

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： 難波 栄二¹⁾²⁾

¹⁾鳥取大学生命機能研究支援センター ²⁾鳥取大学医学部附属病院 遺伝子診療科

研究要旨

ライソゾーム病の一つである GM1-ガングリオシドーシスは、現在臨床的に応用できる治療法はない。我々は、世界に先駆けて本疾患に対するシャペロン療法を開発しているが、臨床研究を推進するためには、診断基準を策定し、より多くの患者を診断する必要がある。そこで、本研究では GM1-ガングリオシドーシスの診断基準（案）を作成した。さらに、より多くの患者さんの把握や治療などの情報提供などができるよう患者家族会の強化を行った。さらに、シャペロン療法のみならず遺伝子治療など、臨床研究への情報についても収集した。

研究協力者： 足立 香織
鳥取大学生命機能研究支援センター、助教

A．研究目的

GM1-ガングリオシドーシスは、ライソゾーム酵素 β -ガラクトシダーゼ（*GLB1* 遺伝子）の欠損により、脳をはじめとして全身臓器に糖脂質、オリゴ糖、ムコ多糖などが蓄積し、進行性の神経障害を発症する疾患である。発症頻度は1/10万～20万人とされる。本疾患の酵素は血中などでは不安定であり、酵素補充療法の開発は困難で、臨床に応用できる治療法はない。

我々は、GM1-ガングリオシドーシスのみならずファブリー病、ポンペ病など様々なライソゾーム病のシャペロン療法を世界に先駆けて開発している。GM1-ガングリオシドーシスに対しては、これまでにNOEV さらに 6S-NBI-DGJ などのシャペロン候補薬を開発してきており、さらに日本発で酵素抑制が少なく副作用が少ないと見込まれるシャペロン候補薬（HB253）の開発も進めている。しかし、臨床応用はハードルが高く、遺伝子治療など他の治療法についても調査してゆく必要があると考えられる。また、日本ではGM1-ガングリオシドーシ

スの患者は10名以下しか見つかっておらず、さらに多くの患者の診断が重要となる。

そこで、本研究では多くの患者を見つけるための診断基準の策定、患者家族会の体制強化、さらにさらに最近注目されてきているGM1-ガングリオシドーシスに対する遺伝子治療の情報を収集し検討した。

B．研究方法

I：診断基準の策定

GM1-ガングリオシドーシスの疾患概要、臨床病型、診断基準、鑑別診断の各項目について、情報の取りまとめと検討を行った。また、日本医療機能評価機構が開催した第9回診療ガイドライン作成ワークショップ「基礎コース」（2015年6月14日）ならびに第10回診療ガイドライン作成ワークショップ「SRコース」（2015年8月15日）に参加し、診療ガイドライン作成のための技術を習得した。

：家族会の体制について

ライソゾーム病の家族会の中では、体制が充実している「日本ムコ多糖症患者家族の会」との連携を行った。

：遺伝子治療の情報について

上記の患者家族の会、ならびに米国の GM1-ガングリオシドーシスの家族会である CureGM1 (<https://curegm1foundation.org/>)、Lysogene 社 (<http://www.lysogene.com/>) などから情報を得た。

(倫理面への配慮)

本年度は、患者情報や解析は行わなかったもので、倫理面での問題はないと判断した。

C. 研究結果

I: 診断基準の策定

以下に、GM1-ガングリオシドーシスの診断基準(案)を示す。

1. 疾患概要

GM1-ガングリオシドーシスは、3番染色体に位置する β -ガラクトシダーゼ遺伝子 (*GLB1*) 遺伝子の変異により、ライソゾームにおける β -ガラクトシダーゼ酵素が欠損し発症する常染色体劣性遺伝形式の疾患である。脳をはじめとして全身臓器に GM1 ガングリオシドなどの糖脂質、オリゴ糖、ムコ多糖(ケラタン硫酸)などが蓄積し、中枢神経症状を中心とする症状を呈する。

臨床症状の違いから、I型または乳児型 (OMIM 230500)、II型または若年型 (OMIM 230600)、III型または成人型 (OMIM 230650) に分類される。また、中枢神経障害を伴わない全身骨系統疾患であるモルキオ B 病 (OMIM 253010) も同じ原因遺伝子 (*GLB1*) の変異により発症する。モルキオ B 病の日本人の患者は見つかっておらず、世界的にも極めてまれである。

