

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

ライソゾーム病(ファブリ病含む)に関する調査研究班  
平成 22 年度 ~ 25 年度 総合研究報告書

平成 26(2014)年 3 月

研究代表者

衛藤 義勝

## 目次

### はしがき

### 研究組織

### 総括研究報告書

ライソゾーム病（ファブリー病を含む）に関する調査研究

主任研究者 衛藤義勝

### 付1 平成22年度-25年度班会議プログラム

### 分担研究報告書

#### I. 病態把握のための調査研究

- 1) ファブリー病の臨床的特徴および治療効果の検討  
坪井 一哉（名古屋セントラル病院ライソゾーム病センター・血液内科）
- 2) ライソゾーム病における酵素補充量療法の問題点  
高柳 正樹（千葉県こども病院副院長）
- 3) ライソゾーム病3疾患における臨床・治療経過  
石垣 景子（東京女子医科大学医学部小児科講師）
- 4) ライソゾーム病治療の臨床的研究  
渡邊 順子（久留米大学准教授）
- 5) 新しい診断法の開発（酵素補充療法）  
奥山 虎之（国立成育医療研究センター臨床検査部）
- 6) ライソゾーム病の新生児スクリーニングに関する研究並びに Fabry 病のハイリスクスクリーニングの研究  
北川 照男（公益財団法人 東京都予防医学協会理事長）
- 7) ファブリー病・ポンペ病のスクリーニング研究  
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）
- 8) ファブリー病レジストリー  
大橋 十也（東京慈恵会医科大学総合医科学研究所遺伝子治療研究部教授）

#### II. 病態解析

- 1) ALDの遺伝子表現型連関  
辻 省次（東京大学神経内科 教授）
- 2) GBA遺伝子とパーキンソン病との関連  
辻 省次（東京大学神経内科 教授）

- 3) ライソゾーム病の病態・治療に関する基礎的研究 特に iPS 細胞を用いての研究  
衛藤 義勝 (東京慈恵会医科大学)
- 4) ライソゾーム病バイオマーカーとしてのリゾ-スフィンゴ糖脂質に関する研究  
櫻庭 均 (明治薬科大学臨床遺伝学教授)
- 5) ムコ多糖症 II 型の遺伝子型、臨床型と治療酵素製剤に対する抗体産生に関する研究  
田中あけみ (大阪市立大学大学院医学研究科准教授)
- 6) スフィンゴリピドーシスの病態解明および治療法開発に関する研究  
松田 純子 (川崎医科大学 特任教授)
- 7) 心筋細胞治療を目指したポンベ病 iPS 細胞に対する遺伝子治療  
大橋 十也 (東京慈恵会医科大学総合医科学研究所遺伝子治療研究部教授)
- 8) ムコ多糖症および副腎白質ジストロフィーの早期診断治療  
鈴木 康之 (岐阜大学医学教育開発研究センター)
- 9) ニーマンピック病の臨床および病態に関する研究  
高橋 勉 (秋田大学大学院医学系研究科医学専攻小児科学講座教授)
- 10) PPT1 遺伝子変異による若年型神経セロイドリポフスチン症の発症機構の解明  
高村 歩美 ((財)脳神経疾患研究所先端医療研究センター 主任研究員)
- 11) メタボローム解析による ALD 等ペルオキシソーム病の発症前診断マーカーの探索  
横山 和明 (帝京大学薬学部教授)
- 12) ペルオキシソーム病に関する診断・病態解明に関する研究  
下澤 伸行 (岐阜大学生命科学総合研究支援センターゲノム研究分野・教授)
- 13) ALD・ペオキシソーム病の病態解析と治療薬の開発ならびに新規ビタミン B12 欠乏症 (ライソゾーム蓄積症) の分子病態解析  
今中 常雄 (富山大学大学院医学薬学研究部 教授)
- 14) 小児副腎白質ジストロフィーの超早期診断法開発に関する研究  
小児 ALD 脳波における突発性徐波 ~ 未発症例の超早期診断に向けて ~  
加我 牧子 (国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所)

### III. 新規治療法の開発

- 1) 新しい治療法の開発 (ケミカルシャペロン療法)  
神経型ゴーシェ病に対するケミカルシャペロン療法  
成田 綾 (鳥取大学医学部脳神経小児科助教)
- 2)  $\beta$ -ガラクトシダーゼ欠損症の遺伝子変異解析に関する研究  
難波 栄二 (鳥取大学生命機能研究支援センター教授)
- 3) レンチウイルスベクターを用いた遺伝子治療の開発  
小林 博司 (東京慈恵会医科大学総合医科学研究所遺伝子治療研究部)
- 4) ムコリピドーシス II/III とクラッペ病の病態解明と治療法の開発  
酒井 規夫 (大阪大学大学院医学系研究科小児科学講座)

## **研究成果一覧**

付 2

**第 1 回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムプログラム**

**第 2 回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムプログラム**

**第 3 回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムプログラム**

**第 4 回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムプログラム**

ライソゾーム病（ファブリ病含む）に関する調査研究

研究代表者 衛藤 義勝（東京慈恵会医科大学）

研究要旨

今回はライソゾーム病に関する調査研究の平成22年度から平成25年度までの4年間の総括的報告となる。従来我々は研究の柱として（I）病像把握のための現状の実態調査、（II）病態の解析、（III）新規治療法の開発、といった3本の柱を掲げてきたが、今回もそれに乗っ取って各研究がすすめられた。更に目的（III）に関連して国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムの毎年の開催により、我が国での臨床遺伝子治療体制を企業、官公庁と協同して構築していくことも重要な柱の一つに加えられる。

（I）病像把握のための現状の実態調査

- 保険承認された各疾患における酵素補充療法の効果や問題点などの実態調査
- ニーマンピック C 型におけるミグルスタットの効果
- I - cell 病, ハンター病、ゴーシェ病 型の骨髄移植症例の検討
- ライソゾーム病の新生児スクリーニングに向けて技術的検討および臨床実地調査
- ファブリー病などのレジストリー（登録システム）構築

（II）病態の解析

- 副腎白質ジストロフィー（ALD）の遺伝子表現型関連やゴーシェ病の原因遺伝子 GBA とパーキンソン病との関連
- ライソゾーム病、ペルオキシゾーム病患者由来の iPS 細胞作成と病態解析
- バイオマーカーとしてのリゾスフィンゴ糖脂質測定方法の検討
- ムコ多糖症 型の酵素補充療法における治療効果と抗体産生、遺伝子型との関連性

- サポシン、プロサポシンの機能解析

- ムコ多糖症、ALD の早期診断治療の調査

- ニーマンピック C 型細胞に対する酢酸、HDAC の効果

- 若年性神経性セロイドリポフスチノーシス（CLN1）の発症機構の解析

- ALD などペルオキシゾーム病におけるメタボローム解析による発症前診断マーカーの探索、実地診療状況の検討と基礎解析、極長鎖脂肪酸 CoA の輸送機構の解析

（III）新規治療法の開発

- アンプロキソール、NOEV などによるシャペロン療法

- レンチウイルスベクターを用いた遺伝子治療

- ムコリピドーシス患者由来の繊維芽細胞に対するライソゾーム酵素混合液の効果

以上あげた研究テーマで多彩かつ重要な研究報告が為され、本文に示すような成果を挙げており、今後更なる発展のための継続的な研究推進が必要と考えられる。

## A. 研究目的

本研究の目的はライソゾーム病、ペルオキシゾーム病患者の生命予後、日常生活動作(ADL)、更には生活の質(QOL)の改善にある。そのためには従来から(I)病像把握のための現状の実態調査、(II)病態の解析、(III)新規治療法の開発、といった3本の柱を掲げてきたが、今回もそれに乗っ取って各研究がすすめられた。更に目的(III)に関連して国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムの開催(今回は2013年1月に開催)などにより、我が国での臨床遺伝子治療体制を企業、官公庁と協同して構築していくことも重要な目的の一つに加えられる。

## B. 研究方法

### 病像把握のための調査研究

坪井らはファブリー病に関する受診患者の基本属性、酵素活性、臨床所見を調査し、更に酵素補充量の効果として腎機能、心機能も調査した。高柳らはゴーシェ病、ハーラー病、ハンター病、ファブリー病における酵素補充療法の効果、問題点を検討した。大澤らはD-bifunctional protein 欠損症の2例、ニーマンピックタイプCにおけるミグルスタットの効果、小児型Pompe病における酵素補充の効果と骨格筋画像評価を検討。渡辺らはI-cell, ハンター病、ゴーシェ病型の骨髄移植症例の検討を行っている。また奥山、北川、遠藤らはライソゾーム病の新生児スクリーニング法実施に向けて技術的な検討および臨床実地調査を行っている。更に大橋らはファブリー病についてのレジストリーシステムの構築について検討している。

### 病態解析

辻らはALDの遺伝子表現型連関やゴーシェ病の原因遺伝子GBAとパーキンソン病との関連に

ついてマイクロアレイや次世代シーケンサーを用いて解析した。衛藤らはファブリー病、ゴーシェ病、ポンペ病のiPS細胞を作成し病態解析を行った。大橋らはポンペ病iPS細胞に対するレンチウイルスによる遺伝子治療を試みている。櫻庭らはリゾスフィンゴ糖脂質を高速液体クロマトグラフィを用いて測定する方法を検討。田中らはムコ多糖症型の酵素補充療法における治療効果と抗体産生、遺伝子型との関連性を調査。松田らはサポシンA,C,Dの欠損マウスを用いてサポシン、プロサポシンの機能解析を行った。鈴木らはムコ多糖症、ALDの早期診断治療の調査を成長曲線、骨髄移植後成績などを基に行った。高橋らはニーマンピックC型細胞に対する酢酸、HDACの効果とASM酵素発現量から分析。高村らは若年性CLN1患者由来の繊維芽細胞を用いて変異型PPT1のプロセシングや細胞内局在変化を検討。またALDを中心としたペルオキシゾーム病に関して横山らはメタボローム解析における発症前診断マーカーの探索、下澤らは実地診療状況の検討と基礎解析、今中らは極長鎖脂肪酸CoAの輸送機構の解析などを施行した。更に加我らはALDの超早期診断のための脳波解析を行った。

### 新規治療法の開発

大野らは神経型ゴーシェ病患者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を検討した。難波らはガラクトシダーゼ欠損症8検体を遺伝子解析しNOEVなどによるシャペロン効果を検討。小林らはクラッペ病・ムコ多糖症VII型モデルマウスを用いた組換えレンチウイルスによる新生児遺伝子治療を検討。酒井らはムコリピドーシス・クラッペ病の変異解析を施行するとともにムコリピドーシス患者由来の繊維芽細胞に対するライソゾーム酵素混合液の効果を検討した。

## C. 研究結果および考察

### 病像把握のための調査研究

坪井らによるファブリー病に関する調査では心機能、腎機能を含めてagalsidase alfaによる酵素補充による効果が示唆された。高柳らによる調査では酵素補充療法では中枢系への効果の弱さ、コンプライアンスなどの問題点が提起された。大澤らの検討でNPCに対するミグルスタットの臨床効果が示唆され、小児ポンベ病と骨格筋画像、抗体産生との関連性が示された。渡辺らによる検討では骨髄移植、酵素補充共に早期開始の有効性が示唆されている。またスクリーニング法の検討でもそれぞれ技術的な改善とパイロットスタディによる実際の結果が明らかにされた。

### 病態解析

辻らの検討でALD原因遺伝子の一部が表現型関連を示し、またGBA遺伝子とパーキンソン病との関連性も示唆された。衛藤、大橋らはライソゾーム病のiPS細胞を作成さらに分化誘導し、病態解析に有効であることを示した。櫻庭らはリゾスフィンゴ糖脂質がファブリー、ゴーシェ、GM2ガングリオシドーシスなどでバイオマーカーとして有効であることを示唆した。田中らはムコ多糖 型タイプDでナンセンス、フレームシフト、大きな欠失といった変異が見られ更に酵素補充で高い抗体産生が見られることを示した。松田らはサポシン、プロサポシンの新たな機能を提示した。鈴木らはムコ多糖症 型での早期診断における成長曲線の有効性などを示した。高橋らはニーマンピックC型細胞への蓄積脂質減少効果に二次的ASM(スフィンゴミエリナーゼ)欠損の改善が重要であることを示した。高村らは若年性CLN1患者由来の繊維芽細胞を用いて変異型PPT1のプロセッシングや細胞内局在変化、オートファジーやミトコンドリア機能

異常による細胞障害を検討し発症機構の解明を試みた。横山らはペルオキシソーム病の発症前マーカー探索としてmultiple reaction monitoring 条件を多段同時実施することによるリン脂質分子種の網羅的定量が有効であることを示した。下澤らはペルオキシソーム病の診断実績を基にハンドブックを作成、またiPS細胞を用いて解析している。今中らはALDの原因蛋白ABCD1ミスセンス変異の安定化を指標とした化合物を22種類検出し治療薬となる可能性を示唆した。更に加我らはALDの超早期診断のための脳波解析を行い、波含有量が前頭型では前方、後頭型では後方に多く、治療効果により変化することが確認された。

### 新規治療法の開発

大野らは神経型ゴーシェ病患者に対するアンブロキシロールを用いたケミカルシャペロン療法を検討し有害事象なく残存酵素活性を上昇させ、かつ神経症候の改善を促すことを示した。難波らはGM1ガングリオシドーシス9名由来の繊維芽細胞でシャペロン効果を検討、NOEVは5細胞、6S-NBI-DGJは6細胞でシャペロン効果を認めたとし、二つのシャペロン化合物が異なる変異型に有効であることを示した。小林らは組換えレンチウイルスベクターのクラッペ病、ムコ多糖症VII型モデルマウス新生児への投与が生化学的にも表現型の改善にも有効であることを示した。酒井らはライソゾーム酵素混合液がムコリピドーシス患者細胞の治療に有効であることを示し、またクラッペ病の変異蛋白に対するNOEVのシャペロン効果も示した。

## D. 総合的考察

保険適応となった酵素補充療法に加え、シャペロン療法、遺伝子治療などの治験成果も世界で報告されており、ライソゾーム病・ペルオキ

シゾーム病が今後治療可能な疾患群として再認識されつつある。これに伴い、従来から推進している実態調査研究および病態解析などの基礎研究の重要性がますます高まってるといえる。

#### E. 結論

今回もライソゾーム病・ペルオキシゾーム病の生命予後、QOL, ADLの改善を目指して各研究が精力的に行なわれ、それぞれ大きな成果を挙げつつあるが、今後もこれらの成果を総合しフィードバックしつつ、更なる前進を目指して研究推進体制の強化が必要である。

#### F. 健康保険情報

なし

#### G. 研究発表

各分担研究者の報告を参照のこと

#### H. 知的財産権の出願・保有状況

各分担研究者の報告を参照のこと



## ファブリー病の臨床的特徴および治療効果の検討

分担研究者：坪井 一哉(名古屋セントラル病院 ライソゾーム病センター・血液内科)

### 研究要旨

本研究では、ファブリー病患者における臨床所見の評価を行い、現時点での実態を把握することである。名古屋セントラル病院を受診されたファブリー病患者を対象とし、当院受診時より現在に至るまでを観察期間とし、既存の電子カルテから情報を収集した。調査項目は、性別、年齢分布などの基本属性に加え、発症時年齢分布、酵素活性、臨床所見などの調査項目を集計・解析した。

また、agalsidase alfa を使用した酵素補充療法の有効性に関する検討を行った。治療開始12ヶ月、24ヶ月の観察時に左室心筋重量の減少傾向が認められ、ファブリー病に対するagalsidase alfa を使用した酵素補充療法の有効性が示唆された。腎機能に関しては、慢性腎臓病(CKD)の重症度分類に従い、A1, A2, A3の3群に分類し検討を行った。agalsidase alfa で治療開始後、尿蛋白/X<sub>pe</sub>比の増加は抑えられ、症例によっては著明な減少が認められた。また、APB(Angiotensin  $\alpha$  Receptor Blocker)を併用した症例を除外し再検討したが、同様に尿蛋白/Cre 比は減少傾向が認められた。酵素補充療法は、ファブリー病の腎障害の改善もしくは進行を遅らせる可能性が示唆された。

### A. 研究目的

ファブリー病はリソゾーム水解酵素の1つである  $\beta$ -galactosidase 活性が正常値より不足あるいは欠損しているため、全身の血管壁、血管内皮系細胞、一部の神経系など多くの組織や体液中に globotriaosylceramide (GL-3)などの糖脂質が蓄積する糖脂質代謝異常症である。遺伝子座は X 染色体(Xq21.33-q22)で、遺伝形式は X 連鎖劣性遺伝である。ヘミ接合体の男性では四肢疼痛、被角血管腫、低汗症、角膜混濁、心・腎および脳血管障害などが出現し、ヘテロ接合体の女性では無症状のものから重症のものまで多様である。本疾患の推定発症率は、欧米男性において、およそ 4

万人に 1 人と報告されている。

酵素補充療法は 1998 年に米国で遺伝子組換えヒト  $\beta$ -galactosidase の第 1/2 相臨床試験が開始され、翌年には欧米で第 3 相臨床試験が開始となった。その後、2001 年には欧州で、2003 年には米国で承認され発売が開始された。本邦では 1999 年に希少疾病用医薬品の指定を受け、2000 年に臨床試験が開始され、2004 年 1 月に承認、4 月に販売された。現在(2013 年 12 月)、本邦では推定で約 600 名の方が酵素補充療法を受けている。

本研究の目的は、ファブリー病患者における臨床所見の評価、および、酵素補充療法の有効性に

関する評価である。このことは、今後、古典型、ヘテロ型などなど各種の病態における治療の適応や開始時期を検討するための必要な基礎的データになると考えられる。

## B. 研究方法

### 1. 対象

名古屋セントラル病院を受診したファブリー病患者 58 名を対象とした。さらに、agalsidase alfa で酵素補充療法を 24 ヶ月以上施行している 37 症例を対象に、左室心筋肥大、腎障害に対する治療効果の検討を行った。

### 2. 方法

調査は、当院受診時より現在に至るまでを観察期間とし、既存のカルテから情報を収集した。調査項目は、性別、年齢分布などの基本属性に加え、発症時年齢分布、酵素活性、臨床所見などの調査項目を集計・解析した。

また、agalsidase alfa を使用した場合の酵素補充療法の左室心筋肥大や腎障害にたいする有効性に関する解析も行った。

#### (倫理面への配慮)

本研究は、「ヘルシンキ宣言」および厚生労働省の「臨床試験に関する倫理指針」、文部科学省 厚生労働省の「疫学倫理指針(平成 16 年 12 月 28 日改訂)」に基づき、名古屋セントラル病院の倫理委員会の承認を得て行った。個人名および現住所は解析対象項目に含めていない。また、集計においても個人が特定できるような情報は使用していない。

## C. 研究結果

名古屋セントラル病院を受診されたファブリー

病患者 58 名について解析を行った。性別では、男性 28 名、女性 30 名であり、古典型 27 名、亜型 1 名、ヘテロ型 30 名であった。濾紙血法による  $\beta$ -galactosidase の酵素活性の結果は、男性  $4.5 \pm 6.1$  Agal U (cut off 17.0 Agal U 未満)、女性  $14.7 \pm 7.7$  Agal U (cut off 20.0 Agal U 未満)であった。年齢階級分布では男性は、30 歳代から 40 歳代に分布し、女性は、40 歳代から 50 歳代に多く分布していた。平均年齢は、古典型  $30.9 \pm 10.7$  歳 (mean  $\pm$  SD)、ヘテロ型  $50.5 \pm 14.7$  歳 (mean  $\pm$  SD)であった。発症年齢は、男性  $11.7 \pm 12.0$  歳 (mean  $\pm$  SD)、女性  $17.5 \pm 14.7$  歳 (mean  $\pm$  SD)であり、共に 20 歳未満で発症していたが、診断時年齢に関しては、男性  $24.8 \pm 14.4$  歳 (mean  $\pm$  SD)、女性  $40.0 \pm 17.7$  歳 (mean  $\pm$  SD)であり、明らかに女性の方が確定診断に至るまでに多くの時間を要した。

臨床所見として 発汗障害は、男性約 80%、女性約 10%、被角血管腫は、男性約 60%、女性約 10%、角膜混濁は、男女ともに約 80%であった。疼痛は、男性約 90%、女性約 40%、うつ症状は、男女ともに約 20%、消化器症状は、男性約 50%、女性約 10%であった。耳鳴りは、男性約 60%、女性約 30%、難聴は、男女ともに約 40%であった。

さらに、当院受診したファブリー病患者のうち agalsidase alfa で酵素補充療法を 24 ヶ月以上施行している症例を対象とし、左室心肥大および腎障害について解析を行った。心エコー検査で、LV mass の減少傾向が認められた。EF は維持され、IVSd および LVpww の減少を認めたことから、酵素補充療法により心筋に蓄積されていた代謝産物の減少が考えられた。心肥大あり群で有意に LV mass の減少が認められた。心肥大なし群では、治療開始後も心肥大は認められず、病状の悪化は認められなかった。

心電図では心肥大を示唆する RV5+SV1 で評価を行ったが、治療開始前と各観察時において有意な差は認められなかった。

また、腎機能障害についても同様に解析を行った。agalsidase alfa で治療開始後、eGFR および尿蛋白/Cre 比の増加は抑えられ、一部の症例では減少傾向が認められた。また、ARB を併用した症例を除外し再検討したが、同様に尿蛋白/Cre 比は、横ばい、または減少傾向が認められた。

本研究では観察期間が短く(36 ヶ月)、症例数も限られていたため今後も慎重な検討が必要であるが、酵素補充療法により、ファブリー病の左室心筋肥大や腎障害の改善もしくは進行を遅らせる可能性が示唆された。

#### D. 考察

ファブリー病に対する酵素補充療法は 1999 年に希少疾病用医薬品の指定を受け、2000 年に臨床試験が開始され、2004 年 4 月に承認、販売された。現在(2013 年 12 月)、本邦では 600 名以上の方が酵素補充療法を受けている一方、現在も診断に至っていない症例も多いと考えられている。腎不全患者 23 万人の約 0.3-0.5%がファブリー病であるとの報告や、左室肥大の患者においては、1-3%にファブリー病が認められると報告されており、実際の患者数は約 1000 人以上と推定されている。

古典型の男性においては社会で最も大きく活躍する 30 歳代で腎不全となり、40 歳代で心不全となることの多い疾患であるため、有効な治療法を開発することは、社会的にも重要なことと考えられる。現在、本疾患に対する酵素補充療法が開発され、その治療によって予後が改善されることが期待されている。しかし、疾患発症の頻度が稀であるとともに、早期においては特有の症状が乏し

いために診断が遅れ、しばしば不可逆性の腎障害や心機能障害を呈してから診断されている。本症の早期診断法を開発することは予後を改善する上で重要であり、ファブリー病のスクリーニング法の開発、それに伴い症状を呈する以前からの経過を含め治療の開始時期が極めて重要な課題であると考えられる。

また、ファブリー病に対する酵素補充療法は、2004 年 4 月に承認、販売され、約 10 年が経過したところである。今後も様々な臨床研究が必要であると考えられる。現段階では、生化学的または病理学的に腎臓、皮膚、心臓などで蓄積物質である globotriaosylceramide (GL-3)が減少すること、痛みが改善することが判明したにすぎない。腎機能の悪化をどれくらい抑えることができるのか、また、悪化した腎臓をどれくらい改善させることができるのかなどが重要な課題になると考えられ、同時に心臓および脳血管系におけるイベントへの予防効果も重要な課題である。また、適切な投与開始時期の決定も重要である。特にヘテロ型の女性においては、臨床像を全く示さない症例から、古典型の場合と同様に早期発症で重症例のものまで存在する。最近では、腎臓障害、心臓障害、脳血管障害を起こしたファブリー病ヘテロ接合体の症例が多数報告されるようになり、今後、診断や治療上で大きな問題になると考えられる。

