介して細胞内に取り込まれる。

### ● ゴーシェ病

ゴーシェ病はグルコセレブロシダーゼが欠損し、主にマクロファージに基質であるグルコセレブロシドという糖脂質が蓄積する疾患である。症状により三つの臨床型に分類されている。I型は非神経型で、発症は幼児期より成人期であり、貧血、血小板減少、肝脾腫、骨症状などを呈するが神経症状はない。II型は急性神経型で、生後数ヶ月で発症し神経症状や肝脾腫を呈し、急激な経過で生命予後も2歳程度である。III型は亜急性神経型で、II型より神経症状の発症は遅く、重症度も軽い。本症へのERTはLSDへのERTの中で最も早期に承認された(米国1994年、日本1998年)。酵素製剤はマクロファージに効率よく取り込まれるように、糖鎖部のマンノースを露出させてある。承認当時はヒト胎盤より精製した酵素が用いられていたが、その後、組み換え型の酵素が同等の効果を示すとされ、現在も組み換え型の酵素が使用されている。米国ではI型ゴーシェ病のみに適応があるが、本邦では全ての型のゴーシェ病に適応がある。最近、gene activationという手法(詳細は未発表)で作成された酵素や、植物細胞で作成された酵素が米国などでは承認されているが、本邦では未承認である。

### ● ファブリー病

ファブリー病は $\alpha$ -ガラクトシダーゼAの欠損によりグロボトリアオシルセラミドという糖脂質が平滑筋、心筋、血管内皮、神経節細胞に蓄積する疾患で、腎障害、心肥大、脳血管障害、四肢疼痛、低汗症などを呈する。現在二つの製剤が承認されている。一つはアガルシダーゼ $\alpha$ であり、もう一つはアガルシダーゼ $\beta$ である。前者はgene activationでヒト細胞を用いて作成されており、後者はChinese hamster ovary cellにヒトの $\alpha$ -ガラクトシダーゼAのcDNAを導入して作成されている。アガルシダーゼ $\alpha$ の第3相試験はプラセボ対照の二重盲検ランダム化比較試験で、主要評価項目は四肢の疼痛の改善であった。一方、アガルシダーゼ $\beta$ の第3相試験も同様にプラセボ対照の二重盲検ランダム化比較試験であったが、主要評価項目は腎臓の病理の改善であった。両試験とも主要評価項目が達成され承認を受けている。ただアガルシダーゼ $\alpha$ は米国では未承認である。アガルシダーゼ $\beta$ の主要評価項目が病理学的検討であったため、臨床症状(心血管イベント、腎イベントなどの発症までの時間)を主要評価項目とした第4相試験が行われた。ここでもアガルシダーゼ $\beta$ の効果が確認された。

### ● ポンペ病

ポンペ病は $\alpha$ -グルコシダーゼの欠損により心筋、骨格筋にグリコーゲンが蓄積し、心筋症、筋力低下、呼吸不全などを呈する疾患である。発症時期により乳児型と遅発型に分類される。乳児型は出生後2~3ヶ月で発症し筋力低下、心筋症を特徴とし、無治療では早期に死亡する。遅発型は小児期~成人期に発症し、心筋症は呈さず筋力低下、呼吸不全が主な症状である。本症の酵素製剤もChinese hamster ovary cellにヒトの $\alpha$ -グルコシダーゼのcDNAを導入して作成されている。臨床試験はまず乳児型を対象に行われた。比較対象はERTを受けていなかった症例である(historical cohort)。投与群はより長期に生存し、呼吸器無使用の患者が有意に多かった。以上の結果より、アルグルコシダーゼ $\alpha$ は承認された。その後、遅

\*Department of Gene Therapy, Institute of DNA Medicine, The Jikei University School of Medicine, Tokyo, Japan

発症症例を対象に6分間歩行(6分間で歩ける距離)と努力性肺活量の改善を主要評価項目とした二重盲検ランダム化比較試験も行われ、アルグルコシダーゼ $\alpha$ の遅発型症例への有効性・安全性も確認された。本症へのERTの問題点は、心筋に比べて骨格筋に効果が少ないこと、また酵素製剤に対する中和抗体が発生して治療効果を阻害することである。骨格筋に効果が少ないのは、オートファジーの亢進により投与された酵素がオートファゴゾームにトラップされることが原因とされており、我々を含めオートファジーの亢進を抑制する試みもなされている。中和抗体に関してはヒト、マウスでさまざまな試みがなされている。我々は経口免疫寛容、抗CD3抗体を用いた免疫寛容導入を試みている。どのLSDにもおそらく早期治療が重要であると考えられ、台湾のグループは新生児スクリーニングを行うことで早期治療を可能にし、良好な結果を得ている。

### ● ムコ多糖症 I 型

ムコ多糖症 I 型(ハーラー症候群)は $\alpha$ -イブロンダーゼの欠損によりグリコサミノグリカンが全身の組織に蓄積する。そのグリコサミノグリカンはデルマトン硫酸、ヘパラン硫酸である。関節拘縮、骨変形、心弁膜症、特有の顔貌、繰り返す上気道炎、上気道の閉塞、角膜混濁、肝脾腫、臍ヘルニア、精神運動発達遅滞、水頭症、聴力障害などの臨床症状を呈する。主要評価項目を6分間歩行試験と努力性肺活量の改善とした第3相二重盲検ランダム化比較試験が行われた結果、偽薬に比べ実薬では有意に主要評価項目が改善した。その後、全対象に実薬投与して延長試験が行われ、6分間歩行、努力性肺活量、関節可動域、肝脾腫などの維持と改善が認められた。酵素製剤は脳血管関門を通過できないため中枢神経症状には効果が

