

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業））
（分担）研究報告書

先天性 GPI 欠損症の疾患概念の確立と診断基準の制定：
発達障害・てんかんを主症状とする新しい疾患 に関する研究

先天性 GPI 欠損症の疾患マーカーの検索
診療ガイドラインの作成と臨床情報のデータベース化

研究分担者 井上 徳光 地方独立行政法人大阪府立成人病センター研究所

研究要旨

先天性 GPI 欠損症 (IGD) のてんかん発作のコントロールに、ビタミン B6 が有効である症例があるため、原因不明の知的障害やてんかんを持つ患者から、IGD を鑑別診断する事は極めて重要である。今回、私たちは、研究代表者のグループと協力して、ホームページ作成による疾患の啓発、疾患データベースの構築、第 1 回患者の会を行った。また、遺伝子診断や好中球膜表面の GPI アンカー型タンパク質の発現低下以外の患者スクリーニングとして効果的な診断マーカーの探索を行った。

A. 研究目的

今まで原因不明とされてきた知的障害、運動発達障害、てんかんをきたす疾患から、先天性 GPI 欠損症 (IGD) を鑑別診断することは、ビタミン B6 投与が、少なくとも一部の IGD の難治性てんかん発作のコントロールに極めて有効な症例がある事から、重要である。しかし、IGD の原因遺伝子としての候補遺伝子が少なくとも 27 遺伝子存在するにもかかわらず、未だ、遺伝子異常の見つかっていない GPI 生合成関連遺伝子もあり、私たちのこれまでの取り組みによって急増してはいるが、未だ診断されず、てんかん発作がコントロールできずに苦しんでいる患者が存在すると予想される。また、これらの症例を早期に診断する事により、発達の遅れを軽減または回復させる可能性もある。約 150 種類の GPI アンカー型タンパク質が知られており、異常な GPI アンカー型タンパク質の種類、発現の低下の程度、GPI 生合成のステップによっ

て、IGD は、知的障害、けいれんや運動発達障害に加えて、多様な症状を呈していると考えられる。また、その多様な症状を持つ上、症例数が限られるため、多くの知的障害、てんかんや運動発達障害をきたす疾患から、IGD を見つけ出すのは、容易ではない。そこで、私たちは、研究代表者と共に、IGD に遭遇する多くの小児科医に本疾患を知ってもらおうと共に、簡単にスクリーニングしたり、鑑別する方法を開発する事を目的とする。そのためには、よりよい診断マーカーの探索が重要である。FACS 解析は確実であるが、正常と比較して低下が微妙である事も多く、また、常に正常コントロールが必要となることや、好中球で測定するため、安定性に問題もある。GPI アンカー型タンパク質の細胞表面の発現が低下しない IGD も存在する。血清アルカリホスファターゼは、乳幼児では、年齢による変化が大きく、また、骨疾患など他の疾患でも上昇するため、より効果的な診断マ

ーカーが必要である。さらに、IGD 原因遺伝子の関わる生合成ステップによっては、血清アルカリホスファターゼに変化が無い事もあり、それらを疑う事のできる診断マーカーが必要となる。

そこで、今回、研究代表者と協力して、広く医師へのIGDの啓発活動および有効な診断マーカーの探索を行った。

B . 研究方法

(1) IGD の啓発への取り組み

大阪府立成人病センター研究グループは、広く本疾患を医師に知ってもらうために、研究代表者と協力して、ホームページの充実、診断ガイドラインの日本小児神経学会への承認申請、大阪大学小児科と共同で、患者の会の開催に向けての計画をおこなった。

(2) 新規診断方法の開発

新規診断マーカー候補として、リン酸化および脱リン酸化ビタミン B6 の末梢血および髄液中の量、ビタミン B1 を補酵素とする酵素活性低下による代謝産物の変化、還元型葉酸代謝産物の髄液中での量が、診断や治療効果のマーカーとなる可能性がある。そこで、研究代表者と共同で、北海道医療大学の小林大祐先生、島根大学医学部の山口清次先生、岡山大学の秋山倫之先生と共同で、これらの物質の中で有効なマーカーを検索した。さらに、正常範囲に幅がある血清アルカリホスファターゼに代わる、よりの確な診断マーカーが必要のため、すでに、臨床検査で使用されている検査のうち GPI アンカー型蛋白を検索し、その測定を行った。

(倫理面への配慮)