治療としては、まだ臨床的に応用はできていないがシャペロン療法が期待されている。

2. 臨床病型

GM1-ガングリオシドーシスの発症頻度は 1/10 万 ~ 20 万人と推定されている。

【乳児型】

生後 3 ~ 6 カ月までに発達の遅れがみられ、初期は筋緊張低下、音に対する過敏症を呈する。さらに腱反射の亢進、全身痙攣などの中枢症状や肝脾腫、全身の骨異常などが進行する。眼底黄斑部のチェリーレッド斑は比較的特徴的な症状である。

【若年型】

1 歳前後から発症し、臨床症状は乳児型に類似するが、やや軽度である。チェリーレッド斑はないことが多く、肝脾腫や骨異常もないか軽度である。

【成人型】

発達は正常で知能障害はないか軽度の場合が多い。錐体外路の障害による構音障害や歩行障害が初期に出現し、その後ジストニアなどの症状が進行する。

3. 主要症状および臨床所見

患者は進行性の神経症状を呈する。乳児型の眼底黄斑部のチェリーレッド斑は比較的特徴的である。また、成人型は幼少期より構音障害や歩行障害が出現することがある。臨床所見は、臨床病型の記載を参照されたい。

4. 診断の根拠となる検査

末梢血リンパ球または皮膚線維芽細胞の β -ガラクトシダーゼ活性測定により確定診断が可能である。 β -ガラクトシダーゼ活性は、蛍光人工基質により比較的簡便に測定することが可能である。 β -ガラクトシダーゼ活性が低下する別の疾患として、ガラクトシアリドーシスがある。ガラクトシアリドーシスは、カテプシン A/保護蛋白の異常で β -ガラクトシダーゼ活性と同時にシアリダーゼ活性も低下する。そのために、 β -ガラクトシダーゼ活性と同時にシアリダー

ゼ活性を測定することが望ましい。

また、遺伝子診断も有用で、特に保因者診断や出生前診断などには必要となる。現在、160を超える種類の遺伝子変異が報告されている。日本では、R201C 遺伝子変異をもつ若年型の患者と I51T 遺伝子変異をもつ患者が比較的多い。

実施可能な施設は、日本先天代謝異常学会ホームページ http://jsimd.net/iof/iof_01.html を参照されたい。

5. 診断基準

(1) 臨床症状

以下の症状がある場合に疑う

【乳児型】

- 生後半年頃からの退行（乳児型）
- 発達障害
- 全身痙攣
- 黄斑部のチェリーレッド斑

【若年型】

- 1歳以降からの退行
- 痙性麻痺（進行性）

【成人型】

- 構音障害（成人型）
- 歩行障害（成人型）

(2) 検査

酵素活性測定検査：リンパ球または皮膚線維芽細胞の β -ガラクトシダーゼ活性が 10%以下に低下する。同時にシアリダーゼ活性を測定し低下していないことを確認するのが望ましい。保因者の酵素活性はやや低下していることがあるが、正常と区別することは困難である。

遺伝子検査：GLB1 遺伝子の変異を解析する。複合ヘテロ接合の変異が多い。保因者診断や出生前診断には有用である。

6. 鑑別疾患

- ガラクトシアリドーシス
- GM2-ガングリオシドーシス
- シアリドーシス
- ニーマン・ピック病
- ゴーシェ病
- 異染性白質変性症
- 神経変性疾患（錐体路症状）

乳児型に比較的特徴的な眼底黄斑部のチェリーレッド斑は、GM1-ガングリオシドーシス、異染性脳白質変性症、ニーマン・ピック (Niemann-Pick) 病、シアリドーシス、ガラクトシアリドーシスなどでも認められることから、これらを鑑別する必要がある。

成人型では、初期の構音障害が比較的特徴的であり、錐体外路症状を呈する他の神経変性疾患との鑑別が困難である。

7. 治療について

現在、対症療法以外に有効な治療法はない。造血幹細胞移植の有効性は認められていない。

現在、本疾患に対する治療法としてシャペロン療法（またはケミカルシャペロン療法）が日本を中心に開発され、モデルマウスでは有効性が示されている。早期に臨床応用されることが期待される。さらに、アデノ随伴ベクターによる遺伝子治療の研究が進められている。

：家族会の体制について

「GM1-/GM2-ガングリオシドーシスの患者家族の会」は、患者家族同士の日常生活や福祉などに関する情報交換を目的として、2012年に設立されたが、参加できる患者家族が少なく、交流会など活発な活動はできない状況にあった。