#### E. 結語

本研究は、ファブリー病患者の基本属性、臨床所見および酵素補充療法の評価を行い、現時点でのファブリー病患者の実態を解析した。このことは、現在行われている治療法の安全性や有効性、治療の適応や開始時期などを検討するための必要な基礎的データになると考えられる。

## F. 研究発表

### 1. 学会発表

- 1) 内富一仁, 村上敬之, 坪井一哉, 山本浩志. ファブリー病の腎障害における agalsidase aifa の有効性. 第 67 回日交通医学会総会; 2013 June 8-9; 広島
- 2) 内富一仁, 村上敬之, 坪井一哉, 山本浩志. ファブリー病の腎障害における agalsidase aifa の有効性. 第 67 回日交通医学会総会; 2013 June 8-9; 広島
- 3) 西山裕乃, 坪井一哉, 山本浩志. ファブリー病における Lyso-Gb3 を用いた治療有効性の検討. 第 67 回日交通医学会総会; 2013 June 8-9; 広島
- 4) Yamamoto H, Tsuboi K, Togawa T. Componential analysis of the cerumen in patients with Fabry disease. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Disease and The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Disease; 2013 Nov 27-29; Chiba, Japan
- 5) Yamamoto H, Goto H, Tsuboi K. Histopathological findings of the nasal mucosa in 2 cosanguineous patients with Fabry disease. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism; 2013 September 3rd - 6th Barcelona, Spain.
- 6) Tsuboi K, Yamamoto H, Goto H. Clinical course and safety in 13 Fabry Disease patients who switched from agalsidase-beta to agalsidase-aifa. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism; 2013 September 3rd - 6th Barcelona, Spain
- 7) Tsuboi K, Yamamoto H, Goto H. Switch from agalsidase beta to agalsidase alfa in 13 Fabry disease (FD) patients: Clinical course and safety. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Disease and The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Disease; 2013 Nov 27-29; Chiba, Japan
- 8) Tsuboi K. Wish with a silver wing. 15th Asia LSD Symposium; 2013 November 26th Chiba, Japan
- 9) Goto H, Tsuboi K, Yamamoto H. Abnormal heart rate variability and left ventricular hypertrophy in patients with Fabry disease. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism; 2013 September 3rd - 6th Barcelona, Spain
- 10) Goto H, Tsuboi K, Yamamoto H. Cardiac manifestations and enzyme replacement therapy of Fabry disease. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism; 2013 September 3rd - 6th Barcelona, Spain

## G. 知的財産権の出願・登録状況 該当なし

ライソゾーム病における酵素補充量療法の問題点

分担研究者：高柳 正樹（千葉県こども病院副病院長）

研究要旨

ライソゾーム病酵素補充療法のおもな問題点として以下の3点があげられる。

1. 酵素補充療法における中枢神経系への効果の問題点

現在使用されている酵素補充製剤による、経静脈による酵素補充療法は中枢神経系の障害に対する効果はほとんどない。アンブロキシソールによるシャペロン療法は、効果が見込まれる症例の選別方法、投与量、効果の判定方法などの開発が望まれる。

2. 酵素補充療法におけるコンプライアンス（アドヒアランス）上の問題点

患者毎にコンプライアンス（アドヒアランス）が向上する方法を患者と医療従事者との間で、十分に考えて調整することが必要である。

3. 酵素補充療法における死亡症例の問題点。

突然死したΓαυχηρη διασασε III型の1例における検討では、臓器においてミトコンドリア呼吸鎖活性の低下を示したのみならず、オートファジーの障害を示す証拠が認められた。ライソゾーム病においては機能障害を呈するライソゾームが、同じ細胞内小器官であるミトコンドリアの機能に大きな影響を与えている可能性が考えられる。

A. 研究目的

ライソゾーム病に対する酵素補充療法が開始されてからすでに17年経過している。酵素補充量の実施における問題点を検討したので報告する。

ライソゾーム病酵素補充療法のおもな問題点として以下の3点があげられる。

1. 酵素補充療法における中枢神経系への効果の問題点

2. 酵素補充療法におけるコンプライアンス（アドヒアランス）上の問題点

3. 酵素補充療法における死亡症例の問題点。

ことにライソゾーム病におけるミトコンドリア障害の存在

B. 研究方法

当院においてこれまでゴーシェ病 6 例、ハーラー病 1 例、ハンター病 3 例、ファブリー病 2 例の計 12 症例で酵素補充療法を行ってきた。

1. これら患者のうち中枢神経症状を示す患者への酵素補充療法の効果の評価を行った。

また現在 2 例の神経型ゴーシェ病患者に大量のアンブロキシソールを投与してそのシャペロン効果を検討した。

2. 酵素補充療法におけるコンプライアンス（アドヒアランス）の問題を、患者ごとに検討しその原因や対策策について評価した。

3. 当院でライソゾーム病としてフォローしてい

る症例、ゴーシェ病3例、テイザックス病2例、ハンター病2例、サンフィリップ病1例を対象に、臓器、培養細胞において、ミトコンドリア呼吸鎖酵素解析等を行い、ミトコンドリア呼吸能を評価した。

さらに死亡したゴーシェ病の心筋において Autopagic marker の検索をおこない、ミトコンドリア機能障害の成因の検討を行った。

(倫理面への配慮)

患者さま個人が特定されない方法で、研究報告など行う。

## C. 研究結果

### 1. 中枢神経系への効果の問題点:

神経症状を呈するゴーシェ病に対しては、120単位/2週の投与も行ったが、中枢神経系症状の進行を遅延させることはできなかった。ハーラー病、ハンター病重症型においても酵素補充療法の効果は極めて弱い。神経型ゴーシェ病患者のアムプロキソールのシャペロン療法の効果としては、重度のミオクローヌの軽快が認められている。

### 2. コンプライアンス

腎ファブリー病は症状はまったくなく、このため病識はほとんどない。これまで長期、短期の未受診や頻回の予約のキャンセルなどを繰り返している。特定疾患の申請の継続も中断したこともあった。酵素補充を土曜日(当院休診日)にも行えるようにした。

就職している軽症ハンター病は勤務先に1週に1回の病院受診を理解してもらうことが必要であった。

ゴーシェ病 型では学校をなるべく休まないために、受診時間の調整が必要であった。ゴーシェ病 型では重症心身障害のため通院が大変なので、当院の近くに転居なされた。ゴーシェ病 型

では重症心身障害のため当院受診が大変なので、酵素補充の半分を近くの開業医にお願いして、当院への通院が半分になった。

### 3. ミトコンドリア呼吸鎖酵素解析

突然死した Gaucher disease III 型の1例は、心筋、肝臓、腎臓において有意な酵素活性の低下、蛋白量の低下を認めた。肝臓・腎臓は Complex I 欠損が認められ、心筋は Complex I+IV の欠損が認められた。

残りの7症例のうち6例は線維芽細胞、1例は肝臓の呼吸鎖活性を測定したが、活性は正常であった

さらに突然死症例の肝臓、心筋を用いて Autophagy marker の検出を行ったところ、ATG5 及び LC3-I, II のシグナルが低下しており、Autophagy 障害の可能性が示唆された。

## D. 考察

現在使用されている酵素補充製剤による、経静脈による酵素補充療法は中枢神経系の障害に対する効果はほとんどない。髄腔または脳室への直接的な製剤投与が検討されているが、その安全性、効果についての報告が待たれる。アムプロキソールによるシャペロン療法は、効果が見込まれる症例の選別方法、投与量、効果の判定方法などの開発が望まれる。脳血管関門を越えるような新しい製剤、基質合成抑制剤、遺伝子療法の開発も待たれる。

コンプライアンス(アドヒアランス)は酵素補充療法の効果を左右する重要な問題である。学校に在籍している時も頻回な通院にはかなり困難が伴う。しかし就業した後の定期的な通院にはさらなる困難が伴う。全く症状のない時期からの酵素補充療法の継続には、患者の疾患に対する十分な理解と、受診の容易さを担保する方策が必要で

ある。患者の生活環境が患者ごとに大きく異なるので、患者毎にコンプライアンス(アドヒアランス)が向上する方法を患者と医療従事者との間で、十分に考えて調整することが必要である。

ゴーシェ病のモデルマウスにおいて、ミトコンドリアとその品質管理がパーキンソン病との関連において検討されている。

突然死した Gaucher disease III 型の 1 例における検討では、臓器においてミトコンドリア呼吸鎖活性の低下を示したのみならず、オートファジーの障害を示す証拠が認められた。このことから本症例においては、ミトコンドリアの品質管理に異常が生じ、その結果ミトコンドリア呼吸鎖活性の低下をもたらした可能性が高いのではと考えられる。

ゴーシェ病に限らず、ライソゾーム病においては機能障害を呈するライソゾームが、同じ細胞内小器官であるミトコンドリアに大きな影響を与えている可能性が考えられる。

今回線維芽細胞においてはミトコンドリア呼吸鎖活性の低下を見た症例はなかったが、障害臓器の直接的な呼吸鎖活性の測定がさらに必要であろうと考えられる。

## E . 結論

酵素補充療法は十分に完成された治療法ではないと考えられる。この治療効果効果を上げるためにも、中枢神経系への効果を上げる方法の開発が必要である。コンプライアンス(アドヒアランス)の改善は患者の QOL の上昇に必須なので十分な検討が必要である。ライソゾーム病におけるミトコンドリア機能の検討は、その病態を解明するとともに酵素補充量の効果をさらに上げる重大なヒントを与えてくれるかもしれない。

## F . 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 井田 博幸, 衛藤 義勝, 田中 あけみ, 高柳 正樹, 酒井 規夫, 川合 基司, 田畑 恭裕. 薬剤の臨床 日本人 Gaucher 病(I 型、II 型および III 型)患者に対するセラザイムの 8 年間の製造販売後調査結果による有効性と安全性の検討。小児科診療 76: 1325-1334, 2013

### 2. 学会発表

- 1) 高柳正樹、村山圭、川内恵美。酵素補充療法におけるコンプライアンスについて。第 16 回日本ライソゾーム病研究会、2011、東京

## G . 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし





ライソゾーム病3疾患における臨床・治療経過

分担研究者：大澤真木子（東京女子医科大学医学部 小児科 主任教授）

（平成 23 年 4 月 1 日～平成 25 年 3 月 31 日）

石垣 景子（東京女子医科大学医学部 小児科 講師）

（平成 25 年 4 月 1 日～平成 26 年 3 月 31 日）

研究要旨

1. D-bifunctional protein 欠損症の臨床経過
2. 小児期発症の Niemann-Pick 病 X型における miglstat の使用経験—早期診断に有用な検査所見の検討—
3. 小児型 Pompe 病における酵素補充療法の長期経過と骨格筋画像評価の有用性

研究協力者氏名

1. 塩田睦記（東京女子医科大学医学部小児科助教）
2. 衛藤 薫（東京女子医科大学医学部小児科助教）
2. 伊藤 康（東京女子医科大学医学部小児科講師）

例で、DBP 欠損症としては軽症であり、病初期の確定診断は困難であった。

E. 結論

極長鎖脂肪酸を繰り返し検査することが必要である。

1. A. 研究目的

D-Bifunctional protein欠損症(DBP欠損症)の診断に有用な検査所見を研究する。

B. 研究方法

DBP 欠損症の 2 例(7 か月男児典型例,2 歳 2 か月女児非典型例)の臨床経過を後方視的に研究した。

C. 研究結果

病初期には DBP 欠損症として臨床症状,検査所見とも非典型的な症例でも繰り返し検査する必要性を示した。

D. 考察

症例 2 はペルオキシゾーム病に特異的な極長鎖脂肪酸の上昇が病初期に軽度だった。長期生存

2. A. 研究目的

Niemann-Pick 病 C 型 (NPC) における糖脂質のグルコシルセラミド合成阻害薬; miglstat (Brazaves®) の効果と, 早期診断に有用な判定指標の探索を行う。

B. 研究方法

治療前,治療開始 2,6,12,18,24 か月に定期的に, 脳波, ABR, 末梢神経伝導検査, 視覚誘発電位, 腹部超音波, CT, 酸性ホスファターゼ, 蓄積物質, 神経伝達物質の測定を行った。

C. 研究結果

覚醒度が上昇し,脳波の周波数解析ではδ波が減少した。MRS で小脳での Cho の上昇をみとめ

た。

#### D. 考察

治療後、覚醒度が上昇し、徐波の減少傾向を認め、大脳皮質機能の活性化が示唆された。MRSにおける小脳の Cho の上昇に関してはその病的意義は不明である。

#### E. 結論

判定指標に関しては純分な検討に至らなかった。

#### 3. A. 研究目的

異なる治療反応性を示す小児型 Pompe 病患者 3 名における酵素補充療法 (ERT) の長期経過と骨格筋画像を比較検討する。

#### B. 研究方法

3 例の小児型 Pompe 病患者の骨格筋画像、抗体価等の比較検討を行った。

#### C. 研究結果

非常に良好な例は抗体産生がないが、良好例でも産生はあった。骨格筋画像では、反応不良例は不可逆的な局所的高吸収を認めた、良好な例は全体的な高吸収値のみだった。

#### D. 考察

抗体産生は絶対的な効果決定因子ではない。骨格筋画像で局所的高吸収域は不可逆であり、ある程度の予後因子の想定になりうる。

#### E. 結論

治療開始まで短期間、骨格筋画像で局所的高吸収域なし、抗体産生なしが治療反応性良好の予測因子にはなりうる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Ishigaki K. et al. Brain Dev. 2012; 34(2):98-102. (2)Ishigaki K.et al. Brain Dev. 2012;34(2):103-6.(3) 塩田睦記ら 東京女子医大雑誌 第 83 巻 第 E1 号

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし



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

## ライソゾーム病治療の臨床的研究

骨髄移植を受けた I-cell 病患者の長期予後に関する研究

ハンター症候群患児における酵素補充療法の効果の長期観察

ゴーシェ病 III 型の骨髄移植症例の長期経過とムコソルバン療法導入の試み

分担研究者：渡邊 順子（久留米大学 准教授）

### 研究要旨

I-Cell 病、ゴーシェ病 III 型に対する同種骨髄移植の長期経過（それぞれ移植後 20 年、25 年）、およびハンター症候群に対する 42 ヶ月間の酵素補充療法の有効性を臨床的に評価した。いずれの治療法も早期に開始することで、臨床症状の改善を認め一定の効果があることが確認された。著効を示す症状、限定的効果にとどまる症状、無効な症状の差が見られた一方で、神経症状など有効な根治療法のない現状にあっては、臨床症状の進行を緩和するためには選択肢の一つとなりうると考えられる。

### 研究協力者

加藤俊一 東海大学・教授  
矢部普正 東海大学・准教授  
酒井規夫 大阪大学・准教授  
大友孝信 大阪大学小児科  
大野耕策 山陰労災病院・院長  
成田 綾 鳥取大学・大学院  
岡田純一郎 久留米大学小児科、助教  
弓削健太郎 久留米大学・助教  
高瀬隆太 久留米大学小児科・助教  
大平智子 久留米大学小児科・研究生  
芳野 信 久留米大学・客員教授

### A．研究目的

ライソゾーム病に対しては、現在、様々な治療が開発されているが、いずれの疾患も希少疾患であること、症例ごとに臨床経過、重症度が様々であることから、治療の有効性を評価するためには個別の症例の詳細な検討が重要である。当科でフォロー中の ムコリピドーシス（I-cell 病）、ムコ多糖症 II 型（ハンター病）、

ゴーシェ病 III 型症例に行なった治療の長期経過および有効性、今後の治療戦略について検討した。

### B．研究方法

対象は、1 歳 2 ヶ月時に、実姉をドナーとして同種骨髄移植を行われた 20 歳の I-Cell 病の女性、酵素補充療法を行なっている 9 歳 5 か月および 4 歳 7 か月のハンター症候群(重症型)兄弟（年齢はいずれも酵素補充療法開始時）

4 歳時に実兄をドナーとして骨髄移植が行われた 25 歳のゴーシェ病 III 型の女性。

### C．研究成果

I-cell 病患者に 1 歳 2 ヶ月時、同種骨髄移植を行った。移植後、末梢血リンパ球の GlcNAc-1-phosphotransferase 活性は最大 2.28 倍、-mmnosidase、-hexosaminidase 活性はそれぞれ最大 4.8 倍、2.8 倍まで上昇し、10 歳頃までは精神運動発達の獲得が見られたがその後退行し 20 歳で呼吸不全のため死亡した。I-cell

病患者に対する骨髄移植は一定の生化学的改善をもたらし、臨床症状の進行緩和効果がある可能性がある。

ハンター症候群(重症型)兄弟 2 名に 42 か月にわたり酵素(イデュルスルファーゼ)補充療法を行った。その結果、著効を示す症状(心筋肥大、肝脾腫大)と限定的効果にとどまる症状(関節拘縮など)、無効な症状(中枢神経)の差が見られた。また、治療開始年齢が若いほど効果も大きい傾向があり、早期の治療開始が予後の改善に重要と考えられる。

ゴーシェ病 III 型患者の同種骨髄移植後の経過を観察し、治療効果を評価した。生後 9 ヶ月で喉頭痙攣などを発症、3 歳 7 ヶ月で本症と診断、4 歳 0 か月で骨髄移植を受けドナー細胞の持続的生着が確認された。神経症状の発症が早かったわりには思春期半ばからの神経症状の進行は相対的に遅いと考えられ、骨髄移植によって修飾された可能性が考えられた。眼球運動の異常は比較的軽度で、骨病変や肝脾腫に対する有効性は確認されたものの、神経症状については進行を緩和させるものの、効果は限定的と考えられた。今後は、眼球運動やミオクローヌスの改善を指標に、本症例に対してムコソルバンの効果を検証していく予定である。

#### D. 結論

I-Cell 病、ゴーシェ病 III 型に対する同種骨髄移植、ハンター症候群に対する酵素補充療法は、臓器によっては有効性を認めるものの、特に神経症状に対しては効果が限局的であり、根治療法とはなりにくい。ただし有効な根治療法のない現状にあっては、臨床症状の進行を緩和するためには選択肢の一つとなりうると考えられる。今後、より有効な治療法の開発が望まれ、ゴーシェ病 III 型に対してはシャペロン療法としてのムコソルバン療法に期待する。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Hara M, Matsuishi T, Yoshino M, et al. : An adult patient with mucopolidosis III alpha/beta presenting with parkinsonism. *Brain Dev.* 2013 May;35(5):462-5.
- 2) Mitobe S, Yoshino M, Sakuraba H, et al. : Mutant  $\alpha$ -galactosidase A with M296I does not cause elevation of the plasma globotriaosylsphingosine level. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2012 Jul 14. [Epub ahead of print]
- 3) Harada H, Yoshino M, Ikeda H, et al. : Laronidase replacement therapy improves myocardial function in mucopolysaccharidosis I. *Mol Genet Metab* 2011; 103: 215-219.
- 4) 芳野 信 : ライソゾーム病の病態におけるサイトカインなど生物活性物質の役割 ライソゾーム病 - 最新の病態、診断、治療の進歩 - . 衛藤義勝 責任編集 . 診断と治療社 (東京) 2011 ; 35-37 . 総頁数 274 .

##### 2. 学会発表

- 1) 渡邊順子、矢部晋正、加藤俊一、大友孝信、酒井則夫、賀佐伸省、松石豊次郎、芳野 信 : 骨髄移植を受けた I-cell 病の長期予後. 第 115 回日本小児科学会 2012.4.20-22 (福岡)
- 2) 高瀬隆太、大平智子、渡邊順子、須田憲治、松石豊次郎、芳野 信 Hunter 症候群患児に対する Idursulfatase 補充は心室中隔、左室後壁肥厚を改善する. 第 115 回日本小児科学会 2012.4.20-22 (福岡)
- 3) Mitobe S, Togawa T, Tsukimura T, Doi K, Noiri E, Akai Y, Saitou Y, Yoshino M, Takenaka T, Sakuraba H. Mutant  $\alpha$ -galactosidase A with M296I does not cause elevation of the plasma lyso-Gb3 level. The 54th Annual Meeting of Japanese

Society for Inherited Metabolic Diseases.  
November 11-17, 2012, Gifu

F. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

- 4) 渡邊順子、矢部普正、加藤俊一、大友孝信、酒井規夫、賀佐伸省、祐川（早川）和子、芳野 信：骨髄移植を受けた I-cell 病患者の長期予後 第 53 回日本先天代謝異常学会 2011.11.24-26（千葉）
- 5) 渡邊順子、大平智子、加藤俊一、矢部普正、酒井規夫、大友孝信、芳野 信：骨髄移植を受けた I-cell 病患者の長期予後 第 15 回日本ライソゾーム病研究会 2010.12.10 - 11（東京）
- 6) 芳野 信、大平智子、岡田純一郎：ライソゾーム蓄積病の病態におけるサイトカインなど生体活性物質の役割 第 15 回日本ライソゾーム病研究会 2010.12.10 - 11（東京）
- 7) 弓削康太郎、芳野 信、渡邊順子：ゴーシェ病 III 型に対するムコソルバン療法導入の試み 平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業班会議 2013.9.26（東京）
- 8) 渡邊順子、大矢崇志、松石豊次郎、芳野 信：ゴーシェ病 III 型の骨髄移植症例 平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業班会議 2012.10.4（東京）
- 9) 高瀬隆太、渡邊順子、岡田純一郎、芳野 信：ムコ多糖症 型の酵素補充療法の効果の長期観察 平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業班会議 2011.9.28（東京）
- 10) 渡邊順子、大平智子、加藤俊一、矢部普正、酒井規夫、大友孝信、芳野 信：骨髄移植を受けた I-cell 病患者の長期予後 平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業班会議 2010.12.9（東京）

## 新しい診断法の開発（酵素補充療法）

分担研究者 奥山 虎之（国立成育医療研究センター臨床検査部）

### 研究要旨

ライソゾーム病の早期発見・早期治療の重要性が認識され、新生児マス・スクリーニングが注目されている。我々は、治療可能なライソゾーム病を対象にした血液ろ紙検体による簡便かつ迅速なスクリーニング法の開発を目標とした。平成 22-23 年度はポンペ病のスクリーニング検査を開発・実用化し、国立成育医療研究センターにおけるパイロットスタディの結果の検討後、ポンペ病有料マス・スクリーニングを開始した。平成 24 年度以降は、ハーラー症候群、ハンター症候群、ゴーシェ病、ポンペ病、ファブリー病のライソゾーム病 5 疾患を対象として、Liquid Logic™ Newborn Screening Analyzer による酵素活性値の同時測定の開発を行った。その結果、すべてのライソゾーム酵素活性測定において健康対照者と患者を鑑別することが可能となった。

### A．研究目的

ライソゾーム病に対する根治的治療法に酵素補充療法と造血幹細胞移植がある。どちらの治療法も症状が進行する以前に開始することにより最大の治療効果が得られるため、ライソゾーム病の早期発見・早期治療の重要性が認識され、特に新生児マス・スクリーニングの開発が注目されている。我々は、まずライソゾーム病のひとつであるポンペ病を対象とし、ろ紙微量血液検体を用いた酵素活性測定を可能とし、新生児マス・スクリーニングへの応用を目的とした。さらに、我が国で酵素補充療法による治療が可能であるライソゾーム病 5 疾患のライソゾーム酵素をろ紙微量血液検体を用いて同時測定することにより新生児マス・スクリーニングを可能とする測定系の確立を目標とした。

### B．研究方法

ポンペ病スクリーニング法の開発では、健康対照者 496 名、ポンペ病保因者 5 名およびポンペ病患者 29 名の血液ろ紙中の酸性 グルコシダーゼ（GAA）酵素活性値を人工蛍光基質を用いて測定した。また GAA 酵素活性の低値を示すが、治療の必要のない集団である、pseudodeficiency（偽欠損）の頻度を p.G576S 多型解析により調べた。さらに、本検査法によるポンペ病新生児マス・スクリーニングを国立成育医療研究センターで出生した新生児を対象に 2011 年 1 月よりパイロットスタディとして開始した。