ない。そのため酵素の髄腔内投与が試みられている。

### ● ムコ多糖症 II 型

ムコ多糖症 II 型(ハンター症候群)は、イブロン酸-2-スルファターゼの欠損によりムコ多糖症 I 型と同様にデルマトン硫酸、ヘパラン硫酸が全身の組織に蓄積する疾患である。臨床症状はムコ多糖症 I 型と似ているが角膜混濁は呈さない。第2/3相二重盲検ランダム化比較試験が行われ、主要評価項目を6分間歩行試験と努力性肺活量の改善とした結果、偽薬に比べ実薬に有意な改善があった。同様に全例実薬投与した延長試験が行われた結果、評価項目に維持・改善が認められた。

### ● ムコ多糖症 VI 型

ムコ多糖症 VI 型(マロトー・ラミー症候群)は、N-アセチルガラクトサミン4-スルファターゼの欠損によりデルマトン硫酸が各組織に蓄積する疾患である。臨床症状はやはりムコ多糖症 I 型に似ているが中枢神経症状は原則呈しない。主要評価項目を12分間歩行試験と努力性肺活量の改善とした第3相二重盲検ランダム化比較試験が行われた結果、実薬の有意性が証明され、その後の全例実薬投与の延長試験では12分間歩行試験などで持続的改善が認められた。

### ● ERT の今後

現在ニーマンピック病 B 型、ウォールマン病(コレステロールエステル蓄積症)などを対象に新たな ERT の開発が進行中であり、酵素製剤を髄腔内投与し中枢神経病変、脊髄圧迫症状を治療する臨床試験もムコ多糖症 I, II, III 型、異染性脳白質変性症などで行われている。

表. 承認されているライソゾーム病に対する酵素補充療法

酵素製剤	適応	米国で承認	日本で承認	海外での製造元	原材料
イミグルセラゼ	ゴーシェ病	1994/5/23	1998/3/6	ジェンザイム	CHO*
アガルシダーゼ $\beta$	ファブリー病	2003/4/24	2004/1/29	ジェンザイム	CHO*
アガルシダーゼ $\alpha$	ファブリー病	未承認, 欧州で承認 2001/8/3	2006/10/20	シャイアー	ヒト線維芽細胞
ラロニダーゼ	ムコ多糖症 I 型	2003/4/30	2006/10/20	バイオマリン	CHO*
アルグルコシダーゼ $\alpha$	ボンベ病	2006/4/28	2007/4/18	ジェンザイム	CHO*
イデュルスルファラーゼ	ムコ多糖症 II 型	2006/7/24	2007/10/4	シャイアー	ヒト線維芽細胞
ガルスルファラーゼ	ムコ多糖症 VI 型	2005/5/31	2008/3/28	バイオマリン	CHO*

\*Chinese hamster ovary cells

# ライソゾーム病の治療法の問題点の克服 —細胞・遺伝子治療法の開発に向けて—

Overcome the problems of therapies for lysosomal disease  
- Toward the development of cell and gene therapy -

大橋十也

Toya OHASHI

## 要 旨

ライソゾーム病はライソゾームに存在する水解酵素の欠損により様々な基質が細胞に蓄積し中枢神経系を含む多彩な臨床症状を呈する疾患で現在約40種類が知られている。酵素補充療法、骨髄移植療法、基質合成抑制療法などが現在行われている。酵素補充療法は中枢神経系に効果がない、中和抗体が出来るなどの問題点がある。我々の検討により間葉系幹細胞、神経幹細胞、そして酵素そのものの脳室内投与は本症の中枢神経障害を加療できる可能性が示唆された。また中和抗体の発生は酵素の経口投与、抗CD3抗体で抑制できた。骨髄移植法の問題点はドナーが得られない場合があることであるが、遺伝子治療はその必要がない。ポンペ病モデルマウスでレンチウイルスベクターを用いた遺伝子治療法の有用性を示せた。iPS細胞に関しては今後、創薬、細胞治療などに有用であることが期待されている。今回はライソゾーム病モデルマウスよりiPS細胞を作成し心筋への分化が出来た。今後、創薬、細胞治療のソースとしての有用性を検討する予定である。

## ABSTRACT

Lysosomal disease (LD) is characterized by deficient activity of lysosomal enzyme, resulting in accumulation of various compounds in cell. This causes various clinical signs and symptoms including those of CNS. So far, about 40 lysosomal storage diseases are documented. Enzyme replacement therapy (ERT), bone marrow transplantation (BMT) and substrate reduction therapy are available. In ERT there are some obstacles, such as ineffectiveness for CNS involvement and generation of neutralizing antibodies against enzyme. Transplantation of mesenchymal stem cells and neural stem cells into brain was effective for CNS involvement of LDs. Administration of anti-CD3 antibody successfully induced immune tolerance against enzyme. The obstacles of BMT is limited availability of donors. We developed gene therapy method for Pompe disease using lentiviral vector, because donor is not necessary in gene therapy. Regarding iPS, we successfully generated iPS cells from murine model of LDs and differentiated to cardiac cells. Using these cells, we planning to screen effective drugs for LDs and study of feasibility of these cell to be used for cell therapy for LDs.

*Key words; Lysosomal Disease, Gene Therapy, Cell Therapy, iPS*

東京慈恵会医科大学総合医科学研究センターDNA医学研究所遺伝子治療研究部・同大学小児科学教室：

Department of Gene Therapy, Institute of DNA Medicine, Center for Medical Science・Department of Pediatrics

The Jikei University School of Medicine

著者連絡先：〒105-8461 東京都港区西新橋3-25-8

東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター・DNA医学研究所遺伝子治療研究部・同小児科学教室 大橋十也

TEL: 03-3433-1111 FAX: 03-3433-1230 e-mail: tohashi@jikei.ac.jp