一方、「日本ムコ多糖症患者家族の会」（ムコ多糖症の会）はムコ多糖症の患者家族の方が中

心となり、1986年に設立された。本会は、患者及びその家族同士の情報交換等を通じて、疾患に関する知識を深め、会員相互の親睦を図り、また、当該疾患の原因解明、治療法の確立を目指すとともに、社会に対して当該疾患に関する認識を広め、もって患者及びその家族の福祉の向上を図ることを目的としている(「日本ムコ多糖症家族の会」ホームページより)。本会では、交流会を毎年開催しており、国際シンポジウムへの参加、さらに行政への要望書を多数提出するなど活発な活動が行われており、ムコ多糖症などに対する治療法の情報なども積極的に提供している。

この「日本ムコ多糖症患者家族の会」からの呼びかけがあり、打合せ会を行い検討した結果、GM1-ガングリオシドーシスと GM2-ガングリオシドーシスの患者会は、2016年度からはムコ多糖症の会に合流し活動することになった。これにより、交流会等で患者家族同士のつながりが深まり、さらに多くの患者家族も参加して活動できる基盤が構築された。また、本会では治療に対する情報が積極的に提供され、下記に記載する GM1-ガングリオシドーシスの遺伝子治療に関する情報の患者家族への提供も開始されている。

：遺伝子治療の情報について

ライソゾーム病を含む遺伝性疾患に対して、近年アデノ随伴ベクターによる遺伝子治療の研究が進み、臨床研究などが開始されている。日本でも AADC 欠損症に対する遺伝子治療の臨床研究が自治医科大学ではじまっている。フランスの LYSOGENE 社が 2015 年から GM1-ガングリオシドーシスに対する遺伝子治療の非臨床研究を開始したとの情報がホームページに掲載されている (<http://www.lysogene.com/about/our-history/>)。また、CureGM1 にも AAV ベクターによる遺伝子治療の研究を行っているとの情報がある。現在、これらの会社などへのアプローチを検討している。

D. 考察

GM1-ガングリオシドーシスはライソゾーム病の中でも頻度が低く、日本で数十家系程度と考えられる。現在、10例以下の患者さんの情報しか得られない状況である。今回作成した診断基準を用いて、さらに患者さんを診断してゆくことが重要である。また、日本の患者さんのさらなるリクルート、患者登録体制を構築するためには、患者家族会の活動の強化も課題の1つであった。今回、ムコ多糖症の会への参加により、この体制が強化され患者さんのリクルートにつながると考えられる。さらに、治療に対する情報などが提供されなど大きな効果が期待できる。

我々はGM1-ガングリオシドーシスのシャペロンに取り組んでいるが、臨床応用のハードルが高いため、他の方法の検討も必要であり、今回遺伝子治療の情報を収集した。近年、遺伝性疾患に対してアデノ随伴ベクターによる遺伝子治療が注目され、臨床応用が開始されている。GM1-ガングリオシドーシスに対しても、LYSOGENE社で非臨床試験が開始されているとの情報がある。さらに情報を収集するとともに、これらの会社などへアプローチを行い、国際共同試験などへの参加を目指してゆく。

E. 結論

1. GM1-ガングリオシドーシスの診断基準(案)を作成した。これによりさらに多く患者さんの診断が可能となる。
2. 「日本ムコ多糖症患者家族の会」へGM1-ガングリオシドーシスの患者家族も参加することにより、患者家族間の交流も活発になり、臨床研究のための患者登録の体制強化にもつながった。
3. 治療研究に関しては、シャペロン療法だけではなく、遺伝子治療の開発がはじまっているとの情報も得られた。

F. 研究発表

1. 論文発表
1. Shibazaki T, Hirabayashi K, Saito S, Shigemura T, Nakazawa Y, Sakashita