ライソゾーム病 5 疾患の酵素活性値の同時測定の開発は、ろ紙微量血液検体を用いて、ハーラー症候群、ハンター症候群、ゴーシェ病、ポンペ病、ファブリー病の各ライソゾーム酵素を

Liquid Logic™ Newborn Screening Analyzer（Advanced Liquid Logic 社、米国）による 4 MU 法により同時測定を行った。本研究は、平成 22 年 11 月 30 日に「ライソゾーム病の新生児スクリーニング検査」、独立行政法人国立成育医療研究センター倫理委員会に承認されている。

### C．研究結果

GAA 活性のカットオフラインを正常コントロールに対して 8%、NAG/GAA 比のカットオフラインを 30 倍以上、阻害率のカットオフラインを 60%以上として、すべてを満たす場合にスクリーニング陽性とする、ポンペ病患者 29 名中 29 名と Pseudodeficiency15 症例中 1 症例と 保因者 5 症例中 1 症例が陽性と判定され、患者群と Pseudodeficiency（偽欠損）および健康対照者を分けることが可能であった。正常対照者 469 例のうち、Pseudodeficiency（偽欠損）は 15 例であり、全体の約 3 パーセントであった。

国立成育医療研究センターでのパイロットスタディ対象者となったのは 361 名であり、そのうち 15 名が一次スクリーニング陽性と診断された。これらの陽性例の 1726G > A (G576S) の GAA 遺伝子多型解析を行った結果、14 例は pseudodeficiency（偽欠損）に矛盾しないホモ接合体であった（対象者の 3.9%）。1 例はヘテロ接合体であったため、リンパ球での GAA 活性測定、GAA 遺伝子検査を行ったところ、GAA 活性値は 15%で、GAA 遺伝子変異は認められなかった。

ライソゾーム病 5 疾患の酵素活性値の同時測定の開発では、284 名の正常対照群と 70 名のライ

ソゾーム病患者群(ハーラー症候群 4 名、ハンター症候群 15 名、ゴーシェ病 2 名、ポンペ病 31 名、ファブリー病 18 名)から得られたろ紙検体を対象とした。対照群と患者群のそれぞれのライソゾーム酵素活性平均値は、 $\alpha$ -L-イズロニダーゼ 23.6 (9.3-41.9) および 2.1 (1.4-2.6)  $\mu\text{mol/L/h}$ 、イズロネート酸-2-スルファターゼ 27.7 (15.2-51.3) および 8.3 (3.9-12.1)  $\mu\text{mol/L/h}$ 、酸性  $\alpha$ -グルコシダーゼ 22.3 (9.4-46.6)、4.9 (2.3-8.3) および 5.7 (2.6-15.5、pseudodeficiency 群)  $\mu\text{mol/L/h}$ 、 $\alpha$ -ガラクトシダーゼ 32.5 (1.3-90.5)、4.6 (1.9-8.9)、および 7.4 (2.7-19.2、女性保因者)  $\mu\text{mol/L/h}$ 、 $\alpha$ -グルコセレブロシダーゼ 10 (4.7-22.1) および 1.93 (1.6-2.2)  $\mu\text{mol/L/h}$  であった。

#### D. 考察

ろ紙微量血液検体を用いたポンペ病スクリーニング法により、患者群と正常群は明確に鑑別可能であった。Pseudodeficiency (偽欠損) の鑑別には、G576S の多型解析を併用することで可能であり、これら方法を用いてポンペ病新生児マス・スクリーニングを開始した。ライソゾーム病 5 疾患のライソゾーム酵素をろ紙微量血液検体を用いて同時測定することにより、対照群と患者群のライソゾーム酵素活性平均値は明らかに違いがみられた。しかしポンペ病の pseudodeficiency (偽陰性) とファブリー病の女性保因者の鑑別には他法の併用が必要と考えられた。

#### E. 結論

ろ紙微量血液検体を用いたポンペ病スクリーニング法が可能となった。ライソゾーム病 5 疾患のライソゾーム酵素活性同時測定により正常対照群とライソゾーム患者群の鑑別が可能であったが、ポンペ病の pseudodeficiency (偽陰性) とファブリー病の女性保因者の診断には検討が必要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Hayashi S, Okuyama T, Ohki H, et al. Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies. *J Hum Genet.* 2010 Oct 28.
- 2) Okuyama T, Tanaka A, Suzuki Y, et al. Japan Elaprase((R)) Treatment (JET) study: Idursulfase enzyme replacement therapy in adult patients with attenuated

- Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis II, MPS II). *Mol Genet Metab.* 2010;99:18-25.
- 3) Furukawa Y, Okuyama T, Iwasa K, et al. Cervical pachymeningeal hypertrophy as the initial and cardinal manifestation of mucopolysaccharidosis type I in monozygotic twins with a novel mutation in the alpha-l-iduronidase gene. *J Neurol Sci.* 2010 Dec 20.
  - 4) 奥山虎之: 「ライソゾーム病の診断」特集「わが国のライソゾーム病の病因、病態、診断治療」: 血液フロンティア Vol.20, No.4,47-50,2010.
  - 5) 小須賀基通、奥山虎之: 「先天代謝異常症の遺伝学・遺伝相談」見逃せない先天代謝異常、小児科臨床ピクシス 23,197-201,2010.
  - 6) Oda E, Tanaka T, Migita O, et al. Newborn screening for Pompe disease in Japan. *Mol Genet Metab.*104:560-565,2011.
  - 7) Furujo M, Kubo T, Kosuga M, et al. Enzyme replacement therapy attenuates disease progression in two Japanese siblings with mucopolysaccharidosis type VI. *Mol Genet Metab.* 104:597-602,2011
  - 8) Shigeto S, Katafuchi T, Okada Y, et al.: Improved assay for differential diagnosis between Pompe disease and acid  $\alpha$ -glucosidase pseudodeficiency on dried blood spots. *Mol Genet Metab.* 103:12-17,2011.
  - 9) Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, et al. Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: A nationwide survey in Japan. *Mol Genet Metab.* 2012;107:513-520.
  - 10) Sasaki T, Niizeki H, Shimizu A, et al. Identification of mutations in the prostaglandin transporter gene SLCO2A1 and its phenotype-genotype correlation in Japanese patients with pachydermoperiostosis. *J Dermatol Sci.* 2012;68:36-44.
  - 11) Hwu WL, Okuyama T, But WM, et al. Current diagnosis and management of mucopolysaccharidosis VI in the Asia-Pacific region. *Mol Genet Metab.*2012;107:136-144.
  - 12) D'Aco K, Underhill L, Rangachari L, et al. Diagnosis and treatment trends in mucopolysaccharidosis I: findings from the MPS I Registry. *Eur J Pediatr.*2012; 171:911-919.
  - 13) Tajima G, Sakura N, Kosuga M, et al. Effects of idursulfase enzyme replacement



therapy for Mucopolysaccharidosis type II when started in early infancy: comparison in two siblings. *Mol Genet Metab.* 2013;108:172-7.

## 2. 学会発表

- 1) 田尾絵里子、徐朱玟、四元淳子、小須賀基通、田中藤樹、大森美香、川目裕、Dong-kyu Jin、奥山虎之. 日韓のムコ多糖症における新生児マス・スクリーニングに関する意識調査. 第 37 回 日本マス・スクリーニング学会. 横浜、2010.8.29
- 2) 中島英規、小須賀基通、巽国子、藤直子、藤本純一郎、奥山虎之、瀧紙血検体を用いたライソゾーム酵素活性測定法の開発. 第 37 回 日本マス・スクリーニング学会. 横浜、2010.8.28.
- 3) 中島英規、小須賀基通、藤直子、巽国子、藤本純一郎、奥山虎之、タンデムマス質量分析器を用いたポンペ病の診断法の開発. 第 52 回 日本先天代謝異常学会総会・第 9 回アジア先天代謝異常症シンポジウム、大阪、2010.10.22.
- 4) Tao-Nishida Eriko, See Joo-Hyun, Sohn Young-Bae, Yotsumoto Junko, Kosuga Motomichi, Tanaka Toju, Omori Mika, Kawame Hiroshi, Jin Dong-Kyu, Okuyama Torayuki WHAT DO YOU THINK OF ENZYME REPLACEMENT THERAPY AND NEWBORN SCREENING FOR MUCOPOLYSACCHARIDOSIS? OPINIONS FROM PATIENTS AND FAMILIES OF PATIENTS IN JAPAN AND KOREA Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism (SSIEM) ANNUAL SYMPOSIUM 2010、イスタンブール、2010,8.
- 5) ライソゾーム病マス・スクリーニングの試みと遺伝カウンセリング. 田中 あけみ、鈴木 健、奥山 虎之、藤川 研人、坂口 知子、小田 絵里、藤 直子、斎藤 三佳、澤田 智、北川 照男. 第 55 回 人類遺伝学会、大宮、2010.10.28.
- 6) Motomichi Kosuga, Eri Oda, Toju Tanaka, Kazuhiro Kida, Torayuki Okuyama. The Feasibility of Newborn Screening for Pompe Disease in Japanese Population. The 7<sup>th</sup> Congress of Asian Society for Pediatric Research Hosted with the pediatric Academic Societies' Annual meeting. Denver, USA. April 30, 2011.
- 7) 小須賀基通、木田和宏、藤直子、小田絵里、奥山虎之. 国立成育医療研究センターにおける新生児型ポンペ病マススクリーニングパイロットスタディの結果報告. 第 38 回 日本マス・スクリーニング学会、福井、2011.10.29.
- 8) 小須賀基通、木田和宏、藤 直子、小田絵里、奥山虎之. 乳児型ポンペ病新生児スクリーニングのパイロットスタディ. 第 53 回 日本先天代謝異常学会・第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム、千葉、2011.11.26.
- 9) Kosuga M, Kakee N, Hirakiyama A, Fuji N, Kida K, Okuyama T. The Feasibility of Newborn Screening for Pompe Disease in Japanese Population. The 7<sup>th</sup> Congress of Asian Society for Pediatric Research Hosted with the pediatric Academic Societies' Annual meeting. Denver, USA. April 30, 2011.
- 10) 藤直子、小須賀基通、開山麻美、荒木尚美、五十嵐仁美、木田和宏、奥山虎之. Liquid Logic Newborn Screening Analyzer を用いた新生児スクリーニング. 第 54 回 日本先天代謝異常学会、岐阜、2012.11.16.
- 11) M. Kosuga, Fuji N, Kida K, Okuyama T. Newborn screening for infantile Pompe disease: Report of a pilot study in National Center for Child Health and Development, The American Society Of Human Genetics 62<sup>nd</sup> Annual Meeting, Nov. 8 2012, San Francisco, USA.
- 12) Kosuga M, Fuji N, Kida K, Okuyama T. Newborn Screening for infantile-onset Pompe disease in National Center for Child Health and Development. 4<sup>th</sup> International Forum for Lysosomal Storage Disorders, 17<sup>th</sup> Japanese Society of Lysosomal Storage Disorders Joint Meeting, October. 4-6, 2012. Tokyo, Japan.
- 13) Tanaka A, Okuyama T., Suzuki Y, Sakai N, Hamazaki T, Kosuga M. Sawada T, Yabe H, Ishige M, Mugishima H, Kato S: EFFICACY OF ENZYME REPLACEMENT THERAPY VERSUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION ON BRAIN INVOLVEMENT IN MPS II, 12<sup>th</sup> International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Barcelona, Spain, September. 4. 2013.
- 14) 小須賀基通、木田和宏、藤直子、奥山虎之: 5 つのライソゾーム酵素同時測定によるライソゾーム病の新たなスクリーニング法. 第 116 回 日本小児科学会学術集会学会、広島、2013.4.19.
- 15) 奥山虎之: ライソゾーム病に対する新生児マス・スクリーニングの現状と今後の課題(シンポジウム). 第 40 回 日本マス・スクリーニング

学会学術集会、大阪、2013.8.24.

G . 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
総合分担研究報告書

ライソゾーム病の新生児スクリーニングに関する研究  
並びに Fabry 病のハイリスクスクリーニングの研究

分担研究者：北川照男（公益財団法人 東京都予防医学協会理事長）

研究協力者

鈴木 健（公財）東京都予防医学協会  
藤川研人（公財）東京都予防医学協会  
石毛信之（公財）東京都予防医学協会  
穴澤 昭（公財）東京都予防医学協会  
大和田操（公財）東京都予防医学協会  
大橋十也 東京慈恵会医科大学小児科  
井田博幸 東京慈恵会医科大学小児科  
衛藤義勝 東京慈恵会医科大学小児科  
田中あけみ 大阪市立大医学部小児科

【はじめに】

ライソゾーム病は細胞内の小器官ライソゾームの中に分布する酵素の先天的な異常に基づく疾患であり、他の遺伝性代謝病と同様に出生後酵素の基質が徐々に蓄積していろいろな症状を呈するのが特徴である。従って、先天代謝異常症と同様に蓄積された基質を同定するか、酵素活性の異常を証明して診断される。しかし、ライソゾーム病での酵素基質の蓄積は、主に細胞内で起こるので血漿を検体として用いても良い診断結果が得られないことが多く、むしろ尿を検体として用いたほうが良い結果を得られることが少ない（例：Fabry 病 (FD)における尿 GL3 やムコ多糖症における尿 GAG の測定など）。また、酵素活性の測定も患者において欠損している酵素の活性を天然基質で測定できることは稀であって、蛍光基質等を使用して類似酵素と共に目的とする酵素の活性を測定して診断を試みる事が多く、そのために類似酵素を阻害薬で inhibition したり、目的とする酵素を抗体で捕捉して活性を測定してスクリーニングする。それでも pseudo enzyme

deficiency の問題もあるので、診断には注意が必要である。

従って、上記の点について検討しながら平成 22 年には Pompe 病、Hurler-Scheie 病および Hunter 病の新生児スクリーニングについての研究を行い、平成 23 年度には Pompe 病について酸性  $\alpha$ -グルコシダーゼを抗体で捕捉して活性を測る方法と混在する類似酵素の活性を阻害薬で抑えて目的とする酵素を測定する方法とを比較する研究を行った。平成 24 年度はハイリスクスクリーニングで発見した FD の重症度を検討し、平成 25 年度は、これまで濾紙血液の酵素を用いてライソゾーム病をスクリーニングする場合、検体の試料が少ないために試料の incubation time を 20 時間としているものが多いので、スクリーニングのための至適条件について研究した。従って、本稿では各年度別の研究の概要と考察を記載し、最後に総括をまとめて記述した。

I 平成 22 年度：Pompe 病、Hurler-Scheie 病および Hunter 病の新生児スクリーニング法の研究

【研究の概要】

1 . Pompe 病のスクリーニング法

Pompe 病はライソゾーム酸性  $\alpha$ -glucosidase (LGAA) の異常症であるので血中に存在する酸性 maltase-gluco-  
amylase (MG) や中性  $\alpha$ -glucosidase C をアルカボースを加えて阻害し、LGAA の活性を測定した。Chamoles らの競合酵素阻害法で検査すると共に、抗 LGAA 抗体を用いて LGAA のみを捕捉し、そ

の酵素活性を測定する immuno-capture enzyme assay 法 (Umapathysivam 法) で測定して、何れの方法が Pompe 病を新生児期にスクリーニングするのに優れているかを比較検討した。

## 2 . Hurler-Scheie 病 (MPS I 型) のスクリーニング法

本症はライソゾーマル  $\alpha$ -iduronidase (ID) の異常症であり、類似酵素を saccharic acid-1-4-lactone を加えて阻害し、4MU-iduronide を基質として血漿と共に incubate し、ID を測定した。

## 3 . Hunter 病 (MPS II 型) のスクリーニング法

$\alpha$ -Iduronide-2-sulfatase (IDS) の先天異常症である Hunter 病のスクリーニングは、この酵素 (IDS) のポリクローナル抗体を使用して、マイクロプレートウェルに固相化して捕捉し、蛍光基質 4MU-sulfate を加えて IDS を測定した。

### 【研究成績と考察】

新生児を対象とした Pompe 病の試験的二次スクリーニングに使用した免疫捕捉法による濾紙血液 GAA 活性の測定法は、Chamoles らの方法よりもより簡便で容易に測定できる上に、患者の GAA 活性値は正常対象と比較して明らかに低値を示しており、患者の診断を速やかに行うことができた。従って、この免疫捕捉法で一次スクリーニングを行い、陽性を示した例について本法と Chamoles らの方法を併用して二次スクリーニングを行えば、より精度の高いスクリーニングが可能となると思われる。しかし、pseudodeficiency と Pompe 病との鑑別は遺伝子検査以外の方法では不可能であった。

MPS I 型、MPS II 型の新生児スクリーニングは、それぞれの疾患で活性が低下する方法で酵素を測定すれば早期発見が可能である。しかし、MPS I 型も II 型も神経症状を伴う症例があり、これに対して酵素補充療法は効果が乏しく、スクリーニングの有用性は少ない。従って、一般の新生児集団に新生児スクリーニングを行う場合はこの点

について予め行政や新生児の家族の理解を得ておくことが必要であろう。

## II 平成 23 年度：乾燥濾紙血液を用いた糖原病 II 型の酵素学的スクリーニング法の研究：免疫捕捉酵素活性測定法と競合酵素阻害法の比較研究

### 【研究の概要】

本研究は大阪市立大学小児科グループとの共同研究の形式で実施した。すなわち、予めインフォームドコンセントが得られた、2009 年 11 月から 2010 年 10 月の間に同大学病院で出生した 485 例の新生児について、GSD II のスクリーニング検査を行った。また、某病院でフォローアップされていた、既知の GSD II 患者 4 例の乾燥濾紙血液 (以下 DBS) を、正常新生児の LGAA 活性測定値と対比する目的で本研究に使用した。患者 4 例の病型は、乳児型 2 例、成人型 1 例、病型不明 1 例であった。

### 【考察】

今回の研究結果から、我々が試みた免疫捕捉法と、従来から用いられている競合阻害法の両者を比較した結果、感度は両法とも 100% であり、特異度は、免疫捕捉法では 97.3%、競合阻害法では 96.7% と高い数値であったので、いずれの方法とも GSD II の新生児スクリーニングに使用可能と思われる。また、これまでに報告されている、免疫捕捉法における捕捉時の酵素活性の低下は、患者の発見には影響しないと考えられた。免疫捕捉法は競合阻害法と比較して、捕捉した LGAA の活性を直接測定しており、また、類似酵素を阻害する手順が不要で、手技が簡便である点が優れていると考えている。

しかし、我々が経験している患者は 4 例に過ぎず、遅発型の患者の経験も少なく、今後さらに多くの患者や新生児の検査を行って結論を得たいと考えている。また、ELISA 法による LGAA 蛋白を濾紙血液で測定する方法を確立して、免疫捕

捉法および競合阻害法と合わせてより精度の高いスクリーニング法に発展させたいと考えている。

### III 平成 24 年度：ハイリスクスクリーニングで発見された FD 患者の CKD 重症度に関する研究

#### 【研究の概要】

FD は慢性腎臓病 Chronic Kidney Disease (CKD) の一疾患であり、腎不全を予防するには、本症に似た症状を呈する症例について早い時期にスクリーニングして、早期に治療を開始する必要がある。

CKD の重症度分類は、2012 年に日本腎臓学会が改訂し、より使用し易いものになった。本症が疑われる症状や家族歴が認められるために、FD が否かの検査を依頼されて、本症と診断した患者の CKD staging を新しい分類に従って検討し、若干の成果を得たので報告する。

#### 【対象と研究方法】

全国の病院・クリニックから依頼された FD が疑われる症状や家族歴のある症例 202 名の酵素補充療法開始前の随時尿と血漿を研究対象とすると共に、健常成人 432 名の随時尿および 211 名の血漿を研究対象とした。

【方法】一次スクリーニングは、尿  $\alpha$ -gal A 蛋白を ELISA 法で測定し、尿 globotriaosylceramide (GL-3) をタンデム質量分析計 (MS/MS) で測定した。

この検査で陽性のものは血漿  $\alpha$ -gal A 蛋白測定に加えて  $\alpha$ -gal A 活性を Chamoles 変法で測定した。最終的に FD 患者と診断された症例については、主治医から臨床診断名、治療状況等の報告を受け、これをもとにこれらの症例の CKD の stage 分類を行い検討した。

#### 【研究結果と結語】

ハイリスク症例のスクリーニング成績は、男性

105 名のうち最終結果を得たのは 88 名で、古典型 49 例、心型亜型 7 例、腎型亜型 5 例、正常 27 名であり、女性 97 名のうち最終結果を得たのは 76 名で、古典型 40 例、心型亜型 9 例、腎型亜型 5 例、正常 22 名であった。

男性の FD と診断された 58 症例の 46.6% の症例は、予後が最も良好なグループで、17.2% は最もリスクの高いグループであった。また、予後良好なグループの症例の 63.2% は 29 歳未満であり、若い年齢の者が多く、最もリスクの高い予後不良群ではその 60% が 50 歳以上であった。また、54 例の女性の 68.1% が予後良好なグループであり、11.8% が予後不良のグループであった。従って、FD が疑われる症例はなるべく早くにスクリーニングして遅くとも 30 歳までに検査をして診断するのが良いと思われた。

### 平成 25 年度：濾紙血液を用いたライソゾーム病 (Fabry 病、糖原病 II 型、ムコ多糖 I 型・II 型) の酵素活性測定によるスクリーニング法の検討 特に反応時間について

#### 【研究の概要】

濾紙血液を用いたライソゾーム病の酵素診断における至適条件の設定を目的として大阪市大 小児科を受診した新生児 36 名の濾紙血液、健常成人 12 名の血漿、白血球を対象に類似酵素阻害法、および酵素免疫捕捉法を用いて、1. 至適基質濃度、2. 酵素免疫捕捉法の測定効率、3. 至適反応時間：2~20 時間、4. 防腐剤添加の影響等について検討した

#### 【結論】

その結果、各々のライソゾーム病の酵素活性測定する場合、活性測定反応時間は 37、2 時間~4 時間が最も良く、従来から行われている 37、20 時間の反応時間では正しい測定値が得られない結果であり、反応時間は 2~4 時間の反応が良いと考えられた。

### 【平成 22～25 年度の総括】

これまでの研究では、幾つかのライソゾーム病のスクリーニングにおいて、類似酵素を inhibition して目的とするライソゾーム酵素活性を測定する方法と、ライソゾーム酵素の抗体で目的とする酵素を capture し、混在する類似酵素の影響を除外する方法を、同時に検討した報告は少ない。

本研究の結果によると、inhibition assay 法と immuno-capture enzyme assay 法との精度には大きな差はなく、何れの方法を用いても良いように思われた。しかし、ライソゾーム病はライソゾーム酵素の異常に基づく疾患なのでその診断結果を確認する時は、白血球などの細胞を用いて行う方が良いと思われる。

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E66Q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 Inherit 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)

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

ファブリー病レジストリー

分担研究者：大橋 十也（東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター センター長）

研究要旨

稀少疾患である Fabry 病に対するレジストリーを作成する事で、日本人患者における背景、臨床的特徴、合併症、治療への反応性などを評価する。今回、我々は慈恵医大における Fabry 病患者に対するレジストリーを作成し、横断研究を行った。

研究協力者氏名：

森本 剛（兵庫医科大学 内科学総合診療科教授）

診療録より収集した。前向きについては診療録に  
合わせて以下の項目を設定した。

6ヶ月毎評価

A．研究目的

Fabry病はライソゾーム酵素である ガラク  
トシダーゼAが先天的に欠損または活性低下す  
ることによりおこる稀少疾患である。稀少疾患で  
あるが故にレジストリーを作成し臨床情報を集  
約する事が重要である。世界的には現時点で酵素  
製剤を製造販売している製薬企業主導による大  
きなレジストリーが2つ存在している。しかしな  
がら企業とは独立した形で行われる大規模な臨  
床研究は十分になされていない。今回我々は慈恵  
医大を受診しているFabry病患者のレジストリ  
ーを独自に作成し、その患者背景や臨床的特徴に  
対する横断研究を行った。