当センター研究所と併設の病院に患者が受診する事は無く、直接患者の個人情報扱う事はないが、同定されたIGD原因遺伝子の解析を行うため、当センターの倫理審査委員会遺伝子部会に倫理申

請を行い、本研究がヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づき行われる研究計画である事が審査され、承認された。

C . 研究結果

(1) IGD の啓発への取り組み

大阪府立成人病センター研究グループは、研究代表者と共同で、IGD を多くの医師に知ってもらい、患者の情報を集めるために、ホームページを公開した。さらに、作製した診療ガイドラインを日本小児神経学会で承認していただき、日本小児神経学会のホームページでも公開した。また、大阪で、第1回患者の会を大阪大学小児科のグループと開催し、患者家族と交流した。Web 上で患者情報を入れられるよう大阪大学未来医療開発部データセンターと、REDCap システムサービスを利用して作製し、臨床データや遺伝子異常を入力できるシステムを構築した。2016 年度には、情報を蓄積できるようになると考えられる。

(2) 新規診断方法の開発

研究代表者や共同研究者と共同して、遺伝子変異が同定され GPI 欠損症と確定診断された症例、GPI アンカー型蛋白の発現低下が検出された症例、その他、GPI 欠損症が疑われたが GPI 欠損症ではないと考えられた症例に関して、ビタミン B1 欠乏による酵素活性の低下により、異常となる尿中代謝産物の測定、リン酸化および脱リン酸化ビタミン B6 の血漿中濃度の測定、活性型葉酸代謝産物濃度測定を行い、解析した。また、腫瘍マーカーとして知られる血清 CEA 濃度を測定した。これらのマーカーのうち、症例によっては、異常値を示す症例があったが、まだ、症例数が少なく、ビタミン B1, B6, 葉酸に関して、有効なマーカーになるかは結論を出す事はできないため、更なる症例数の蓄積が必要である。また、血清中の CEA が新たな診断マーカーとなる可能性があるが、やはり同様に症例の蓄積が必要である。

D . 考察

ホームページの公開などの啓発活動により、症例は、確実に集まってきているが、まだまだ、発達障害やけいれんをきたす疾患から IGD 患者を選び出す事は難しい。それ故、もう少し、大掛かりな調査研究が必要と考えられた。そのためには、よりよい診断マーカーの確立も必要である。今後、CEA 等の測定、GPI アンカー型タンパク質の発現解析のシステムの構築することにより IGD 患者の収集の効率を高めたい。また、海外も含めた国際データベースに発展させたい。

E . 結論

大阪大学に既にデータベースも構築し、今後は、より広い症例の中からスクリーニングし、新規患者を同定する。また、大阪大学小児科や静岡てんかん・神経医療センターと協力して、ビタミンの補充療法の臨床研究に協力していきたい。

代謝マーカーに関しては、症例数がまだ少なく、現在まだ有効性の判断はできないが、新たなマーカーも含め、網羅的で大規模スクリーニングが必要であると考えられる。それ故、患者及びマウスモデルを利用して、代謝プロファイリングを行い、よいマーカーを探索したい。

G . 研究発表

1. 論文発表

Roy, N., Ohtani, K., Matsuda, Y., Mori, K.,

Hwang, I., Suzuki, Y., Inoue, N., Wakamiya, N. Collectin CL-P1 utilizes C-reactive protein for complement activation. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1860(6): 1118-1128

Nakanishi, K., Kukita, Y., Segawa, H., Inoue, N., Ohue, M., and Kato, K. Characterization of the T cell receptor beta chain repertoire in tumor infiltrating lymphocytes ***Cancer Medicine in press***

2. 学会発表

赤澤隆、井上徳光 Development of bacteria-mimicked tumor cell vaccine modified with engineered TLR2 ligands 第 19 回に本がん免疫学会総会 2015. 7. 9-11 東京

井上徳光 がん微小環境における免疫変調メカニズム 第 26 回日本生体防御学会学術総会 2015. 7. 10-12 東京 (シンポジスト)

井上徳光、赤澤隆 Complement Receptor 4 (CR4) を介した樹状細胞ターゲット抗がんアジュバントの更なる改変 第 52 回補体シンポジウム 2015.8.21-22, 名古屋

村上良子、井上徳光、川本未知、村瀬翔、吉村元、幸原伸夫、木下タロウ. 16 年間延べ 121 回にわたる反復性無菌性髄膜炎に PIGT 変異による PNH を合併した Eculizumab が奏効した 1 例 その 2 分子メカニズム 第 52 回補体シンポジウム 2015.8.21-22, 名古屋

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