- K, Takagi M, Shiohara M, Adachi K, Nanba E, Sakai N, Koike K. Clinical and laboratory outcomes after umbilical cord blood transplantation in a patient with mucopolidosis II alpha/beta. *Am J Med Genet A*. 2016;170A(5):1278-82.
2. de la Fuente A, Rísquez-Cuadro R, Verdaguer X, García Fernández JM, Nanba E, Higaki K, Ortiz Mellet C, Riera A. Efficient stereoselective synthesis of 2-acetamido-1,2-dideoxyallonojirimycin (DAJNAc) and sp(2)-iminosugar conjugates: Novel hexosaminidase inhibitors with discrimination capabilities between the mature and precursor forms of the enzyme. *Eur J Med Chem*. (in press)
 3. Mena-Barragán T, García-Moreno MI, Nanba E, Higaki K, Concia AL, Clapés P, García Fernández JM, Ortiz Mellet C. Inhibitor versus chaperone behaviour of d-fagomine, DAB and LAB sp(2)-iminosugar conjugates against glycosidases: A structure-activity relationship study in Gaucher fibroblasts. *Eur J Med Chem*. (in press)
 4. Navo CD, Corzana F, Sánchez-Fernández EM, Busto JH, Avenoza A, Zurbano MM, Nanba E, Higaki K, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Peregrina JM. Conformationally-locked C-glycosides: tuning aglycone interactions for optimal chaperone behaviour in Gaucher fibroblasts. *Org Biomol Chem*. 2016;14(4):1473-84.
 5. Hossain MA, Higaki K, Shinpo M, Nanba E, Suzuki Y, Ozono K, Sakai N. Chemical chaperone treatment for galactosialidosis: Effect of NOEV on β -galactosidase activities in fibroblasts. *Brain Dev*. 2016;38(2):175-80.
 6. Narita A, Shirai K, Itamura S, Matsuda A, Ishihara A, Matsushita K, Fukuda C, Kubota N, Takayama R, Shigematsu H, Hayashi A, Kumada T, Yuge K, Watanabe Y, Kosugi S, Nishida H, Kimura Y, Endo Y, Higaki K, Nanba E, Nishimura Y, Tamasaki A, Togawa M, Saito Y, Maegaki Y, Ohno K, Suzuki Y. Ambroxol chaperone therapy for neuronopathic Gaucher disease: A pilot study. *Ann Clin Transl Neurol*. 2016 ;3(3):200-15.
 7. Higaki K, Nanba E. [Chemical chaperone therapy for lysosomal storage diseases]. *Seikagaku*. 2015;87(5):597-600.
 8. Mena-Barragán T, Narita A, Matias D, Tiscornia G, Nanba E, Ohno K, Suzuki Y, Higaki K, Garcia Fernández JM, Ortiz Mellet C. pH-Responsive Pharmacological Chaperones for Rescuing Mutant Glycosidases. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2015;54(40):11696-700.
 9. Castilla J, Rísquez R, Higaki K, Nanba E, Ohno K, Suzuki Y, Díaz Y, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Castillón S. Conformationally-locked N-glycosides: exploiting long-range non-glycone interactions in the design of pharmacological chaperones for Gaucher disease. *Eur J Med Chem*. 2015;90:258-66.
 10. Yu Y, Mena-Barragán T, Higaki K,

Johnson JL, Drury JE, Lieberman RL, Nakasone N, Ninomiya H, Tsukimura T, Sakuraba H, Suzuki Y, Nanba E, Mellet CO, García Fernández JM, Ohno K. Molecular basis of 1-deoxygalactonojirimycin arylthiourea binding to human α -galactosidase a: pharmacological chaperoning efficacy on Fabry disease mutants. ACS Chem Biol. 2014 18;9(7):1460-9.

11. Suzuki H, Ohto U, Higaki K, Mena-Barragán T, Aguilar-Moncayo M, Ortiz Mellet C, Nanba E, Garcia Fernandez JM, Suzuki Y, Shimizu T. Structural basis of pharmacological chaperoning for human β -galactosidase. J Biol Chem. 2014 23;289(21):14560-8.
12. Rodríguez-Lavado J, de la Mata M, Jiménez-Blanco JL, García-Moreno MI, Benito JM, Díaz-Quintana A, Sánchez-Alcázar JA, Higaki K, Nanba E, Ohno K, Suzuki Y, Ortiz Mellet C, García Fernández JM. Targeted delivery of pharmacological chaperones for Gaucher disease to macrophages by a mannosylated cyclodextrin carrier. Org Biomol Chem. 2014 14;12(14):2289-301.
13. Chiba Y, Komori H, Takei S, Hasegawa-Ishii S, Kawamura N, Adachi K, Nanba E, Hosokawa M, Enokido Y, Kouchi Z, Yoshida F, Shimada A. Niemann-Pick disease type C1 predominantly involving the frontotemporal region, with cortical and brainstem Lewy bodies: an autopsy case. Neuropathology. 2014;34(1):49-57.

2. 学会発表

なし

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

3. その他

なし