・アンケート形式による臨床情報の収集

・血液検査、尿検査、心電図

1年毎評価

・心エコー、頭部MRI

（倫理面への配慮）

レジストリーは専門機関に依頼し作成したも  
のであり、Web サイト上に保管されている。患  
者情報流出防止の観点からも、従来のローカルコ  
ンピューターにおけるデータ保存より優れてい  
る。

B．研究方法

慈恵医大にFabry病の診断のもとで過去に受  
診または現在も受診をしている患者のうち、レジ  
ストリーへの登録の同意が得られた患者のみを  
登録した。

患者情報について、後ろ向きについては過去の

C．研究結果

2012年9月の時点で27名の男性患者、32名の  
女性患者の合計59名が登録された。

それぞれの年齢の中間値は男性が38歳、女性が  
44歳であり有意に男性患者が低年齢であった。  
それぞれのフォローアップ期間の中間値は男性  
で9年、女性で5年であった。

ガラクトシダーゼA酵素活性は男性では

0.73nmol/hr/mg、女性で38.2nmol/hr/mgであり有意差が認められた。

遺伝子異常はprivate mutationが中心であり、男女間での明らかな傾向はみられなかった。

腎機能の評価として、クレアチニン (Cr)、推算糸球体濾過量(eGFR)、尿中蛋白/Cr比を使用した。それぞれ、Crは男性0.83mg/dl、女性0.64mg/dl(P<0.01)、eGFRは男性83.1ml/min/1.73m<sup>2</sup>、女性80.4ml/min/1.73m<sup>2</sup>(P=0.8)、尿中蛋白/Cr比は男性0.09、女性0.054(P=0.06)であった。

心肥大を心エコーで評価した。左室重量係数(LVMI)は男性で121.2g/m<sup>2</sup>、女性で85.7g/m<sup>2</sup>と男性での心肥大の傾向が認められた。各種弁膜症については男女差は認められなかった。

#### D. 考察

この横断研究では日本人ファブリー病患者において、男性患者が女性患者に比べて低年齢であること、酵素活性は男性で有意に低い事、男性は女性よりも心肥大傾向である事が示された。

今回の我々の結果はレジストリー作成に際しての、2012年の9月の時点での横断研究であり非常に限定された結果であった。更に、後ろ向きデータについても欠損が多いことも問題であった。今後は治療への反応性なども含めた評価が必要となり、アンケートや定期的な検査のアラートシステムなどを活用した前向きデータの収集が重要となる。

#### E. 結論

レジストリーによる臨床研究は Fabry 病などの稀少疾患では非常に重要である。

今後は前向きにデータの欠損を最小限にしながらか収集する事が重要である。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他

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

ALD の遺伝子表現型連関

分担研究者：辻 省次 東京大学神経内科 教授

研究要旨

副腎白質ジストロフィー(ALD)は, *ABCD1* を原因遺伝子とし, 多彩な表現型を認めるが, 遺伝子表現型連関は明らかではない. 表現型修飾因子同定のため, まずは, *ABCD1* と相同性の高い *ABCD2*, *ABCD3*, *ABCD4* を候補遺伝子として, 検出された variants と表現型との関連解析を行った. 日本人 ALD 症例の表現型との関連が示唆される variants が同定されたものの, 十分な結果とはいえず, 次に, ペルオキシソームで機能する遺伝子群を表現型修飾因子の候補遺伝子と考え, Exome 解析を行い, 検出された variants と表現型との関連解析を行うこととした. コントロール 369 例での解析が終了し, 今後 ALD 症例の解析も行う予定.

分担研究者氏名：

- ・松川 敬志 東京大学神経内科 大学院生
- ・三井 純 東京大学神経内科 特任助教
- ・石浦 浩之 東京大学神経内科 助教
- ・Budrul Ahsan 東京大学神経内科  
特任研究員
- ・吉村 淳 東京大学大学院新領域創成科学研究科 特任助教
- ・土井 晃一郎 東京大学大学院新領域創成科学研究科・特任講師
- ・後藤 順 東京大学神経内科 准教授
- ・鈴木 康之 岐阜大学医学教育開発センター  
教授
- ・下澤 伸行 岐阜大学生命科学総合研究支援センター 教授
- ・小野寺 理 新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター 教授
- ・西澤 正豊 新潟大学脳研究所神経内科 教授
- ・森下 真一 東京大学大学院新領域創成科学研究科・教授

A . 研究目的

ALD は多彩な臨床病型を呈するが, 遺伝子表現型連関は明らかではない. 予後不良な大脳型 ALD に対しては, 早期の造血幹細胞移植が有効である可能性があり, 大脳型を発症しやすい背景因子を同定すれば, 臨床上有用である. 多彩な臨床病型を規定する遺伝的修飾因子の探索を行うことが目的である.

B . 研究方法

Step1 として, *ABCD1* の機能に影響を与える可能性のある遺伝子群として, *ABCD1* と相同性の高い *ABCD2*, *ABCD3*, *ABCD4* を臨床病型を規定する修飾因子の候補遺伝子と考え, *ABCD2*, *ABCD3*, *ABCD4* の全エキソン, 5' UTR, 3' UTR の配列を PCR にて増幅. *ABCD2* に関しては DNA マイクロアレイを用いて, *ABCD3*, *4* に関しては直接塩基配列決定法で遺伝子の塩基配列を決定し, variants の検出を行った.

Step2 として, 発現産物である adrenoleukodystrophy protein (ALDP) は, ペル

オキシソームで機能することから、他のペルオキシソームで機能する遺伝子群を、臨床病型を規定する修飾因子の候補遺伝子と考え、対象者のエキソーム解析を行い、候補遺伝子内の variants を選択。新規 variants については直接塩基配列法で確認を行った。

これらの候補遺伝子内の variants について、表現型毎の出現頻度に有意な差のある場合、修飾因子としての可能性が指示されると考え、表現型との関連を検討した。

Step1 の対象者は、ALD 症例 75 例(小児大脳型 16 例, 思春期大脳型 8 例, 成人大脳型 11 例, 大脳型への移行例 13 例, 小脳脳幹型 3 例, AMN21 例, Addison 病 1 例, 未発症 2 例), 検出された variants については、日本人コントロール 96 例でも解析を行った。

Step2 の対象者は、ALD 症例 67 例(小児大脳型 13 例, 思春期大脳型 6 例, 成人大脳型 10 例, 大脳型への移行例 12 例, 小脳脳幹型 3 例, AMN19 例, Addison 病 1 例, 未発症 2 例), 日本人コントロール 369 例とした。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従い、所属機関の研究倫理審査委員会の承認を得て実施をした。検体は全て書面による同意を得ており、匿名化の上、解析された。

## C . 研究結果

Step1. *ABCD2* に関しては有意差を持って表現型と相関を示す Variants は認められなかった。

*ABCD3* に関しては成人大脳型 ALD 症例 1 例についてのみ、1 つのアミノ酸置換を伴う新規 Single nucleotide variant (SNV) を同定した。

*ABCD4* においては完全連鎖不平衡にある 5 つの既知の SNP において、コントロールと比較して

AMN で有意に頻度が低かったが ( $p=0.011$ ), フランスにおける ALD の独立した被験者集団では有意差を認めなかった

日本人 ALD 症例の表現型との関連が示唆される variants が同定されたものの、十分な結果とはいえないことから Step2 の解析を行うこととした。

Step2. コントロール 369 例の解析が完了。

ペルオキシソームで機能する遺伝子群で検出された variants の中で、既知の病因変異、Nonsense, frameshift, splice sites mutations, 新規 non-synonymous SNV を有する症例は、コントロール 369 例中、194 例(52.5%)であった。

新規 non-synonymous SNV の中で、Polyphen-2, SIFT, Mutation Taster, LRT, PhyloP の 5 つの SNV 機能予想アルゴリズムの合計点が 4 点以上(5 点が最も機能変化が大きい)の SNV (deleterious SNV) に絞った場合は、コントロール 369 例中、133 例(36.0%)が有していた。

## D . 考察

*ABCD1* と相同性の高い *ABCD2*, *ABCD3*, *ABCD4*, 及びペルオキシソームで機能する遺伝子群において、アミノ酸置換を伴う新規の non-synonymous variants は、多数同定され、coding region の non-synonymous variants は未知のものが依然として存在すると考えられ、網羅的な塩基配列解析は重要と考える。

## E . 結論

今後 ALD 症例における Exome 解析も進め、検出された variants における ALD の各表現型及び Control における頻度の比較 (関連解析) を行う予定である。併せて、ALD 症例 DNA 検体のさらなる集積を行う。

## F . 研究発表

### 1. 論文発表

1) Matsukawa T, Asheuer M, Takahashi Y, et al. Identification of novel SNPs of ABCD1, ABCD2, ABCD3, and ABCD4 genes in patients with X-linked adrenoleukodystrophy (ALD) based on comprehensive resequencing and association studies with ALD phenotypes. *Neurogenetics* 12:41-50, 2011

### 2. 学会発表

1) T. Matsukawa, Y. Takahashi<sup>1</sup>, J. Goto<sup>1</sup>, Y. Suzuki, N. Shimozwa, H. Takano, O. Onodera, M. Nishizawa, S. Tsuji. omprehensive resequencing of PEX5 gene in patients with X-linked adrenoleukodystrophy (ALD) and association studies with the phenotypes of ALD. American Society of Human Genetics, Washington, DC, 2010. 11

2) 松川 敬志, 高橋祐二, 後藤順, 鈴木康之, 下澤伸行, 高野弘基, 小野寺理, 西澤正豊, 辻省次. 副腎白質ジストロフィー患者における PEX5 遺伝子の全塩基配列解析及び表現型における関連解析第. 52 回日本神経学会学術大会, 名古屋, 2011. 5

3) T. Matsukawa, Y. Takahashi<sup>1</sup>, J. Goto<sup>1</sup>, Y. Suzuki, N. Shimozawa, H. Takano, O. Onodera, M. Nishizawa, S. Tsuji. omprehensive resequencing of PEX5, PEX13 and PEX14 gene in patients with X-linked adrenoleukodystrophy (ALD) and association studies with the phenotypes of ALD. International Congress of Human Genetics, Montreal, 2011.10

## 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

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

GBA 遺伝子とパーキンソン病との関連

分担研究者 辻 省次 東京大学神経内科 教授

研究要旨

Glucocerebrosidase (GBA) 遺伝子のヘテロ接合性病原性変異はパーキンソン病患者と関連する。

分担研究者氏名：

松川 敬志 東京大学神経内科 大学院生

三井 純 東京大学神経内科 特任助教

後藤 順 東京大学神経内科 准教授

辻 省次 東京大学神経内科 教授

戸田 達史 神戸大学神経内科 教授

Ellen Sidransky. Senior Investigator. Section on Molecular Neurogenetics, Medical Genetics Branch, NHGRI, National Institutes of Health.

石田 直理雄 独立行政法人産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 上席研究員

A. 研究目的

Gaucher 病の原因遺伝子である GBA 遺伝子のヘテロ接合性病原性変異とパーキンソン病 (PD) の関連について主に遺伝学的に検討する。

B. 研究方法

1. PD患者534例, 健常者544例を対象にGBA 遺伝子の全エクソンおよびエクソン・イントロン境界域のresequencingを行った。

2. 海外との多施設共同によるGBA遺伝子の関連解析を行った。合計でPD 5,691例, 健常者 4,898例の規模で, GBAの病原性変異の頻度について検討した。

3. ターゲット領域に対する大規模関連解析を可能にするため, DNAサンプルを6サンプル分プールしたうえでGBA遺伝子領域 (6.5 kb) をPCRして, 次世代シーケンサー (SOLiDシステム) で配列解析を行った。データの特徴を分析し, 偽陽性を軽減するための方法を検討した。

4. PD患者96例において, 他のライソゾーム病遺伝子の病原性変異がないかスクリーニングしたところ, GLA遺伝子のE66Q変異のみが検出された。そこでPD患者260アレル, 健常者399アレルに規模を拡大して関連を検討した。

5. ヒトの変異型GBA遺伝子を過剰発現するショウジョウバエを作成し, 表現型などの分析を行った。

(倫理面への配慮)

検体は全て書面による同意を得ており, 匿名化の上, 解析された。

C. 研究結果

1. PD患者534例中50例 (9.4%), 健常者544例中2例 (0.37%) に病原性変異をヘテロ接合性に認めた。オッズ比は28倍で統計学的に有意であった。PD患者における病原性変異のキャリアー群は非キャリアー群と比べて発症年齢



が有意に若年であった。

2. 人種を問わず, GBA 病原性変異は PD 発症のリスクになることが確認された。PD 患者における病原性変異のキャリアー群は非キャリアー群と比べて発症年齢が有意に若年であった。

3. 6 サンプル分の DNA プーリングにおいて全ての変異 (12 アレル分の 1 以上の変異) を検出するように変異コール条件を設定すると, 真の変異 99 個に対して, 偽陽性変異 503 個が検出された,

サイクル数依存性エラー, 配列依存的エラー, アレルバイアスなどについて検討し, 偽陽性を軽減するためのパラメーターを再設定したところ, 真の変異 99 個に対して, 偽陽性変異 27 個まで軽減することができた。

4. PD 患者 260 アレル中 4 アレル (1.5%), 健常者 399 アレル中 2 アレル (0.5%) に GLA, E66Q 変異を認めた。頻度が低いため,  $p=0.25$  と有意差は得られなかったが, 患者群に多い傾向を認めた。

5. ヒトの変異型 GBA 遺伝子を過剰発現するショウジョウバエは, 眼に形態異常が出現した。小胞体ストレスマーカーが上昇した。変異型 GBA に対してシャペロン作用を持つ Ambroxol を投与したところ, ショウジョウバエの眼における形態異常が軽減し, 小胞体ストレスマーカーが軽減した。

#### D. 考察

Gaucher病の原因遺伝子であるGBA遺伝子が神経変性疾患PDと関連することが示されたことは, 両者の病因を解明する上で非常に重要な手がかりになると期待される。

遺伝学的には, 従来の多型によるゲノムワイ

ド関連解析では検出することが難しかった common disease - multiple rare variantsモデルの実例となった。

#### E. 結論

PD発症の遺伝的病因の一つがGBA遺伝子のヘテロ接合性病原性変異であることが示された。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Mitsui J, Mizuta I, Toyoda A, et al. Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease. *Arch Neurol.* 2009;66:571-6.
- Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2009;361:1651-61.
- Mitsui J, Fukuda Y, Azuma K, et al. Multiplexed resequencing analysis to identify rare variants in pooled DNA with barcode indexing using next-generation sequencer. *J Hum Genet* 2010;55:448-55.
- Suzuki T, Shimoda M, Ito K, et al. Expression of human Gaucher disease gene GBA generates neurodevelopmental defects and ER stress in Drosophila eye. *PLoS One* 2013;8:e69147.

##### 2. 学会発表

- 三井 純, 高橋 祐二, 伊達 英俊, 岩田 淳,

- 後藤 順,辻 省次.パーキンソニズムを呈する疾患患者における Glucocerebrosidase (GBA)遺伝子の解析.第48回神経学会総会,名古屋,2007年5月.
- ・三井 純,高橋 祐二,水田 依久子,富山 弘幸,吉野 浩代,後藤 順,服部 信孝,戸田 達史,辻 省次.パーキンソン病の遺伝子解析.第9回大阪神経治療研究会,大阪,2008年4月.
  - ・三井 純,水田 依久子,豊田 敦,高橋 祐二,後藤 順,福田 陽子,伊達 英俊,岩田 淳,戸田 達史,辻 省次.Gaucher病の原因変異は Parkinson 病の遺伝的危険因子である.第13回ライソゾーム病研究会,東京,2008年11月.
  - ・三井 純. Mutations for Gaucher disease confer a high susceptibility to Parkinson disease. 東京大学グローバルCOE「疾患のケミカルバイオロジー教育研究拠点」第1回リトリート及び第1回国際シンポジウム,千葉,2009年2月.
  - ・三井 純,東 きょう,戸崎 浩和,石浦 浩之,高橋 祐二,後藤 順,辻 省次. Multiplexed resequencing analysis to identify rare variants in pooled DNA of barcode-indexed DNAs. 第8回国際ゲノム会議,東京,2009年6月.
  - ・三井 純,辻 省次. Common disease-multiple rare variant 仮説に基づく疾患関連遺伝子研究の成果と課題. 第54回人類遺伝学会,ランチョンセミナー,東京,2009年9月.
  - ・三井 純,福田 陽子,東 きょう,戸崎 浩和,石浦 浩之,高橋 祐二,後藤 順,辻 省次. Pooled DNA を用いたバーコードによる multiplexed resequencing の試み. 第54回人類遺伝学会,東京,2009年9月.
  - ・三井 純,福田 陽子,東 きょう,戸崎 浩和,石浦 浩之,高橋 祐二,後藤 順,辻 省次. Pooled DNA を用いたバーコードによる multiplexed resequencing. 第4回バイオインフォマティクス研究者と医学研究者の交流会,柏,2009年11月.
  - ・三井 純. 孤発性パーキンソン病の遺伝子: common disease-multiple rare variants. 第51回日本神経学会総会,シンポジウム. 東京,2010年5月.
  - ・三井 純. 孤発性疾患の研究 ~パーキンソン病~. 第52回日本神経学会総会,シンポジウム. 名古屋,2011年5月.
  - ・三井 純,土井 晃一郎,石浦 浩之,高橋 祐二,後藤 順,森下 真一,辻 省次. 疾患と関連する稀で多様な変異の検出を目的とした pooled DNA 解析. 第52回神経学会総会,名古屋,2011年5月.
  - ・三井 純. パーキンソン病の遺伝因子について. 第16回パーキンソン病フォーラム. 京都,2011年7月.
  - ・三井 純. パーキンソン病における GLA 遺伝子解析. 第7回日本ファブリー病フォーラム. 東京,2011年7月.
  - ・三井 純. ファブリー病の診断における問題点~E66Qに関連して~. 第8回日本ファブリー病フォーラム,東京,2012年7月22日.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合研究報告書

ライソゾーム病の病態・治療に関する基礎的研究 特に iPS 細胞を用いての研究

研究代表者：衛藤義勝（東京慈恵会医科大学名誉教授）

研究要旨

ライソゾーム病の90%以上は中枢神経障害を来す。中枢神経障害の病態を明らかにする為に iPS 細胞を用いての基礎研究を行うと同時に、中枢神経障害の治療として酵素を直接ムコ多糖症 II 型のマウス脳室内に投与することにより中枢神経系への治療効果を明らかにした。又ポンペ病は酸性 グルコシダーゼの酵素欠損により発症し、心筋、骨格筋を障害するが、今回ヒト並びにマウスポンペ病より iPS 細胞を作成し、骨格筋に分化させ病態並びに治療研究を目的に iPS 細胞を作成した。又ヒトのファブリ病、ポンペ病、ゴーシェ病患者よりレトロウイルス或いはセンダイウイルスベクターを用いて山中3因子或いは4因子を導入し、iPS 細胞を作成し、生化学的並びに形態的な手法により病態解析を行った。ポンペ病の iPS 細胞は、筋細胞の電顕所見でも筋細胞内にグリコーゲンの蓄積を確認した。又治療研究ではポンペ病 iPS 細胞を作成し、生化学的並びに電顕による超微形態分析並びにポンペ病に対する酵素補充療法による病態解析を行った。ヒトファブリ病 iPS 細胞においても同様にすでに iPS 細胞で著明な脂質の蓄積が認められた。

共同研究者：

樋口 孝<sup>1)</sup>、河越しほ<sup>1)</sup>、小林博司<sup>2,3)</sup>、井田博幸<sup>3)</sup>、大橋十也<sup>2,3)</sup>

研究協力者：

高村歩美<sup>4)</sup>、藤崎美和<sup>4)</sup>、大樂武範<sup>4)</sup>、岩本武夫<sup>5)</sup>

1. 東京慈恵会医科大学遺伝病研究講座
2. 東京慈恵会医科大学遺伝子治療部
3. 東京慈恵会医科大学小児科講座
4. (財)脳神経疾患研究所先端医療研究センター
5. 東京慈恵会医科大学共用研究施設

A. 研究目的

(1) ムコ多糖症 II 型の中枢神経障害を酵素を髄注して治療効果を検討する。iduronate 2-sulfatase ノックアウト MPS II 型モデルマウス (IDS-KO mice) を用いて、その脳室内に IDS を投与し、IDS 脳室内酵素補充療法の効果を検討した。

(2) ヒト並びにマウスポンペ、ファブリ病、ゴーシェ病から iPS 細胞を作成し、病態を明らかにする。

A. ポンペ病よりの iPS 細胞の樹立と骨格筋細胞への分化:形態的变化:Pompe 病モデルマウスから iPS 細胞を樹立し、骨格筋細胞への分化を試みたので報告する。iPS 細胞、分化した骨格筋細胞の形態的变化を検討した。

(B) ゴーシェ病及 Patients-Specific Induced Pluripotent Stem Cells as a Model for Lysosomal Storage Diseases

ゴーシェ病はライソゾームの代表的疾患であり、細胞内にグルコセレブロシドが大量に蓄積する。細胞内でのこれら蓄積物質の蓄積による病態の機序並びに治療の効果を検討するために、ゴーシェ病の病態解析並びに治療効果の解析を目指し患者皮膚線維

芽細胞由来 iPS 細胞をレトロウイルス或いはセンダイウイルスベクターを用いての iPS 細胞樹立を試みた。

(C) ファブリー病は  $\alpha$ -galactosidase 遺伝子の欠損によりその基質である GL-3 が皮膚、腎臓、心臓などの全身の細胞に蓄積する。主な症状として腎障害や四肢末端痛などがあり、特に心臓に蓄積すると不整脈、心肥大などを呈する。iPS 細胞は皮膚細胞などに初期化因子を導入することにより樹立された、人工多能性幹細胞である。我々はファブリー病の心筋病態を解析することを目的として、センダイウイルスベクターを用いてファブリー病患者皮膚線維芽細胞由来 iPS 様細胞を樹立した。

## B. 研究方法

(1) ムコ多糖症 II 型の中樞神経障害を酵素を髄注して治療効果に関する研究

ムコ多糖症 II 型 (MPSII) ハンター症候群は、先天性代謝異常症の一つで iduronate 2-sulfatase (IDS) の機能異常により引き起こされる X 染色体連鎖劣性遺伝のライソゾーム病である。IDS の活性低下によりその基質であるグリコサミノグリカン類 (GAGs) であるデルマトン硫酸 (DS) とヘパラン硫酸 (HS) が中樞神経系を含む様々な組織に異常蓄積する。臨床症状は特徴的な顔貌、肝脾の腫大、骨・関節障害、中樞神経障害などである。治療法は IDS 酵素補充療法 (ERT) や造血幹細胞移植 (HSCT) がある。一般的に血液中に投与された酵素製剤は、血液脳関門 (BBB) によりその脳内移行が妨げられる。よって ERT による治療法は脳障害の治療は難しいことから、IDS を脳室内に直接投与することにより BBB を介さず脳内に酵素を取り込ませることにより中樞神経障害の治療の可能性を検討した。

雄 IDS-KO mice を用いた。IDS 酵素には、CHO 細胞で発現・精製された遺伝子組換えヒト iduronate 2-sulfatase を用いた。マウスの表現系の解析は実験動物用 X 線 CT 撮影装置を用いて骨格異常を解析した。ヒト MPSII 型ハンター症

候群患者由来皮膚線維芽細胞を用いて細胞への取り込み実験を行った。21 週齢 IDS-KO mice 右脳室内に 20  $\mu$ g の IDS を 3 週間おきに 4 回連続投与し脳室内酵素補充療法の有効性を生化学的、病理組織学的に検討した

(2) ヒト iPS 細胞の作成はヒト初期化因子 (*SOX2*, *OCT3/4*, *KLF4*, *c-MYC*) を組み込んだ pMXs レトロウイルスベクターを皮膚細胞に感染させることによって iPS 様細胞を樹立した。iPS 様細胞は透過型電子顕微鏡 (TEM) をもちいて細胞の内部構造を解析した。又サイコシンなどの糖脂質の解析は MS 分析で行った。

## 【結果&考察】

1) 骨症状の検討：iduronate 2-sulfatase ノックアウト MPSII 型モデルマウス (IDS-KO mice) は鼻が低い独特の顔貌をしていた。X 線 CT 撮影の結果、鼻部や眼球周囲の骨形成異常等が特徴的であり、臨床的な鑑別に有効である。2) IDS の細胞内取り込みに関して：時間依存的にヒト MPSII 細胞において IDS が効率良く取り込まれたことから、細胞内への酵素補充が可能と考えられた。3) 脳室内酵素補充療法に関して：マウス大脳組織内 IDS 酵素活性が正常 control マウス群と比較して数倍、IDS-KO mice 生食投与群と比較して数百～一千倍上昇した。小脳の IDS 酵素活性は正常 control マウスと同程度まで上昇した。IDS 酵素活性は 3 週間毎の投与により脳組織でその活性を高く維持出来るものと考えられた。GAGs の脳組織蓄積程度、Lapm2 タンパク質などのライソゾームの種々のマーカー分子を含めた脳細胞内動態に関して生化学的、組織学的な検討を加えた。

## (2) ヒト、マウスポンペ病よりの iPS 細胞の樹立と骨格筋細胞への分化

(1) Pompe 病は糖原病 型とも呼ばれるライソゾーム病のひとつであり、酸性 グルコシダーゼ (acid-  $\alpha$ -glucosidase: GAA) の活性が低下することにより、グリコーゲンが全身に蓄積

して様々な症状を引き起こす。線維芽細胞などの体細胞に初期化因子を導入することで作成可能な多能性幹細胞である iPS 細胞に着目し、iPS 細胞から分化誘導した筋肉系細胞を用いた細胞移植療法の開発を目指し、骨格筋細胞や心筋細胞への分化に関する基礎的研究を行っている。今回は Pompe 病モデルマウスから iPS 細胞を樹立し、骨格筋細胞への分化を試みた。ポンペ病では乳児型(心臓型)も遅発型(筋肉型)も iPS 様細胞が樹立した。ポンペ病 iPS 細胞ではマイオザイムを 10-1000ug/ml medium の濃度で加え細胞内ライソゾームに蓄積している封入体の減少程度を電子顕微鏡下で観察した。電顕上は乳児型ポンペ病で遅発型に比較してかなり多く蓄積し、マイオザイム 1000ug/ml をメジウム内に投与して完全に蓄積物質の消失が見られた。ゴーシェ病 II 型 iPS 様細胞の細胞質には大きな空胞が確認でき又蓄積物質であるサイコシンが tandem MS で正常の 5 倍程度増加していた。ので報告する。

(2) ゴーシェ病では II 型(神経型)の iPS 様細胞は樹立できたが、I 型(非神経型)の iPS 様細胞は作成出来なかった。ゴーシェ病 II 型 iPS 様細胞の細胞質には大きな空胞が確認でき又蓄積物質であるサイコシンが tandem MS で正常の 5 倍程度増加していた。ので報告する。TEM 解析により、ゴーシェ病 II 型 iPS 様細胞の細胞質には大きな空胞が確認できた。

(3) ヒトファブリ病 iPS 細胞では既に電顕上特有の封入体が認められ、ファブリ病に特異的であつた。

## 【方法・結果】

10 週齢の Pompe 病モデルマウスの尾から線維芽細胞を採取し、初期化因子である Klf4、Oct3/4、Sox2 の 3 因子を導入し、約 1 ヶ月培養することで iPS 様細胞コロニーが得られた。それらの細胞を、RT-PCR 法にて解析したところ、未分化マーカー分子の発現が認められた。また、未分化の指標であるアルカリホスファターゼ活性染色、及び胎児性抗原である SSEA-1 について免疫染色を行ったところ、いずれも陽性細胞が

確認できた。樹立した Pompe 病由来 iPS 細胞を用いて作成したテラトーマを 3 胚葉由来のマーカー分子の発現について免疫染色で解析したところ、陽性領域が認められた。また、この Pompe-iPS 細胞で GAA 活性の顕著な低下が認められ、酸性ホスファターゼ活性染色についても陽性細胞が確認できた。次に、樹立した Pompe-iPS 細胞から骨格筋様細胞への分化誘導を行った。iPS 細胞から Embryoid Body (EB) を形成させ、その EB をマトリゲルでコーティングしたプレートにて培養を行った結果、紡錘状の細胞が認められ、更に培養を続けると自発的収縮が確認できた。また、骨格筋のマーカータンパク質であるミオシン重鎖について免疫染色を行ったところ、陽性細胞が認められた。

## C. 考察・展望

これらの結果より、Pompe 病モデルマウスの線維芽細胞に 3 つの初期化因子を導入することで、Pompe 病の疾患の特徴を維持した Pompe-iPS 細胞が樹立できた。また、マトリゲルを用いた分化誘導法で得られた細胞は、形態的特徴やマーカー分子の発現から骨格筋細胞であると考えられる。今後はこの分化誘導法で得られる骨格筋様細胞の更なる特徴づけを進めると同時に、移植に利用する骨格筋前駆細胞の単離を試みる予定である。又ポンペ病細胞へのマイオザイムによる治療研究でも高濃度の酵素補充が必要であることが証明された。

ゴーシェ病、ファブリ病 iPS 細胞では特異的な電顕上特異的封入体を認め、又ゴーシェ病ではサイコシンの蓄積を認め、治療研究に応用できることを証明した。今後ライソゾーム病に対する iPS 細胞での研究は種々の細胞に分化し、治療効果を明らかにする意味で重要である。

健康危険情報  
該当なし

## D. 研究発表

### 1) 論文

1. Eto Y.: Single gene disorder: recent advances of

- research. *Nippon Rinsho*. 2010 Aug; 68 Suppl 8:117-28. Japanese.
- Meng XL, Shen JS, Kawagoe S, Ohashi T, Brady RO, Eto Y. : Induced pluripotent stem cells derived from mouse models of lysosomal storage disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Apr 27;107(17):7886-91.
  - Kobayashi H, Shimada Y, Ikegami M, Kawai T, Sakurai K, Urashima T, Ijima M, Fujiwara M, Kaneshiro E, Ohashi T, Eto Y, Ishigaki K, Osawa M, Kyosen SO, Ida H. : Prognostic factors for the late onset Pompe disease with enzyme replacement therapy: from our experience of 4 cases including an autopsy case. *Mol Genet Metab*. 2010 May;100(1):14-9. Epub 2010 Feb 4.
  - Kyosen SO, Iizuka S, Kobayashi H, Kimura T, Fukuda T, Shen J, Shimada Y, Ida H, Eto Y, Ohashi T. : Neonatal gene transfer using lentiviral vector for murine Pompe disease: long-term expression and glycogen reduction. *Gene Ther*. 2010 Apr;17(4):521-30. Epub 2009 Dec 24.
  - Sakurai Y, Suzuki R, Yoshida R, Kojima H, Watanabe M, Manome Y, Ohashi T, Eto Y, Moriyama H. : Inner ear pathology of alpha-galactosidase A deficient mice, a model of Fabry disease. *Auris Nasus Larynx*. 2010 Jun;37(3):274-80. Epub 2009 Nov 8.
  - Kobayashi H, Takahashi-Fujigasaki J, Fukuda T, Saurai K, Shimada Y, Nomura K, Ariga M, Ohashi T, Eto Y, Otomo T, Sakai N, Ida H: Pathology of the first autopsy case diagnosed as mucopolysaccharidosis type III alpha/beta suggesting autophagocytic dysfunction. *Mol Genet Metab*. 102 (2011) 170-175
  - Meng XL, Shen JS, Kawagoe S, Ohashi T, Brady RO, Eto Y. : Induced pluripotent stem cells derived from mouse models of lysosomal storage disorders. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010 Apr 27;107(17):7886-91. Epub 2010 Apr 12.
  - Iida T, Shiba H, Misawa T, Ohashi T, Eto Y, Yanaga K : Immunogene therapy against colon cancer metastasis using an adenovirus vector expressing CD40 ligand. *Surgery*. 2010 Nov; 148(5): 925-35. Epub 2010 Apr 7.
  - Nagashima T, Kobayashi M, Teramoto S, Okano E, Yokoi T, Eto Y : Extremely low-birthweight neonate with prenatal *Campylobacter* infection. *Pediatr Int*. 2009 Oct; 51(5):746-8.
  - Okuyama T, Tanaka A, Suzuki Y, Ida H, Tanaka T, Cox GF, Eto Y, Orii T : Japan Elaprase Treatment (JET) study: idursulfase enzyme replacement therapy in adult patients with attenuated Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis II, MPS II). *Mol Genet Metab*. 2010 Jan; 99(1):18-25. Epub .
  - Kawagoe S, Higuchi T, Meng XL, Shimada Y, Shimizu H, Hirayama R, Fukuda T, Chang H, Nakahata T, Fukada S, Ida H, Kobayashi H, Ohashi T, Eto Y. : Generation of induced pluripotent stem (iPS) cells derived from a murine model of Pompe disease and differentiation of Pompe-iPS cells into skeletal muscle cells. *Mol Genet Metab*. 2011 Sep-Oct; 104(123-8). Epub 2011 Jun 2.
  - Yokoi T, Kobayashi H, Shimada Y, Eto Y, Ishige N, Kitagawa T, Otsu M, Nakauchi H, Ida H, Ohashi T : Minimum requirement of donor cells to reduce the glycolipid storage following bone marrow transplantation in a murine model of Fabry disease. *J Gene Med*. 2011 May;13(5):262-8
  - Ohashi T, Iizuka S, Shimada Y, Eto Y, Ida H, Hachimura S, Kobayashi H : Oral administration of recombinant human acid  $\alpha$ -glucosidase reduces specific antibody formation against enzyme in mouse. *Mol Genet Metab*. 2011 May; 103(1):98-100. Epub 2011 Jan 27.
  - Shimada Y, Nishida H, Nishiyama Y,

- Kobayashi H, Higuchi T, Eto Y, Ida H, Ohashi T. : Proteasome inhibitors improve the function of mutant lysosomal  $\alpha$ -glucosidase in fibroblasts from Pompe disease patient carrying c.546G>T mutation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 Oct 18. [Epub ahead of print]
15. Shimada Y, Kobayashi H, Kawagoe S, Aoki K, Kaneshiro E, Shimizu H, Eto Y, Ida H, Ohashi T. : Endoplasmic reticulum stress induces autophagy through activation of p38 MAPK in fibroblasts from Pompe disease patients carrying c.546G>T mutation. *Mol Genet Metab*. 2011 Sep 14. [Epub ahead of print]
  16. Higuchi T, Shimizu H, Fukuda T, Kawagoe S, Matsumoto J, Shimada Y, Kobayashi H, Ida H, Ohashi T, Morimoto H, Hirato T, Nishino K, Eto Y. : Enzyme replacement therapy (ERT) procedure for mucopolysaccharidosis type II (MPS II) by intraventricular administration (IVA) in murine MPS II. *Mol Genet Metab*. 2012
  17. Kobayashi M, Ohashi T, Fukuda T, Yanagisawa T, Inomata T, Nagaoka T, et al. No accumulation of globotriaosylceramide in the heart of a patient with the E66Q mutation in the  $\alpha$ -Galactosidase A gene. *Mol Genet Metab*. 2012; 107: 711-715.
  18. Sato Y, Fujiwara M, Kobayashi H, Ida H. Massive Accumulation of glycosaminoglycans in the aortic valve of a patient with Hunter syndrome during enzyme replacement therapy. *Pediatric Cardiology* (in press)
  19. Ohashi T, Iizuka S, Shimada Y, Higuchi T, Eto Y, Ida H, et al. Administration of anti-CD3 antibodies modulates the immune response to an infusion of  $\alpha$ -glucosidase in mice. *Mol Ther* 2012;20:1924-1931.
  20. Nishiyama Y, Shimada Y, Yokoi T, Kobayashi H, Higuchi T, Eto Y, (Ohashi T) et al. Akt inactivation induces endoplasmic reticulum stress-independent autophagy in fibroblasts from patients with Pompe disease. *Mol Genet Metab* 2012;107:490-495.1)
  21. Takamura A, Sakai N, Shinpo M, Noguchi A, Takahashi T, Matsuda S, Yamamoto M, Narita A, Ohno K, Ohashi T, Ida H, Eto Y. : The useful preliminary diagnosis of Niemann-Pick disease type C by filipin test in blood smear. *Mol Genet Metab*. 2013 Nov;110(3):401-4. Epub 2013 Aug 17.
  22. Takenori D, Takeo I, Minami M, Masahiro E, Toya O, Yoshikatu E. : A practical fluorometric assay method to measure lysosomal acid lipase activity in dried blood spots for the screening of cholesteryl ester storage disease and Wolman disease. *Mol Genet Metab*. Available online 16 November 2013
  23. Kawagoe S, Higuchi T, Otaka M, Shimada Y, Kobayashi H, Ida H, Ohashi T, Okano HJ, Nakanishi M, Eto Y. Morphological features of iPS cells generated from Fabry disease skin fibroblasts using Sendai virus vector (SeVdp). *Mol Genet Metab*. 2013 Aug;109(4):386-9.
  24. Sato T, Ikeda M, Yotsumoto S, Shimada Y, Higuchi T, Kobayashi H, Fukuda T, Ohashi T, Suda T, Ohteki T. Novel interferon-based pre-transplantation conditioning in the treatment of a congenital metabolic disorder. *Blood*. 2013;121(16):3267-73.

25. Y. Sato, M. Fujiwara, H. Kobayashi, H. Ida: Massive Accumulation of Glycosaminoglycans in the Aortic Valve of a Patient With Hunter Syndrome During Enzyme Replacement Therapy. *Pediatric Cardiology* 2013;DOI10.1007/s00246-013-0653-0
26. Akiyama K, Shimada Y, Higuchi T, Ohtsu M, Nakauchi H, Kobayashi H, Fukuda T, Ida H, Eto Y, Crawford BE, Brown JR, Ohashi T. *Mol Genet Metab.* 2013 in press
27. J. Ito, T. Saito, C. Numakura, A. Iwaba, S. Sugahara, R. Ishii, C. Sato, H. Haga, K. Okumoto, Y. Nishise, H. Watanabe, H. Ida, K. Hayasaka, H. Togashi, S. Kawata, Y. Ueno: A Case of Adult Type1 Gaucher Disease Complicated by Temporal Intestinal Hemorrhage. *Case Rep Gastroenterol* 2013;7:340-346
- 2) 総説・著書
1. 衛藤義勝:ライソゾーム病の歴史、ライソゾーム病の機能と取り組み機序『ライソゾーム病 - 最新の病態, 診断, 治療の進歩 - 』2-9, 診断と治療社, 2011.
  2. 衛藤義勝:治療の概説『ライソゾーム病 - 最新の病態, 診断, 治療の進歩 - 』83-84, 診断と治療社, 2011.
  3. 衛藤義勝:ポンペ病『ライソゾーム病 - 最新の病態, 診断, 治療の進歩 - 』239-249, 診断と治療社, 2011.
  4. 衛藤義勝:最先端医療の進歩 - 臓器移植・再生医療・遺伝子治療, 小児科診療. 診断と治療社, 2012(75)1, p.9
  5. 衛藤義勝:拡大する酵素補充療法の適応疾患, 日本医師会雑誌第 140 巻第 6 号 1272-1274, 2011.9.
  6. 衛藤義勝:先天代謝異常症における iPS 細胞技術の応用, 医学のあゆみ, 2011(239)14, 1359-1363.
7. 衛藤義勝:マルチプルスルファターゼ欠損症, ムコ多糖症 UPDATE, E・N MEDIX, 154-158, 2011.
  8. 所謂ムコリピドーシスの鑑別, ムコ多糖症 UPDATE, E・N MEDIX, 182-183, 2011.
  9. 衛藤義勝:最先端医療の進歩 - 臓器移植・再生医療・遺伝子治療, 小児科診療. 診断と治療社, 2012(75)1, p.9
- 2) 学会発表
1. 小林 博司、飯塚 佐代子、有賀 賢典、嶋田 洋太、井田 博幸、衛藤 義勝、大橋 十也: レンチウイルスベクターシステムを用いたクラッペ病の遺伝子治療 (ポスター) 日本小児科学会 2010.4.盛岡
  2. 樋口 孝、清水 寛美、河越 しほ、福田 隆浩、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、平戸 徹、西野 勝哉、衛藤 義勝: MPS II 型 Knockout マウスでの脳室内酵素治療に関する研究 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
  3. 有賀 賢典、小林 博司、飯塚 佐代子、金城 栄子、清水 寛美、衛藤 義勝、大橋 十也、井田 博幸: 新生児 MPS VII マウスへの遺伝子治療におけるレンチウイルスベクターの長期発現 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
  4. 大橋 十也、飯塚 佐代子、衛藤 義勝、嶋田 洋太、井田 博幸、小林 博司: 抗 CD3 抗体によるポンペ病酵素補充療法での酵素製剤に対する免疫寛容導入 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
  5. 嶋田 洋太、西山 由梨佳、小林 博司、衛藤 義勝、井田 博幸、大橋 十也: ポンペ病細胞におけるオートファジー活性化の分子機序 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
  6. 河越 しほ、孟 興麗、嶋田 洋太、樋口 孝、清水 寛美、福田 隆浩、井田 博幸、小林



- 博司、大橋 十也、衛藤 義勝: Pompe 病モデルマウスからの iPS 細胞の樹立と骨格筋細胞への分化誘導 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
7. 小林 正久、大橋 十也、井田 博幸、衛藤 義勝:日本人 Fabry 病家系の遺伝子変異についての研究 遺伝子変異と臨床病型について 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
  8. 横井 貴之、小林 博司、衛藤 義勝、石毛 信之、北川 照男、大津 真、中内 啓光、大橋 十也、井田 博幸 : ファブリー病モデルマウスに対する骨髄移植におけるキメリズムの決定 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
  9. 小林 博司、飯塚 佐代子、福田 隆裕、岩本 武夫、有賀 賢典、嶋田 洋太、衛藤 義勝、井田 博幸、大橋 十也: レンチウイルスシステムを用いたクラッペ病モデルマウスに対する新生児遺伝子治療 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
  10. 清水 寛美、嶋田 洋太、若林 太一、小林 博司、大橋 十也、井田 博幸、川井 充、衛藤 義勝: 濾紙血を用いた Pompe 病スクリーニング法の有用性と問題点 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
  11. 河越 しほ、樋口 孝、河合 利尚、孟 興麗、嶋田 洋太、清水 寛美、福田 隆浩、張 璽、中畑 龍俊、深田 宗一朗、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、衛藤 義勝 : Pompe病モデルマウス由来iPS細胞から分化誘導した骨格筋細胞の形態学的解析, 第16回日本ライソゾーム病研究会, 2011.9.30, 東京
  12. 樋口 孝、清水 寛美、福田 隆浩、河越 しほ、松本 朱里、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、衛藤 義勝 : ハンター病モデルマウスにおける脳室内酵素補充療法の治療研究, 第16回日本ライソゾーム病研究会, 2011.9.30, 東京
  13. 河越 しほ、樋口 孝、河合 利尚、孟 興麗、嶋田 洋太、清水 寛美、福田 隆浩、張 璽、中畑 龍俊、深田 宗一朗、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、衛藤 義勝 : Pompe病モデルマウス由来iPS細胞から分化誘導した骨格筋細胞の形態学的解析, 第16回日本ライソゾーム病研究会, 2011.9.30, 東京
  14. 樋口 孝、清水 寛美、福田 隆浩、河越 しほ、松本 朱里、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、衛藤 義勝 : ハンター病モデルマウスにおける脳室内酵素補充療法の治療研究, 第16回日本ライソゾーム病研究会, 2011.9.30, 東京
  15. Eto Y : Novel Strategies of the Treatment for Lysosomal Storage Diseases. International Conference on Rare Diseases and Orphan Drugs, 2012. 2.5, 東京
  16. Eto Y: Japanese Experiences in the Enzyme Replacement Therapy with, Leplagal for Fabry Disease , Russian Pediatric Society, Moscow, 2012.2.25, ロシア
  17. Eto Y: Novel Strategies of the Treatment for Genetic Diseases, Asian society of LSD & Asian Inherited Metabolic disease, 2012.4.3, 韓国
  18. Eto Y: Novel Strategies of the Treatment for Genetic Diseases, Asian society of pediatric research, 2012.5.18-20, 韓国
  19. Eto Y: Mucopolysaccharidosis a diagnostic challenge to pediatricians? The Center of Excellence Program for Mucopolysaccharidoses. 2012,6. 台湾
  20. 衛藤 義勝 : Approach to the child with suspected inborn error of metabolism, Asian-Pacific Congress of Pediatric, 2012.9.10-13, マレーシア
  21. Eto Y : Novel strategies of treatment of lysosomal storage diseases, 第 4 回国際ライソゾーム病フォーラム, 2012.10.4, 東京
  22. Ariga M, Kobayahi H, Shimada Y, Fukuda

- T, Iizuka S, Kaneshiro E, Ida H, Eto Y, Ohashi T : Neonatal gene therapy of MPS VII mice by lentiviral vector, 第4回国際ライソゾーム病フォーラム, 2012.10.5, 東京
- 23.Sato Y, Saito R, Kobayashi H, Fujiwara M, Ohashi T, Ida H, Eto Y : Massive accumulation of glycosaminoglycans in the aortic valve of a patient with Hunter syndrome during enzyme replacement therapy, 第4回国際ライソゾーム病フォーラム, 2012.10.6, 東京
- 24.Kitagawa T, Suzuki K, Ishige N, Fujikawa K, Ohashi T, Eto Y:CKD severity staging in Fabry patients detected by high risk screening, 第4回国際ライソゾーム病フォーラム, 2012.10.6, 東京
25. Eto Y: Clinical Application of iPS technology for LSD research, European Society of Gene Therapy, Versailles, 2012.10.27-31, フランス
- 26.衛藤義勝: 遺伝病治療最近の進歩-特に中枢神経系の治療を目指して、久留米大学小児科芳野教授退任記念講演、2012.3.24, 福岡
- 27.Yoshikatsu Eto, Toya Ohashi:The fabry Outcome Survey (FOS):Overview of the current status and future developments , 第54回日本先天代謝異常学会, 2012.11.15, 岐阜
- 28.衛藤義勝、大樂武範、若林太一、井田博幸、萩野谷和裕、山本真也、成田 綾、大野耕策:若手型ニーマンピックC病(NPC1)3例に対するMiglustatの治療効果, 第54回日本先天代謝異常学会, 2012.11.16, 岐阜
- 29.樋口 孝、河越しほ、大津 真、加藤総夫、単沢 享、松本朱里、井田博幸、大橋十也、中内啓光、衛藤義勝:ゴーシェ病及びポンペ病患者皮膚細胞由来 iPS 様細胞の樹立, 2012.11.16, 岐阜
- 30.河越しほ、樋口 孝、大高真奈美、嶋田洋太、小林博司、井田博幸、大橋十也、岡野ジェイムス洋尚、中西真人、衛藤義勝:センダイウイルスを用いたヒトファブリ - 病由来 iPS 様細胞の樹立, 2012.11.16, 岐阜
- 31.藤崎美和、松本朱里、高村歩美、樋口 孝、古城真秀子、河越しほ、小林博司、嶋田洋太、大橋十也、大樂武範、衛藤義勝:乾燥濾紙血を用いたマルトー・ラミー症候群(MPSVI)の診断法の検討, 2012.11.16, 岐阜
- 32.大樂武範、ハミルトン ジョン、マーチン ダナ、衛藤義勝:濾紙血を用いたリソゾーム酸性リパーゼ欠損症(LAL)の診断法の検討, 2012.11.16, 岐阜
- 33.小林正久、大橋十也、衛藤義勝、井田博幸:日本人 Fabry 病家系の遺伝子変異についての研究 - 特に de novo 変異の発症率について. 第57回日本人類遺伝学会. 東京. 2012.10.24-27
- 34.小林正久、大橋十也、衛藤義勝、井田博幸:日本人 Fabry 病家系の de novo 変異の発症率および臨床病型と遺伝子変異の相関についての研究. 第54回日本先天代謝異常学会. 岐阜. 2012.11.15-17
- 35.佐藤洋平、小林博司、大橋十也、井田博幸: Mucopolipidosis 型剖検例におけるオートファジー機能不全との関連性. 第54回日本先天代謝異常学会. 岐阜. 2012.11.15-17
- 36.小林正久, 大橋十也, 衛藤義勝, 井田博幸: Fabry 病の遺伝子解析 - そのピットフォール. 第26回日本小児脂質研究会. 川越. 2012.11.30-12.1
- 37.櫻井 謙、池本 智、齋藤亮太、安藤達也、富田和江、齋藤義弘、井田博幸:多形紅斑に心筋症を併発し、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症が疑われている5歳例, 第115回日本小児科学会学術集会. 福岡. 2012.4.20-22
- 38.横井貴之、横井健太郎、秋山和政、樋口 孝、嶋田洋太、小林博司、佐藤 卓、大津 真、中内啓光、西川伸一、衛藤義勝、井田博幸、大橋十也: ACK2(抗 c-kit 抗体)を用いたハンター病に対する細胞治療 / 遺伝子治療における前処置の開発. 第57回日本人類遺伝学会. 東京. 2012.10.24-27
- 39.横井貴之、樋口 孝、嶋田洋太、小林博司、大津真、中内啓光、西川伸一、衛藤義勝、井田博幸、

- 大橋十也:ACK(抗 c-kit 抗体)を用いたハンター病に対する細胞治療 / 遺伝子治療における前処置の開発. 第 54 回日本先天代謝異常学会. 岐阜. 2012.11.15-17
40. 西山由梨佳, 嶋田洋太, 小林博司, 衛藤義勝, 井田博幸, 大橋十也:インスリンを用いたポンペ病細胞における酵素補充療法抵抗性改善の試み. 第 54 回日本先天代謝異常学会. 岐阜. 2012.11.15-17
41. 秋山和政, 飯塚佐代子, 嶋田洋太, 樋口 孝, 福田隆浩, 小林博司, 井田博幸, 衛藤義勝, 大橋十也:ムコ多糖症 型(MPS )マウスにおける酵素補充療法と骨髄移植療法の比較検討. 第 54 回日本先天代謝異常学会. 岐阜. 2012.11.15-17
42. 嶋田洋太, 西山由梨佳, 小林博司, 樋口 孝, 衛藤義勝, 井田博幸, 大橋十也:ポンペ病におけるプロテアソーム阻害剤応答性酸性 グルコシダーゼ変異の探索:第 54 回日本先天代謝異常学会. 岐阜. 2012.11.15-17
43. Hiroshi Kobayashi, Sayoko Izuka, Takahiro Fukuda, Takeo Iwamoto, Asako Morita, Masamichi Ariga, Yota Shimada, Takayuki Yokoi, Hiroyuki Ida, Yoshikatsu Eto, Toya Ohashi. Lentivirus Mediated Gene Therapy For Krabbe Disease. 第 18 回 日本遺伝子治療学会 JS G C T 2012 年 6 月, 熊本
57. レンチウイルスベクターを用いたクラッペ病モデルマウスに対する新生児遺伝子治療 小林博司, 有賀賢典, 飯塚佐代子, 岩本武夫, 嶋田洋太, 福田隆浩, 衛藤義勝, 大橋十也. 第 57 回日本人類遺伝学会 2012 年 10 月, 東京
58. M Fujisaki, J Matsumoto, A Takamura, T Higuchi, M Furujo, S Kawagoe, H Kobayashi, H Ida, Y Shimada, T Ohashi, T Dairaku, Y Eto Enzymatic Diagnosis of Maroteaux-Lamy disease (MP ) in dried Blood Spots on Filter Paper The 54th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD), Gifu, Japan, 2012 November 15th – 17th
59. M Fujisaki, A Takamura, T Dairaku, T Ohashi, H Ida, Y Eto : Enzymatic screening in dried blood spots and gene analysis of Mucopolysaccharidosis IVA (MPS I A) in Japanese, 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Barcelona, Spain, 2013 September 3rd – 6th
60. M Fujisaki, A Takamura, T Dairaku, T Ohashi, H Ida, Y Eto : Enzymatic screening using dried blood spots and gene analysis of Mucopolysaccharidosis A (MPS I A) in Japanese The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD), Chiba, Japan, 2013 November 27th – 29<sup>th</sup> 3-6, 2013, Barcelona, Spain
61. 衛藤義勝:ファブリ病の最近の進歩、ファブリ病患者会、大阪 2013, 2,18
62. 衛藤義勝、Niemann-Pick C 病の診断、治療に関して、NPC 病シンポジウム、東京、2013.4.27
63. 衛藤義勝:ライソソーム酸性リパーゼ欠損症 日本小児科学会講演、広島 2013. 4.18
64. 衛藤義勝: Immunity of inborn error of metabolism, Asian Society of Pediatric Research, Kuching, Malaysia, 2013.5.10706. 衛藤義勝:ニーマンピック C 病の診断と治療に関して、第 55 回日本小児神経学会 大分 2013.5.31
65. 衛藤義勝: Applications of iPS Cell Technology for the Pathogenesis and Possible Treatment of LSD、International Fabry disease symposium, Hong Kong, June 6, 2013
66. 衛藤義勝 ファブリ病最新の進歩、ファブリ病研究会、札幌、2013.10.5
67. 衛藤義勝; 先天性ムコ多糖症の進歩、久留米小児科医会、2013.10.11
68. 衛藤義勝:ゴーシェ病最近の進歩、中国小児内

分泌代謝学会アモイ市、福建省 2013.10.23-24

69.衛藤義勝:Lysosomal acid lipase deficiency, アジア小児肝臓消化器学会 一ツ橋会館, 東京, 2013.11.1

70.衛藤義勝:ファブリ病 UpDate, 東北ファブリ病患者会 仙台, 2013.11.3

71.衛藤義勝, Novel Strategies of the Treatment for Lysosomal Storage disease, Korean Human Genetic Seminar, Seoul, 韓国, 2013, 11,14-16

72.衛藤義勝:New Strategies of the Treatment of Lysosomal Storage disease, 13th Asia LSD symposium, Nov.26, 2013

73.衛藤義勝:Future of clinical and research prospects in inborn error of metabolism, 第3回アジア先天代謝学会, 舞浜, 東京, 2013.11.27-29

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

ムコ多糖 I I 型への髄注

ライソゾーム病バイオマーカーとしての  
リゾ-スフィンゴ糖脂質に関する研究

分担研究者：櫻庭 均（明治薬科大学臨床遺伝学 教授）

研究要旨

血漿中のリゾ-スフィンゴ糖脂質を、高速液体クロマトグラフィーで測定する方法を確立した。本法で、ファブリー病、GM2 ガングリオシドーシスおよびゴーシェ病患者由来の血漿中リゾ-スフィンゴ糖脂質を測定した所、いずれも対照よりも高値を示した。リゾ-スフィンゴ糖脂質は、これらのライソゾーム病のバイオマーカーになると期待される。

研究協力者氏名：

兎川忠靖(明治薬科大学生体機能分析学教授)  
月村考宏(明治薬科大学生体機能分析学助教)  
児玉 敬(明治薬科大学生体機能分析学研究生)

クス病患者 6 名、乳児型ザンドホッフ病患者 1 名および成人型ザンドホッフ病患者 1 名)、ゴーシェ病患者 3 名( 型患者 1 名、 型患者 1 名および 型患者 1 名)および健常対照者から血漿を採取し、測定試料とした。

(倫理面への配慮)

本研究は、明治薬科大学倫理委員会の承認を得て、その規則を遵守して行われた。

A．研究目的

ライソゾーム病は、ライソゾームに存在する酵素の活性低下により、多彩な臨床症状を呈する疾患群である。幾つかのライソゾーム病に対して、当該酵素を血管内投与する酵素補充療法が開発され、効果を上げている。それに伴い、これらの疾患を早期に発見し、治療効果を適切に評価するためのバイオマーカーが求められている。本研究では、リゾ-スフィンゴ糖脂質の測定法を確立して、ライソゾーム病の中の糖脂質蓄積症であるファブリー病、GM2 ガングリオシドーシスおよびゴーシェ病の患者血漿中のリゾ-スフィンゴ糖脂質の測定を行い、リゾ-スフィンゴ糖脂質がこれらの疾患のバイオマーカーと成り得るか否かを検討した。

2)血漿中のグロボトリアオシルスフィンゴシン (Lyso-Gb3) の測定

血漿を試料として、クロロホルム/メタノール、クロロホルム/水、メタノール/水および水飽和 L-ブタノールによる糖脂質抽出操作を順次行い、得られた Lyso-Gb3 を含む糖脂質画分を用いて、 $\alpha$ -フタルアルデヒド試薬 (pH 11) と反応させた。その後、フタルアルデヒド誘導体化された Lyso-Gb3 を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分離し、定量した。定量に際しては、既知の量の Lyso-Gb3 を健常者由来の血漿に加えたものを、標準として用いた。

B．研究方法

1)試料

ファブリー病患者 51 名(古典型男性患者 21 名、遅発型男性患者 6 名および女性患者 24 名)、GM2 ガングリオシドーシス患者 8 名(テイ-サツ

3)血漿中のリゾ-GM2 ガングリオシド (Lyso-GM2) の測定

血漿を試料として、クロロホルム/メタノール、クロロホルム/水、メタノール/水および水飽和 L-ブタノールによる糖脂質抽出操作を順次行い、得られた Lyso-GM2 を含む糖脂質画分を用いて、

o-フタルアルデヒド試薬 (pH 11) と反応させた。その後、フタルアルデヒド誘導体化された Lyso-GM2 を HPLC で分離し、定量した。定量に際しては、既知の量の Lyso-GM2 を健常者由来の血漿に加えたものを、標準として用いた。

4) 血漿中のグルコシルスフィンゴシン (Lyso-GlcCer) の測定

血漿を試料として、トライトン X - 100/シアン化メタノール処理を行い、得られた Lyso-GlcCer を含む糖脂質画分を用いて、o-フタルアルデヒド試薬 (pH 9.5) と反応させた。その後、フタルアルデヒド誘導体化された Lyso-GlcCer を HPLC で分離し、定量した。定量に際しては、既知の量の Lyso-GlcCer を健常者由来の血漿に加えたものを、標準として用いた。

C. 研究結果

1) ファブリー病患者における血漿中 Lyso-Gb3濃度

ファブリー病患者の血漿中 Lyso-Gb3測定結果を表1に示した。ファブリー病男性患者では、古典型および遅発型ともに血漿中 Lyso-Gb3濃度は高値を示したが、その平均値は古典型の方が遅発型よりも高かった。また、ファブリー病女性患者においても Lyso-Gb3濃度は増加していたが、男性患者の場合に比べて、その平均値は低かった。

表1 ファブリー病患者の血漿中 Lyso-Gb3濃度

症 例	Lyso-Gb3 (nmol/l)
ファブリー病	
古典型 男性患者	75 ± 37 [21]*
遅発型 男性患者	26 ± 20 [6]*
女性患者	11 ± 7 [24]*
対照	< 2 [20]

\* 平均値 ± 標準偏差 [試料数]

2) GM2ガングリオシドーシス患者における血漿中 Lyso-GM2濃度

GM2ガングリオシドーシス患者の血漿中 Lyso-GM2測定結果を表2に示した。テイ-サックス病およびザンドホッフ病患者ともに血漿中 Lyso-GM2濃度の増加が認められたが、その値は、テイ-サックス病患者の方がザンドホッフ病患者よりも高かった。また、ザンドホッフ病の乳児型患者と成人型患者とを比べると、乳児型患者の方が高い値を示した。

表2 GM2 ガングリオシドーシス患者の血漿中 Lyso-GM2濃度

症 例	Lyso-GM2 (nmol/l)
GM2 ガングリオシドーシス	
テイ-サックス病患者	32 ± 5 [6]*
乳児型 ザンドホッフ病患者	13
成人型 ザンドホッフ病患者	3
対照	< 2 [48]

\* 平均値 ± 標準偏差 [試料数]

3) ゴーシェ病患者における血漿中 Lyso-GlcCer濃度

ゴーシェ病患者の血漿中 Lyso-GlcCer測定結果を表3に示した。 、 および 型の ゴーシェ病患者では、いずれの場合も、対照に比べて、明らかな Lyso-GlcCer 濃度の増加が認められた。

**表 3 ゴーシェ病患者病者の血漿中 Lyso-GlcCer 濃度**

症 例	Lyso-GlcCer ( $\mu$ mol/l)
ゴーシェ病 型	0.19
患者	0.16
患者	0.16
患者 対照	< 0.01 [n=10]

#### D . 考察

スフィンゴ糖脂質が蓄積するライソゾーム病において、そのリゾ体は機能や毒性を持つことから、体内への過剰蓄積はいろいろな細胞障害を来たして、ライソゾーム病の病態形成に関与する可能性が示唆されている。今回の研究により、ライソゾーム病の代表的疾患であるファブリー病、GM2ガングリオシドーシスやゴーシェ病において、血漿中の当該リゾ-スフィンゴ糖脂質の濃度が増加していることが示された。このことから、血漿中リゾ-スフィンゴ糖脂質が、これらの疾患の診断や治療評価時におけるバイオマーカーとして役立つと期待される。

#### E . 結論

血漿中リゾ-スフィンゴ糖脂質は、スフィンゴ糖脂質が蓄積するライソゾーム病のよいバイオマーカーになると考えられる。

#### F . 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Togawa T, Kawashima I, Kodama T, et al : Tissue and plasma globortiaosylsphingosine could be a biomarker for assessing enzyme replacement therapy for Fabry disease. *Biochem Biophys Res Commun* 399 : 716-720, 2010
- 2) Ohno K, Saito S, Sugawara K, et al: Structural basis of neuronal ceroid lipofuscinosis I. *Brain Dev* 32 : 524-530, 2010
- 3) Saito S, Ohno K, Sese J, et al : Prediction of the clinical phenotype of Fabry disease based on protein sequential and structural information. *J Hum Genet* 55 : 175-178, 2010
- 4) Togawa T, Kodama T, Suzuki T, et al : Plasma globotriaosylsphingosine as a biomarker of Fabry disease. *Mol Genet Metab* 100 : 257-261, 2010
- 5) Tsukimura T, Chiba Y, Ohno K, et al : Molecular mechanism for stabilization of a mutant  $\alpha$ -galactosidase A involving M51I amino acid substitution by imino sugars. *Mol Genet Metab* 103: 26-32, 2011
- 6) Tajima Y, Saito S, Ohno K, et al : Biochemical and structural study on a S529V mutant acid alpha-glucosidase responsive to pharmacological chaperones. *J Hum Genet* 56 : 440-446, 2011
- 7) Kodama T, Togawa T, Tsukimura T, et al: Lyso-GM2 ganglioside: A possible biomarker of Tay-Sachs disease and Sandhoff disease. *PLoS ONE* 6 : e29074, 2011
- 8) Tsukimura T, Kawashima I, Togawa T, et al : Efficient uptake of recombinant  $\alpha$ -galactosidase A produced with a gene-manipulated yeast by Fabry mice kidneys. *Mol Med* 18 : 76-82, 2012
- 9) Saito S, Ohno K, Suzuki T, et al : Structural bases of Wolman disease and cholesteryl ester storage disease. *Mol Genet Metab* 105 : 244-248, 2012
- 10) Saito S, Ohono K, Sekijima M, et al : Database of the clinical phenotypes,

genotypes, and mutant arylsulfatase B structures in mucopolysaccharidosis type . *J Hum Genet* 57 : 280-282, 2012

- 11) Togawa T, Tsukimura T, Kodama T, et al : Fabry disease: Biochemical, pathological and structural studies of the  $\alpha$ -galactosidase A with E66Q amino acid substitution. *Mol Genet Metab* 105 : 615-620, 2012
  - 12) Mitobe S, Togawa T, Tsukimura T, et al : Mutant  $\alpha$ -galactosidase A with M296I does not cause elevation of the plasma globotriaosylsphingosine level. *Mol Genet Metab* 107 : 623-626 , 2012
  - 13) Nakano S, Morizane Y, Makisaka N, et al : Development of a highly sensitive immuno-PCR assay for the measurement of  $\alpha$ -galactosidase A protein levels in serum and plasma. *PLoS ONE* 8 : e78588, 2013
  - 14) Saito S, Ohno K, Maita N, et al : Structural and clinical implications of amino acid substitutions in  $\alpha$ -L-iduronidase : Insight into the basis of mucopolysaccharidosis type I. *Mol Genet Metab*, in press.
  - 15) Saito S, Ohno K, Sakuraba H : Comparative study of structural changes caused by different substitutions at the same residue on  $\alpha$ -galactosidase A. *PLoS ONE*, in press.
2. 学会発表
- 1) Sakuraba H : Biomarkers. The 11th European Round Table on Fabry Disease, Istanbul, Turkey, Oct. 2010
  - 2) Sakuraba H : Development of diagnosis and therapy for lysosomal diseases. The 1st Medicinal Chemistry Seminar 2010 of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, Quezon City, Philippines, Jan. 2011
  - 3) Sakuraba H : High-risk screening, database and biomarkers of Fabry disease. The 13th Annual Asia LSD Symposium, Hong Kong, China, Apr. 2011
  - 4) Sakuraba H : New treatment of Fabry disease. Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) Satellite Symposium 2011 Tokyo Meeting on Lysosomal Storage Disease Screening, Tokyo, Japan. Aug. 2011
  - 5) Sakuraba H : Development of new enzyme replacement therapy for Fabry disease based on molecular designing. The 31st Naito Conference, Glycan Expression and Regulation [II]: Metabolites, Stress Response, Microdomains, and Beyond, Sapporo, Japan. Sep. 2011
  - 6) Sakuraba H : Cardiac diagnosis and care. The 12th European Round Table on Fabry Disease, Fabry Expert Lounge 2011, Budapest, Hungary. Oct. 2011
  - 7) Sakuraba H : Lyso-glycosphingolipids as biomarkers of sphingolipidoses. The 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders & The 17th Japanese Society for Lysosomal Disorders, Tokyo, Japan. Oct. 2012
  - 8) Sakuraba H : Unraveling Fabry disease, improving care. The 2nd European Fabry Expert Lounge 2012, Munich, Germany, Oct. 2012
  - 9) Sakuraba H : Construction of a database and development of new enzyme replacement therapy for Fabry disease. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science



- Platform Program, Tokyo, Japan, Dec. 2012
- 10) Sakuraba H : High Risk Screening for Fabry Disease. Asian Congress for Lysosomal Storage Disease Screening, Kumamoto, Japan, May. 2013
  - 11) Sakuraba H : E66Q: Biochemical, pathological and structural studies. 3rd Update on Fabry Nephropathy: Biomarkers, Progression and Treatment Opportunities, Hong Kong, China, Jun. 2013
  - 12) Sakuraba H : Genotype/Phenotype correlation in Fabry disease. The 15th Annual Asia LSD Symposium, Chiba, Japan, Nov. 2013
  - 13) Togawa T, Kodama T, Suzuki T, Sakuraba H: Globotriaosylsphingosine as a new biomarker of Fabry disease. The 1st Medicinal Chemistry Seminar 2010 of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, Quezon City, Philippines, Jan. 2011
  - 14) Tsukimura T, Togawa T, Sakuraba H: High-risk screening for Fabry disease in Japan. The 1st Medicinal Chemistry Seminar 2010 of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, Quezon City, Philippines, Jan. 2011
  - 15) Togawa T, Kodama T, Tsukimura T, Suzuki T, Sakuraba H: Globotriaosylsphingosine as a biomarker of Fabry disease. The 10th International Symposium on Lysosomal Storage Diseases, Madrid, Spain, Apr. 2011
  - 16) Tsukimura T, Kawashima I, Togawa T, Suzuki T, Chiba Y, Sakuraba H: Recombinant  $\alpha$ -galactosidase A produced in a mutant yeast is well incorporated into the kidneys of Fabry mice. The 13th Annual Asia LSD Symposium, Hong Kong, China, Apr. 2011
  - 17) Tsukimura T, Tanaka T, Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H: High-risk screening for male patients with Fabry disease in Japan. The Second Medicinal Chemistry Seminar of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, New Delhi, India, Oct. 2011
  - 18) Togawa T, Kodama T, Tsukimura T, Suzuki T, Sakuraba H: Evaluation of globotriaosylsphingosine as a new biomarker of Fabry disease. The Second Medicinal Chemistry Seminar of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, New Delhi, India, Oct. 2011
  - 19) Kodama T, Togawa T, Tsukimura T, Kawashima I, Ishida Y, Suzuki T, Sakuraba H: Lyso-GM2 ganglioside: A new biomarker of Tay-Sachs disease and Sandhoff disease. The Second Medicinal Chemistry Seminar of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, New Delhi, India, Oct. 2011
  - 20) Shibasaki F, Nakano S, Sakuraba H: Diagnostic values of modified immuno-PCR method (MUSTag) to detect  $\alpha$ -galactosidase A proteins in Fabry disease. The 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders & The 17th Japanese Society for Lysosomal Disorders, Tokyo, Japan, Oct. 2012
  - 21) Tsukimura T, Mitobe S, Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H: Construction of a high-throughput screening system for male patients with Fabry disease. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012)

- of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, Tokyo, Japan, Dec. 2012
- 22) Mitobe S, Togawa T, Tsukimura T, Kodama T, Tanaka T, Otsuka T, Suzuki T, Sakuraba H: Mutant  $\alpha$ -galactosidase A with M296I does not cause elevation of the plasma globotriaosylsphingosine level. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, Tokyo, Japan, Dec. 2012
- 23) Aizawa Y, Takada M, Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H: An improved method for determination of mannose 6-phosphate residues in acid  $\alpha$ -glucosidase by means of HPLC. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, Tokyo, Japan, Dec. 2012
- 24) Ishibashi Y, Nakajima Y, Takatsuji Y, Suzuki T, Sakuraba H: SPR analysis on molecular interaction between GLA/modified NAGA and antibodies against them. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, Tokyo, Japan, Dec. 2012
- 25) Fukano K, Ono Y, Kamikura A, Suzuki T, Sakuraba H: Ultrasensitive assay method for measurement of  $\alpha$ -galactosidase A protein in blood from Fabry patients. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, Tokyo, Japan, Dec. 2012
- 26) Takasawa K, Yamashita S, Mitobe S, Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H: New method for determination of globotriaosylceramide in plasma and urine from Fabry patients. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, Tokyo, Japan, Dec. 2012
- 27) Kawashima I, Mitobe S, Kodama T, Tsukimura T, Togawa T, Sakuraba H: Development of enzyme replacement therapy with a modified enzyme and an activator for Fabry disease. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- 28) Shibasaki F, Nakano S, Togawa T, Tsukimura T, Kawashima I, Sakuraba H.: Development of a highly sensitive immuno-PCR measurement of  $\alpha$ -galactosidase A protein levels in serum and plasma. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- 29) Nakano S, Togawa T, Tsukimura T, Kawashima I, Sakuraba H, Futoshi S.: Rapid Immunochromatographic measurement of anti- $\alpha$ -galactosidase A antibodies in Fabry patients Treated with enzyme replacement therapy. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- 30) Togawa T, Tsukimura T, Katayama M, Mitobe S, Sakuraba H.: Fabry patients exhibiting no elevation in plasma globotriaosylsphingosine level. The 3rd

- Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- 31) Tsukimura T, Takada M, Aizawa Y, Suzuki T, Katayama M, Sakuraba H, Togawa T.: Comparative study on the content of mannose 6-phosphate residues of recombinant lysosomal enzymes. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- 32) Itoh K, Tsuji D, Namba K, Yamaguchi S, Imataki I, Ishimaru N, Sakuraba H.: Establishment of human neural cell culture systems induced from ips cells derived from Tay-Sachs disease patient for drug discovery. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- 33) Kitakaze K, Kawano K, Tsuji D, Asanuma D, Kamiya M, Urano Y, Sakuraba H, Itoh K.: Imaging of enzyme replacement with a novel fluorescent probe and purified lysosomal  $\beta$ -hexosaminidase carrying M6P-type glycans. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- 34) 櫻庭 均 : ファブリー病疑い例から確定診断に至るプロセスに関して, 第 109 回日本皮膚学会総会, 大阪, 2010. 4
- 35) 櫻庭 均 : ファブリー病の基礎と臨床 - 診断と治療のための小知識, 第 51 回日本神経学会総会, ランチョンセミナー, 東京, 2010. 5
- 36) 櫻庭 均 : ファブリー病を知り, 診断と治療に生かすために, 第 53 回日本腎臓学会学術総会, イブニングセミナー, 神戸, 2010. 6
- 37) 櫻庭 均 : ファブリー病の診断と治療へのアプローチ, 第 34 回日本小児皮膚科学会学術大会, ランチョンセミナー, 松山, 2010. 7
- 38) 櫻庭 均 : ファブリー病診断と治療のためのロードマップ, 仙台 Fabry 病研究会, 仙台, 2010. 10
- 39) 櫻庭 均 : ファブリー病の ABC: 診断と治療のために, 金沢ファブリー病研究会, 金沢, 2010. 10
- 40) 櫻庭 均 : ファブリー病の診断から治療へ, 多摩ファブリー病研究会, 東京, 2010. 12
- 41) 櫻庭 均 : ファブリー病の診断と治療のバイオマーカー: グロトリアオシルスフィンゴシン, 第 5 回ファブリー病シンポジウム, 東京, 2011. 2
- 42) 櫻庭 均 : ファブリー病をよく知るために: 分子病態から診断, 治療まで, 第 5 回埼玉酵素補充療法研究会, 大宮, 2011. 3
- 43) 櫻庭 均 : ファブリー病の診断治療戦略 - 最新のスクリーニング結果報告, 第 55 回日本腎臓学会学術総会, 横浜, 2011. 6
- 44) 櫻庭 均 : ファブリー病: その早期診断 - 早期治療のために, 第 5 回神奈川酵素補充療法研究会, 横浜, 2011. 7
- 45) 櫻庭 均 : ファブリー病治療薬研究の最前線, 第 7 回日本ファブリー病フォーラム, 東京, 2011. 7
- 46) 櫻庭 均 : ファブリー病の診断と治療

- Update, 第 3 回久留米ファブリー病研究会, 久留米, 2011. 7
- 47) 櫻庭 均 : Fabry 病の診断と治療, 第 37 回皮膚かたち研究会 ランチョンセミナー, 東京, 2011. 7
- 48) 櫻庭 均 : ファブリー病の診断と治療の最前線, ファブリー病シンポジウム in 福岡, 福岡, 2011. 9
- 49) 櫻庭 均 : 心疾患に潜むファブリー病 - その診断・治療ストラテジー, 第 5 回 Trends of Cardiovascular Disease in Nagasaki, 長崎, 2011. 11
- 50) 櫻庭 均 : ファブリー病 ~ 早期診断の重要性 ~, 愛知ファブリー病研究会, 愛知, 2012. 1
- 51) 櫻庭 均 : 神経内科医が遭遇する疾患 ファブリー病, 第 53 回日本神経学会学術大会, 東京, 2012. 5
- 52) 櫻庭 均 : 蛋白尿に潜む疾患 ファブリー病, 第 55 回日本腎臓学会学術総会, 横浜, 2012. 6
- 53) 櫻庭 均 : 分子設計に基づくファブリー病新規治療戦略, 第 57 回(社)日本透析医学会 学術集会・総会, 札幌, 2012. 6
- 54) 櫻庭 均 : ファブリー病の分子病態と腎障害, 第 47 回日本小児腎臓病学会学術集会, 東京, 2012. 6
- 55) 櫻庭 均 : 日常の診療に潜むファブリー病: 病態・診断・治療, 沖縄ファブリー病セミナー, 沖縄, 2012. 8
- 56) 櫻庭 均 : 隠れ心筋症? ファブリー病 ~ その診断と治療の最先端 ~, 第 123 回みなとセミナー 第 15 回心臓病センター病診連携学術講演会, 横浜, 2012. 8
- 57) 櫻庭 均 : ファブリー病 診断と治療の実際, 第 18 回 日本腹膜透析医学会 学術集会・総会, 徳島, 2012. 9
- 58) 櫻庭 均 : 酵素. 低分子化合物複合体形成機構の熱力学的・構造学的検討, 第 1 回 日本シャペロン療法研究会 遺伝性難病の治療を目指して, 東京, 2012. 11
- 59) 櫻庭 均 : ファブリー病の診断方法と最近の話題. 京滋ファブリー病セミナー, 京都, 2012. 12
- 60) 櫻庭 均 : こんな症状を認めたら... ファブリー病を理解し, 診断・治療する. 川崎ファブリー病セミナー, 川崎, 2013. 2
- 61) 櫻庭 均 : ファブリー病の診断方法と最近の話題. 第 2 回大阪ファブリー病セミナー, 大阪, 2013. 2
- 62) 櫻庭 均 : ファブリー病 診断から治療まで. 福島ファブリー病セミナー, 福島, 2013. 2
- 63) 櫻庭 均 : 日常診療に潜在するファブリー病: 病態・診断・治療. 三重ファブリー病セミナー, 三重, 2013. 2
- 64) 櫻庭 均 : リプレガル特定使用成績調査中間報告. 第 7 回ファブリー病シンポジウム, 東京, 2013. 3
- 65) 櫻庭 均 : 日常診療で遭遇するファブリー病 病態から治療まで, 京橋ファブリー病セミナー, 東京, 2013. 3
- 66) 櫻庭 均 : ファブリー病を疑うとき 診断・治療について, ファブリー病セミナー in 新潟, 新潟, 2013. 5
- 67) 櫻庭 均 : ファブリー病の治療戦略. 熊本ファブリー病フォーラム, 熊本, 2013. 5
- 68) 櫻庭 均 : ファブリー病の新しい治療薬開発に向かって. ふくろうの会 東京シンポジウム 2013, 東京, 2013. 6
- 69) 櫻庭 均 : よくわかるシリーズ ファブリー病: ファブリー病の診断法, 第 58 回日本透析医学会 学術集会・総会, 福岡, 2013. 6
- 70) 櫻庭 均 : ファブリー病の最近の話題. ファブリー病セミナー 腎臓 Special Lecture, 福岡, 2013. 6
- 71) 櫻庭 均 : 心疾患の中に潜在するファブリー病 ファブリー病の病態・診断について

- て. 第 23 回 Educational Seminar in Cardiology, 東京, 2013. 7
- 72) 櫻庭 均 : 日常診療に潜在するファブリー病 : 病態・診断・治療. 福井ファブリー病セミナー, 福井, 2013. 7
- 73) 櫻庭 均 : ファブリー病の最近の話題. 川口ファブリー病セミナー, 川口, 2013. 7
- 74) 櫻庭 均 : ファブリー病の診断方法と最近の話題. 秋田ファブリー病セミナー, 秋田, 2013. 8
- 75) 櫻庭 均 : ファブリー病へのアプローチ 診断・治療可能な希少疾患を見逃さないために. 西湘ファブリー病セミナー, 神奈川, 2013. 10
- 76) 櫻庭 均 : ファブリー病を知ろう 病態・診断・治療. 函館ファブリー病セミナー, 函館, 2013. 10
- 77) 櫻庭 均 : ファブリー病 その診断, 治療の核心に迫る. 弘前ファブリー病セミナー, 青森, 2013. 10
- 78) 櫻庭 均 : 治療可能な希少疾病ファブリー病 ~ 酵素補充療法の実際 ~. 第 40 回 日本小児臨床薬理学会 学術集会, 横浜, 2013. 11
- 79) 菅原佳奈子, 櫻庭 均 : 酵母で生産した新規酵素のファブリー病モデルマウス末梢神経および腎臓に対する効果の検討. 第 52 回小児神経学会総会, 福岡, 2010. 5
- 80) 月村考宏, 千葉靖典, 川島育夫, 渡邊 徹, 児玉 敬, 福重智子, 金蔵拓郎, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭 均: メタノール資化性酵母で生産した組み換えヒト  $\beta$ -ガラクトシダーゼのファブリー病マウスに対する効果. 第 52 回日本先天代謝異常学会. 大阪, 2010. 10
- 81) 黒田麻祐子, 鈴木俊宏, 小谷政晴, 川島育夫, 兎川忠靖, 伊藤孝司, 千葉靖典, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均 : Sandhoff 病モデルマウス由来ニューロスフェア株の樹立とその応用, 第 52 回日本先天代謝異常学会, 大阪, 2010. 10
- 82) 児玉 敬, 兎川忠靖, 川島育夫, 月村考宏, 鈴木俊宏, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均 : 臓器組織の Lyso-Gb3 はファブリー病の酵素補充療法における治療のバイオマーカーになり得る, 第 52 回日本先天代謝異常学会, 大阪, 2010. 10
- 83) 川島育夫, 月村考宏, 児玉 敬, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 渡邊 徹, 千葉靖典, 福重智子, 金蔵拓郎, 田島陽一, 芝崎 太, 櫻庭 均 : メタノール資化性酵母により産生した組換えヒト  $\beta$ -ガラクトシダーゼ A はファブリー病モデルマウスに蓄積する基質を分解する, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 84) 兎川忠靖, 月村考宏, 川島育夫, 田中利絵, 児玉 敬, 鈴木俊宏, 櫻庭 均 : ファブリー病のハイリスク・スクリーニング診断システムの構築, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 85) 月村考宏, 田島陽一, 川島育夫, 千葉靖典, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭 均 : 酵素増強療法が有効な変異  $\beta$ -ガラクトシダーゼと基質アナログの分子間相互作用解析, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 86) 渡邊 徹, 高岡 友紀, 櫻庭 均, 地神芳文, 千葉靖典: メタノール資化性酵母 *Ogataea minuta* によるヒトサポシン B の生産, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 87) 田島陽一, 川島育夫, 芝崎 太, 千葉靖典, 月村考宏, 櫻庭 均 : 分子設計によるファブリー病に対する新しい酵素薬の開発, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 88) 児玉 敬, 兎川忠靖, 川島育夫, 月村考宏, 鈴木俊宏, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均 : ファブリー病治療のためのバイオマーカーとしての臓器組織中 Lyso-Gb, 第 83 回

- 日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 89) 黒田麻祐子, 鈴木俊宏, 小谷政晴, 田島陽一, 川島育夫, 兎川忠靖, 辻 大輔, 伊藤孝司, 千葉靖典, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均: Sandhoff 病モデルマウス由来ニューロスフェア株を用いた酵素補充モデルの構築, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 90) 黒田麻祐子, 鈴木俊宏, 小谷政晴, 田島陽一, 川島育夫, 兎川忠靖, 辻 大輔, 伊藤孝司, 千葉靖典, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均: Sandhoff 病に対する ex vivo 遺伝子治療モデルの開発, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 91) 北風圭介, 松岡和彦, 辻 大輔, 櫻庭 均, 田島陽一, 伊藤孝司: 大腸菌発現系によるヒト GM2 activator protein の獲得およびヒト  $\alpha$ -hexosaminidase との相互作用の解析, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 92) 櫻庭 均, 齋藤 静司, 大野 一樹, 兎川忠靖, 鈴木俊宏, 月村考宏: ファブリー病データベースの構築, 第 15 回日本ライソゾーム病研究会, 東京, 2010. 12
- 93) 櫻庭 均: 臨床遺伝学講座では, この様な研究をしています, 臨床遺伝学公開シンポジウム 2011. 東京, 2011. 3
- 94) 兎川忠靖: Lyso-Gb3 はファブリー病の有用なバイオマーカーです. 臨床遺伝学公開シンポジウム 2011. 東京, 2011. 3
- 95) 月村考宏: 酵母を利用したファブリー病治療薬の開発を目指します, 臨床遺伝学公開シンポジウム 2011. 東京, 2011. 3
- 96) 鈴木俊宏: 組み換え酵素薬の取り込みに関わる分子を探索しています, 臨床遺伝学公開シンポジウム 2011. 東京, 2011. 3
- 97) 黒田麻祐子: ザンドホッフ病における神経系細胞に対する酵素補充モデルを構築しました. 臨床遺伝学公開シンポジウム, 東京, 2011. 3
- 98) 児玉 敬: 脳障害を伴うリソゾーム病のバイオマーカーを探索しています. 臨床遺伝学公開シンポジウム 2011. 東京, 2011. 3
- 99) 児玉 敬, 兎川忠靖, 川島育夫, 石田 洋一, 鈴木 實, 辻 大輔, 伊藤孝司, 千葉靖典, 月村考宏, 鈴木俊宏, 櫻庭 均: リゾ-GM2 ガングリオシド: GM2 ガングリオシド-シスのバイオマーカー, 日本薬学会第 131 年会. 静岡, 2011. 3
- 100) 黒田麻祐子, 鈴木俊宏, 小谷政晴, 田島陽一, 川島育夫, 兎川忠靖, 辻 大輔, 伊藤孝司, 千葉靖典, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均: Sandhoff 病モデルマウス由来ニューロスフェアにおけるヒト組み換え Hex A 酵素の取り込み, 日本薬学会第 131 年会. 静岡, 2011. 3
- 101) 月村考宏, 田中利絵, 児玉 敬, 川島育夫, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭 均: ファブリー病のハイリスク・スクリーニング, 日本薬学会第 131 年会. 静岡, 2011. 3
- 102) 兎川忠靖, 児玉 敬, 川島育夫, 月村考宏, 鈴木俊宏, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均: ファブリー病の治療のバイオマーカー: グロボトリアオシルフスフィンゴシン, 日本薬学会第 131 年会. 静岡, 2011. 3
- 103) 櫻庭 均: ファブリー病データベース: その分子病態解明と臨床表現型予測への応用, 第 53 回日本小児神経学会総会. 横浜, 2011.5
- 104) 北風 圭介, 堂園 幸恵, 辻 大輔, 櫻庭 均, 田島陽一, 伊藤孝司: ヒト  $\alpha$ -hexosaminidase と GM2 activator protein との相互作用の解析, 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
- 105) 月村考宏, 田中利絵, 児玉 敬, 川島育夫, 齋藤 静司, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭 均: ファブリー病ハイリスク・スクリーニングの有用性と問題点, 第 84 回日本生化学

- 学会大会. 京都, 2011. 9
- 106) 兎川忠靖, 月村考宏, 兎玉 敬, 田中利絵, 川島育夫, 齋藤 静司, 鈴木俊宏, 櫻庭均 : ファブリー病の診断における  $\alpha$ -ガラクトシダーゼの E66Q アミノ酸置換の重要性, 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
- 107) 堂園幸恵, 辻 大輔, 松岡和彦, 北風圭介, 櫻庭 均, 伊藤孝司 : 改变型ヒト  $\alpha$ -hexosaminidase B の高発現 CHO 細胞株の樹立と無血清大量培養系の構築, 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
- 108) 田島陽一, 横山 清司, 川島育夫, 貞任大地, 設楽浩志, 多屋長治, 月村考宏, 廣井隆親, 芝崎 太, 櫻庭 均 : 免疫寛容ファブリー病モデルマウスを用いた新規ファブリー病酵素補充法の検討, 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
- 109) 川島育夫, 渡邊 徹, 千葉靖典, 兎玉 敬, 月村考宏, 兎川忠靖, 芝崎 太, 櫻庭 均 : 遺伝子操作した酵母より生産した組換えヒトサポシン B の  $\alpha$ -ガラクトシダーゼ A 活性増強効果, 第 84 回日本生化学会大会. 京都 2011. 9
- 110) 兎玉 敬, 兎川忠靖, 川島育夫, 石田 洋一, 鈴木 實, 辻 大輔, 伊藤孝司, 千葉靖典, 月村考宏, 鈴木俊宏, 櫻庭 均 : GM2 ガングリオシドーシスのバイオマーカーとしての Lyso-GM2, 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
- 111) 月村考宏, 兎川忠靖, 兎玉 敬, 田中利絵, 川島育夫, 齋藤 静司, 鈴木俊宏, 櫻庭均 : GLA における p.E66Q は遺伝的多型か, 第 16 回日本ライソゾーム病研究会. 東京, 2011. 9
- 112) 兎玉 敬, 兎川忠靖, 川島育夫, 石田洋一, 鈴木 實, 辻 大輔, 伊藤孝司, 月村考宏, 鈴木俊宏, 櫻庭 均 : Lyso-GM2 : GM2 ガングリオシドーシスのバイオマーカー, 第 53 回日本先天代謝異常学会総会, 第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 千葉, 2011. 11
- 113) 兎川忠靖, 兎玉 敬, 月村考宏, 柏 志保, 川島育夫, 鈴木俊宏, 櫻庭 均 : ファブリー病のバイオマーカーとしての lyso-Gb3 の評価, 第 53 回日本先天代謝異常学会総会, 第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 千葉, 2011. 11
- 114) 田中利絵, 月村考宏, 兎玉 敬, 川島育夫, 齋藤 静司, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭均 : ファブリー病男性患者のためのハイリスク・スクリーニング, 第 53 回日本先天代謝異常学会総会, 第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 千葉, 2011. 11
- 115) 森山 厚子, 月村考宏, 田島陽一, 川島育夫, 兎玉 敬, 福重智子, 金蔵拓郎, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭 均 : 改变型  $\alpha$ -N-アセチルガラクトサミニダーゼの生産と精製, 第 53 回日本先天代謝異常学会総会, 第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 千葉, 2011. 11
- 116) 月村考宏, 田中利絵, 兎玉 敬, 川島育夫, 齋藤 静司, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭均 : E66Q を伴う  $\alpha$ -ガラクトシダーゼ A の生化学的及び病理学的解析, 第 53 回日本先天代謝異常学会総会, 第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 千葉, 2011. 11
- 117) 渡邊 徹, 高岡友紀, 川島育夫, 櫻庭 均, 千葉靖典 : サポシン B 欠損症治療薬を目指したヒトサポシン B の生産, 日本農芸化学会 2012 年度大会. 京都, 2012. 3
- 118) 向日良夫, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 片山昌勅, 松田兆史, 櫻庭 均 : 分析実習におけるビュレット操作の問題点日本薬学会第 132 年会. 札幌, 2012. 3
- 119) 兎川忠靖, 兎玉 敬, 月村考宏, 柏 志保, 川島育夫, 鈴木俊宏, 櫻庭 均 : ファブリー

- 一病の診断における Lyso-Gb3 の評価, 日本薬学会第 132 年会. 札幌, 2012. 3
- 120) 兎川忠靖, 月村考宏, 水戸部さゆり, 鈴木俊宏, 川島育夫, 櫻庭 均: グロボトリアオシルセラミドの新規測定法, 第 54 回日本先天代謝異常学会総会 / 第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 岐阜, 2012. 11
- 121) 水戸部さゆり, 兎川忠靖, 月村考宏, 土井研人, 野入英世, 赤井靖宏, 齋藤能彦, 芳野 信, 竹中俊宏, 櫻庭 均: M296I 変異 GLA を有するファブリー病患者は血漿中 Lyso-Gb3 濃度の増加を伴わない, 第 54 回日本先天代謝異常学会総会 / 第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 岐阜, 2012. 11
- 122) 辻 大輔, 難波建多郎, 石丸直澄, 櫻庭均, 伊藤孝司: Tay-Sachs 病患者由来 iPS 細胞の樹立と分化神経系細胞に対する酵素補充効果の検討, 第 54 回日本先天代謝異常学会総会. 第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 岐阜, 2012. 11
- 123) 北風圭介, 辻 大輔, 難波建多郎, 浅沼大祐, 神谷真子, 浦野泰照, 櫻庭 均, 伊藤孝司: 新規人工蛍光基質を用いたリソソーム酵素の脳内補充効果の in vivo イメージング, 第 54 回日本先天代謝異常学会総会 / 第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 岐阜, 2012. 11
- 124) 月村考宏, 田中利絵, 大塚智子, 水戸部さゆり, 鈴木俊宏, 齋藤静司, 兎川忠靖, 櫻庭 均: ハイリスク群の男性を対象としたファブリー病スクリーニング, 第 54 回日本先天代謝異常学会総会 / 第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 岐阜, 2012. 11
- 125) 鈴木俊宏, 櫻庭 均: ヒト正常組織由来培養細胞における組換えリソソーム酵素の取り込み, 第 85 回日本生化学会大会, 福岡, 2012. 12
- 126) 月村考宏, 田中利絵, 大塚智子, 水戸部さゆり, 鈴木俊宏, 齋藤静司, 兎川忠靖, 櫻庭 均: 男性を対象としたファブリー病のハイリスク・スクリーニング, 第 85 回日本生化学会大会, 福岡, 2012. 12
- 127) 水戸部さゆり, 兎川忠靖, 月村考宏, 児玉敬, 齋藤静司, 鈴木俊宏, 櫻庭 均: 血漿中 Lyso-Gb3 濃度の増加しないファブリー病症例群の解析, 第 85 回日本生化学会大会, 福岡, 2012. 12
- 128) 北風圭介, 辻 大輔, 浅沼大祐, 神谷真子, 浦野泰照, 櫻庭 均, 伊藤孝司: 酵素の分子構造改変に基づく Tay-Sachs 病治療薬の開発. 第 85 回日本生化学会大会. 福岡, 2012. 12
- 129) 難波建多郎, 辻 大輔, 櫻庭 均, 伊藤孝司: Tay-Sachs 病患者由来 iPS 細胞の樹立と中枢神経系モデルの構築. 第 85 回日本生化学会大会. 福岡, 2012. 12
- 130) 兎川忠靖, 月村考宏, 水戸部さゆり, 鈴木俊宏, 川島育夫, 櫻庭 均: ファブリー病で蓄積する糖脂質の解析. 第 85 回日本生化学会大会. 福岡, 2012. 12
- 131) 北風圭介, 辻 大輔, 浅沼大祐, 神谷真子, 浦野泰照, 櫻庭 均, 伊藤孝司: 酵素の分子構造改変に基づく Tay-Sachs 病治療薬の開発. 日本薬学会第 133 年会. 横浜, 2013. 3
- 132) 水戸部さゆり, 兎川忠靖, 月村考宏, 齋藤静司, 鈴木俊宏, 櫻庭 均: 血漿中 Lyso-Gb3 濃度の増加を伴わない特異なファブリー病患者群に関する研究. 日本薬学会第 133 年会. 横浜, 2013. 3
- 133) 月村考宏, 高澤かおり, 山下翔悟, 水戸部さゆり, 鈴木俊宏, 片山昌勅, 兎川忠靖, 櫻庭 均: グロボトリアオシルセラミドの新規測定法の開発: ファブリー病バイオマーカーへの応用. 日本薬学会第 133 年会



. 横浜, 2013. 3

- 134) 高田 大, 相澤良明, 月村考宏, 兎川忠靖, 鈴木俊宏, 櫻庭 均 : リソソーム酵素中のマンノース-6-リン酸残基の測定. 日本薬学会第 133 年会. 横浜, 2013. 3
- 135) 月村考宏, 高田 大, 相澤良明, 鈴木俊宏, 片山昌勅, 櫻庭 均, 兎川忠靖 : マンノース-6-リン酸残基の新規定量法の開発 : 組換えヒトリソソーム酵素解析への応用. 第 86 回日本生化学会大会. 横浜, 2013. 9
- 136) 北風圭介, 河野加菜子, 田島陽一, 櫻庭均, 伊藤孝司 : テイ サックス病の新規治療薬開発を目指した機能改変型ヒト -ヘキサミニダーゼ B の精製および評価. 第 86 回日本生化学会大会. 横浜, 2013. 9
- 137) 田島陽一, 芝崎 太, 櫻庭 均 : ポンペマウス骨格筋における p62 と Parkin の蓄積 . 第 36 回日本分子生物学会年会. 神戸, 2013. 12

G . 知的財産権の出願・登録状況 ( 予定を含む )  
該当なし

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

ムコ多糖症 II 型の遺伝子型、臨床型と治療酵素製剤に対する抗体産生に関する研究

分担研究者：田中 あけみ（大阪市立大学大学院医学研究科・准教授）

研究要旨

イズルスルファーゼ製剤にて酵素補充療法中のムコ多糖症 II 型症例について、治療効果と抗イズルスルファーゼ抗体産生の関係、および遺伝子変異との関係を検討した。臨床的重症型のなかのより軽症であるタイプ C 症例における遺伝子変異はミスセンス変異であり、より重症であるタイプ D は pseudogene recombination、ナンセンス変異、フレームシフト変異、大きな遺伝子欠失であった。タイプ C 症例では酵素補充療法中に高い抗体産生は認められなかったのに対し、タイプ D 症例では高い抗体産生が認められ、一部の症例で治療効果の減弱が見られた。このことから、ムコ多糖症 II 型重症型のなかで null mutation を持つ症例については、造血幹細胞移植を積極的に考慮すべきと結論された。

研究協力者

濱崎考史(大阪市立大学大学院医学研究科・講師)  
門野千穂・工藤聡志・坂口知子(大阪市立大学大学院医学研究科・技術職員)

A. 研究目的

2007年よりムコ多糖症II型の治療酵素製剤イズルスルファーゼ（エラプレース）が承認され、当科において16名の患者の治療を行っているが、一部の患者について高い抗体産生が認められ、治療効果の減弱が見られている。抗体産生と臨床型、遺伝子型との関係について検討した。

B. 研究方法

2年以上酵素補充療法を受けているムコ多糖症II型患者14名を重症度に従って下記のごとくA～Dのタイプに分類し、合わせて遺伝子型も調べた。

- タイプ A：知的障害なく、軽度の身体症状を認める。(n=4)
- タイプ B：知的障害なく、中等度以上の身体症状を認める。(n=1)
- タイプ C：知的障害が2歳以降に明らかとなる。(n=3)
- タイプ D：知的障害が2歳以前に明らかとなる。(n=6)

それぞれの患者について、抗体産生の経過を見た。

C. 研究結果

遺伝子解析では、タイプ A、B、C の患者においてはすべてミスセンス変異を持っていたのに

対し、タイプ D の患者では、ナンセンス変異、フレームシフト変異、あるいは大きな遺伝子欠失を持っていた。

肝臓容積と尿中ムコ多糖は、タイプ A、B の患者においては3～6か月の間に著明に減少し、その後も低値を保っていた。重症型のタイプ C の患者3症例についても同様であった(Fig. 1: C1, C2, C3)。タイプ D の pseudogene recombination の変異を持つ3症例(Fig. 2: D1, D2, D3)においても肝臓容積、尿中ムコ多糖ともに同様の低下を認めたが、ナンセンス変異、フレームシフト変異、大きな遺伝子欠失を認めた3症例(Fig. 3: D4, D5, D6)では、肝臓容積、尿中ムコ多糖にあまり低下が認められず、ASTも高値であった。

抗イズルスルファーゼ抗体は、タイプ A、B、C (Fig. 1) のすべての症例で陰性であったが、タイプ D の症例はすべて陽性であった。タイプ D における抗体上昇は、pseudogene recombination の3症例(D1, D2, D3)では投与後3～6か月でピークとなりその後横ばいであったが(Fig. 2)、ナンセンス変異、フレームシフト変異、大きな遺伝子欠失の3症例(D4, D5, D6)では3か月目から上昇しその後も上昇を続けた(Fig. 3)。

D. 考察

ムコ多糖症 II 型のなかで、臨床経過より重症のタイプ D と分類された症例は、遺伝子解析の結果においても recombination や欠失といった酵素蛋白が産生されていないあるいは構造が大きく異なっているような変異を持っており、臨床症状と矛盾しないものだった。また、これらの

症例では酵素製剤に対する抗体が産生され、酵素蛋白イズルスルファアーゼを異物として認識していると推測された。

タイプDのなかでも pseudogene recombination の症例では抗体価が上昇するものの、1000 倍付近で横ばいとなったのに対し、ナンセンス変異、フレームシフト変異、大きな遺伝子欠失の症例では抗体価が継続的に上がり続け、肝臓容積、尿中ムコ多糖の変化も少なく、酵素補充療法の治療効果の減弱が認められた。

この結果より、タイプD患者のうちのナンセンス変異、フレームシフト変異、大きな遺伝子欠失を持つ症例については、治療の選択肢として造血幹細胞移植を積極的に考えるのがよいと思われた。

#### E. 研究発表

##### 学会発表

- 1) Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in Mucopolysaccharidosis Type II Patients. 12<sup>th</sup> International Symposium on MPS and Related Disease 28 Jun-1 Jul, 2012, The Netherland
- 2) Tanaka A, Hamazaki T, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in the patients with Mucopolysaccharidosis Type II. SSIEM 2012, 4-7 Sep, 2012, England
- 3) Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme

Replacement Therapy in Mucopolysaccharidosis Type II Patients. 4<sup>th</sup> International Forum for Lysosomal Storage Disorders & 17<sup>th</sup> Japanese Society of Lysosomal Storage Disorders, 4-6 Oct, 2012, Tokyo

- 4) Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in the patients with Mucopolysaccharidosis Type II. 第54回日本先天代謝異常学会 2012年11月14-17日 岐阜
- 5) Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Genotype-phenotype correlation and the antibody formation against idursulfase in the course of enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis type II. 第55回日本先天代謝異常学会 2013年11月27-29日 千葉
- 6) Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Genotype-phenotype correlation and the antibody formation against idursulfase in the course of enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis type II. LDN World Symposium 2014, 10-13 Feb.2014, San Diego

#### F. 知的財産権の出願・登録状況 なし。

Fig.1. Type C with missense mutation (n=3)

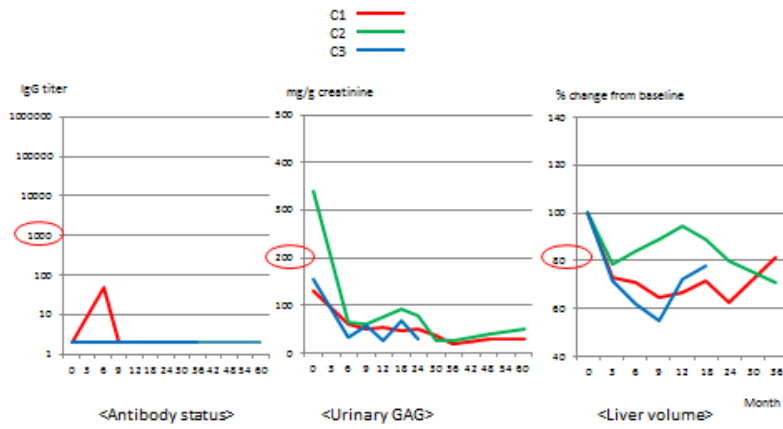


Fig. 2. Type D with pseudogene recombination (n=3)

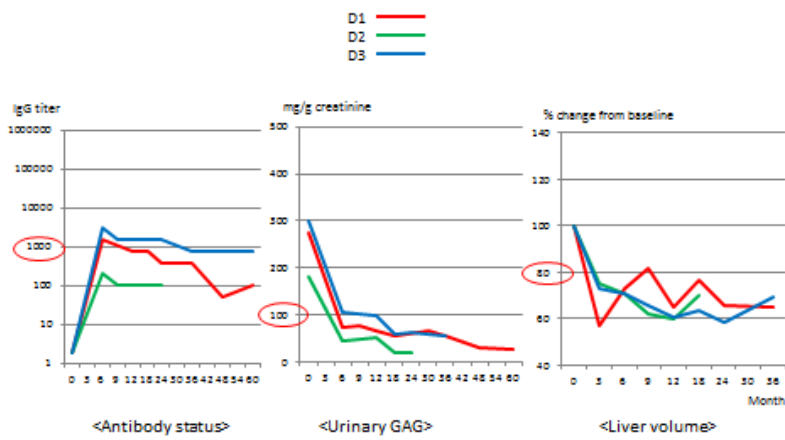
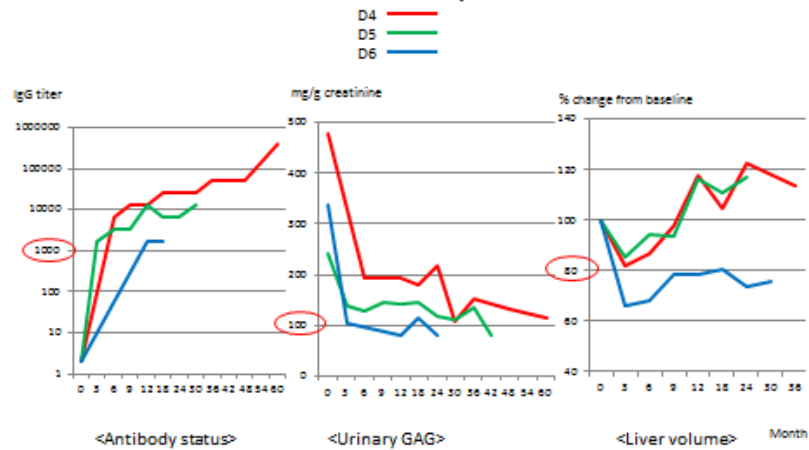


Fig. 3. Type D with nonsense mutation or large deletion (n=3)



## スフィンゴリピドーシスの病態解明および治療法開発に関する研究

分担研究者：松田 純子（川崎医科大学 特任教授）

### 研究要旨

スフィンゴ糖脂質のライソゾームにおける分解にはライソゾーム酵素に加えてサポシンと呼ばれる糖タンパク質が必要である。プロサポシンは4種類のサポシン A、B、C、D の前駆体タンパク質である。我々は、本研究課題において、サポシンおよびプロサポシンの機能解析を行い、下記の研究成果を得た。1) 均一な糖鎖を持つ化学合成サポシン C はゴーシェ病の欠損酵素であるグルコシルセラミド- $\beta$ -グルコシダーゼ酵素製剤に対して活性化作用、安定化作用、プロテアーゼからの保護作用を持つ。2) ガラクトシルセラミド- $\beta$ -ガラクトシダーゼとサポシン C の両欠損マウスでは脳組織にラクトシルセラミドが蓄積し、特定の領域の神経細胞が細胞死を起こす。3) サポシンおよびプロサポシンは胚組織である脱落膜、栄養膜細胞、卵黄嚢細胞に強く発現し、マウスの胚発生において重要である。4) プロサポシン強発現マウスは網膜視細胞の変性・脱落を呈する。これらの成果はサポシンおよびプロサポシンの新たな機能を示しており、スフィンゴリピドーシスの病態解明と治療法開発への今後の展開が期待される。

### A. 研究目的

スフィンゴ糖脂質は生体膜を構成する脂質成分の一つである。スフィンゴリピドーシスはライソゾームにおけるスフィンゴ糖脂質の分解異常症で、多くは重篤な神経病変を呈する。スフィンゴ糖脂質のライソゾームにおける分解には、疎水性のスフィンゴ糖脂質と親水性の加水分解酵素を相互作用させるために、加水分解酵素（ライソゾーム酵素）に加えて、サポシンと呼ばれる疎水性の糖タンパク質が必要である。サポシンは前駆体タンパク質のプロサポシンからライソゾーム内でのプロテアーゼ分解を受け、4種類のサポシン A、B、C、D が生成される。各サポシンは構造的に極めて相同性が高いが、ヒトの欠損症やモデルマウスの解析から、生体内においていくつかのオーバーラップがあるものの、特定のライソゾーム酵素を活性化する（Sandhoff

K. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 88, 554-582, 2012.) (図 1)。一方、プロサポシンは脳脊髄液、精液、母乳などの細胞外分泌液に豊富に存在することから、神経栄養因子、精子形成促進因子などの独自の生理活性が示唆されているが未だ不明な点が多い。

ヒト PSAP 欠損症はこれまでに世界で4家系の報告があるが、いずれの報告例も重篤な神経症状と著明な肝脾腫を呈し、新生児早期に死亡している。1996年に藤田らによって作製されたプロサポシンノックアウトマウス (*Psap*-KO) は全 SAPs の欠損により全身組織に多彩な GSL が蓄積し、重篤な神経症状を呈して生後30日前後で死亡する (Fujita N. et al. *Hum. Mol. Genet.* 5, 711-725, 1996.)。

我々は、先行研究において、SAP-A、SAP-C、SAP-D の特異的欠損マウスを世界に先駆けて作製し、スフィンゴ脂質蓄積症（スフィンゴリピド

ーシス)の病態解明に取り組んできた。我々は、本研究課題において、フィンゴリピドーシスの神経病態の解明と治療法開発を目指し、各種モデルマウスを用いてサポシンおよびプロサポシンの機能解明を行った。

## B. 研究成果

### 1) グルコシルセラミド-β-グルコシダーゼに対する化学合成サポシン C の影響の検討

サポシン C はゴーシェ病の欠損酵素：グルコシルセラミド(GlcCer)-β-グルコシダーゼ(GCase)の活性化タンパク質である。ゴーシェ病の治療には酵素補充療法が有効である。しかし、酵素製剤は血中で不安定であり、酵素の安定性を高める低分子化合物の開発や、より安定で活性の高い酵素製剤の開発などの取り組みが行われている。そこで、我々は均一なアスパラギン結合型糖鎖をもつ3種類の化学合成サポシン C (無糖、1糖、9糖付)を用いて、サポシン C による GCase 酵素製剤 (セレザイム<sup>®</sup>) の活性化能、安定化能、プロテアーゼからの保護能を検討した。

サポシン C は疎水性のタンパク質で、その不溶性から化学合成が難しいタンパク質である。東海大学の北條らは、N 端側ペプチド鎖 Val<sup>1</sup>-Ala<sup>34</sup> を O-アシルイソペプチド法を併用した Boc (t-butoxycarbonyl) 法で、C 端側ペプチド鎖 Cys<sup>35</sup>-Arg<sup>80</sup> を、Fmoc (fluorenylmethoxycarbonyl) 法で固相合成し、両者をネイティブケミカルライゲーション法で縮合して、マウスサポシン C のペプチド鎖部分を合成した (Hojo H. et al. *Tetrahedron Lett.* 52, 635-639, 2011.)。同様の方法を用いてサポシン C の、21 番目のアスパラギンに GlcNAc を導入した 1 糖付サポシン C を合成し、Glycosynthase (Endo-M) によって複合型の 8 糖を転位して 9 糖付サポシン C を合成した (Hojo H. et al. *J. Org. Chem.* 77, 9437-9446, 2012.)。

まず GCase の活性化能を、セレザイム<sup>®</sup>を酵素

源、4-メチルウンベリフェロン-β-D-グルコシド (4MU-Glc) を基質として、界面活性剤 Triton X-100 非存在下、ホスファチジルセリン存在下のアッセイ系で検討した。その結果、糖鎖なし、1糖付、9糖付いずれの化学合成サポシン C も GCase の酵素活性を濃度依存的に同等に上昇させ、2μM のサポシン C 存在下で約 30 倍の活性上昇が得られた。次に低濃度下のセレザイム<sup>®</sup>の安定性に対するサポシン C の影響を検討した。セレザイム<sup>®</sup>を 20nM に溶解すると 37 °C で 30 分後には活性は半分以下になり、2 時間後には測定限界を下回るが、化学合成サポシン C と BSA を 0~1.5μM の濃度で添加し、37 °C で 2 時間インキュベーション後の GCase 活性を比較したところ、化学合成サポシン C が BSA に比しより低濃度で GCase 活性の低下を抑制した。GCase のプロテアーゼによる分解の抑制能を GCase のイムノプロットで検討した結果、化学合成サポシン C の添加によってカテプシン D によるセレザイム<sup>®</sup>の分解が有意に抑制された。以上の結果から、サポシン C はセレザイム<sup>®</sup>の活性化だけでなく、安定化やプロテアーゼからの保護作用もあることがわかった。

これらの結果は、ゴーシェ病の酵素補充療法において、酵素製剤であるセレザイム<sup>®</sup>とサポシン C の共投与の有用性を示唆している。今後は、ゴーシェ病モデルマウスにおけるセレザイム<sup>®</sup>とサポシン C との共投与の効果などを検討する必要がある。

### 2) ラクトシルセラミド蓄積マウスの作製と表現型解析

ラクトシルセラミド (LacCer) はゴルジ体で LacCer 合成酵素により合成され、ガングリオ系、グロボ系などの多様なスフィンゴ糖脂質の合成の起点になる重要な中間体である。LacCer は好中球をはじめ血球細胞に豊富に存在し、炎症反応時に細胞膜上の“マイクロドメイン”を構成して、細胞内外からのシグナル伝達に参与することが報告されている。LacCer のライソゾームにおける分

解にはガラクトシルセラミド (GalCer)- $\beta$ -ガラクトシダーゼ (GALC) と GM1- $\beta$ -ガラクトシダーゼ (BGAL) の2つの $\beta$ -ガラクトシダーゼに加え、複数のサポシンが関わりとされている。そこで、GALC の遺伝的欠損マウスでクラッペ病のモデルマウスである *Twitcher* マウス (*Galc*<sup>-/-</sup>) とサポシン C の欠損マウス (*Sap-C*<sup>-/-</sup>) の交配により GALC とサポシン C の両欠損マウス (*Galc*<sup>-/-</sup>, *Sap-C*<sup>-/-</sup>) を作製し、LacCer 蓄積マウスの作製を試みた。脳組織の脂質分析の結果、*Galc*<sup>-/-</sup>, *Sap-C*<sup>-/-</sup> では *Galc*<sup>-/-</sup> に比して LacCer が優位に蓄積していた (図 2)。*Galc*<sup>-/-</sup>, *Sap-C*<sup>-/-</sup> は *Galc*<sup>-/-</sup> より重篤な神経症状を呈し、短命であった。神経病理学的解析の結果、*Galc*<sup>-/-</sup>, *Sap-C*<sup>-/-</sup> では *Galc*<sup>-/-</sup> には認められない神経細胞死を、海馬 CA2 錐体細胞、嗅内皮質等の領域に特異的に認め、抗 LacCer 抗体を用いた免疫組織染色で、これらの脳領域では LacCer が蓄積していた。これらの結果からサポシン C は BGAL による LacCer の分解に必須であり、LacCer の蓄積は特定の神経細胞に細胞死を引き起こすことが明らかになった。また、クラッペ病の神経病態への LacCer の分解異常の関与も示唆する。

### 3) プロサポシンノックアウトマウス胚の表現型解析

プロサポシンノックアウトマウス (*Psap-KO*) はスフィンゴ脂質が全身組織に蓄積し、生後30日程度で死に至ることがわかっているが、その出生率が極めて低いことが示されていたが胎仔の解析は十分にはなされていなかった (Fujita N. et al. *Hum Mol Genet.* 6, 711-725, 1996.)。そこで、*Psap-KO* マウスの胎生致死の原因解明を目的に、*Psap-KO* マウスの胚の解析とマウス胎生期のプロサポシン/サポシンの発現変化を検討した。

*Psap* ヘテロマウス同士を交配して、胎齢 6.5 日 (E6.5) から E19.5 まで経時的に遺伝子型別の存在率を決定した。その結果、*Psap-KO* マウスは E10.5 頃から存在率が低下し、多くが胎生致死

であることがわかった (図 3)。胚の病理組織学的検討を行った結果、*Psap-KO* マウスは胎生早期の E7.5-9.5 頃から胚発生の遅延が見られ、臍側卵黄嚢の形態変化が認められた。臍側卵黄嚢内皮細胞に存在する巨大ライソゾームにエンドサイトーシスされることの知られている IgG を抗 IgG 抗体で免疫組織染色したところ、プロサポシン欠損マウスでは IgG の免疫反応性が弱く、巨大ライソゾームの大きさが不均一であることがわかった。胎盤では海綿状栄養膜の低形成が観察された。

次に野性型マウス胚を用いて胎生期のプロサポシンおよびサポシンの時空間的な発現変化をイムノプロットと免疫組織染色により検討した。イムノプロット解析の結果、E6.5の胚ではプロサポシン、サポシン共に殆ど発現を認めないのに対し、E7.5ではプロサポシンの発現量が急激に増加し、E10.5頃より低下することが分かった。羊水中にもプロサポシンが検出され、発現のピーク E10.5-11.5で、胎生後期にかけて発現量が減少した。*Psap-KO* マウスの羊水ではプロサポシンが検出されなかったことから、羊水中のプロサポシンは胎仔由来と考えられた。

免疫組織染色の結果、プロサポシン/サポシンは胎生初期の E7.5 頃から母体由来組織である脱落膜、胎仔由来の細胞である栄養膜巨細胞、臍側卵黄嚢内皮細胞の巨大ライソゾーム内に明瞭な発現を認めた。E10.5以降は胎盤の母体由来である脱落膜と、胎仔由来である栄養膜巨細胞および海綿状栄養膜細胞に発現を認めた。*Psap-KO* マウスの胚では、胚体組織および胎盤の栄養膜巨細胞、海綿状栄養膜の発現は消失していたが、脱落膜、臍側卵黄嚢の発現は野性型マウスと同等に認められたことから、脱落膜周辺、臍側卵黄嚢プロサポシン/サポシンは母体由来であると考えられた。

これらの結果から、プロサポシン/サポシンは胚発生において重要な生物機能を持つことが示唆された。臍側卵黄嚢内皮細胞は胎盤が形成される以前において、エンドサイトーシスにより母体

からの栄養成分を取り込み、巨大ライソゾーム内で分解し、胎仔へ供給する組織と考えられており、その機能異常が*Psap*-KOマウスの胎生致死の原因である可能性がある。今後は胚組織由来の細胞を用いたプロサポシンの機能解析が必要である。

#### 4) プロサポシン強発現マウス (*PSAP-Tg*) の表現型解析

プロサポシンの新規機能を探索する目的でプロサポシン強発現マウス (*PSAP-Tg*) を作製し、その表現型解析を行った。*PSAP-Tg* は東海大学医学部分子生命科学の吉村真一博士らによって、マウス *ROSA26* 遺伝子座位に CAG-ヒト *PSAP* cDNA- PolyA カセットを挿入し作製された。*PSAP-Tg* マウスは正常に出生し寿命は 1 年以上であったが、組織病理学的解析の結果、*PSAP-Tg* マウスの網膜では視細胞が 3 週齢ころから脱落し、5 週齢にはアストログリアおよびマイクログリアの活性化を伴い完全に消失することが明らかになった (図 4)。網膜におけるプロサポシン/サポシンの発現をイムノプロットと免疫組織染色で検討したところ、プロサポシン/サポシンは網膜色素上皮細胞、視細胞外節、神経節細胞に強い発現が認められた。一方、*Psap*-KO マウスおよびサポシン A、C、D の各欠損マウスには網膜変性の所見を認めなかった。

*PSAP-Tg* マウスの網膜では網膜色素上皮細胞に隣接する錐体、桿体からなる視細胞層が生後 3 週齢頃から進行性に变性・脱落することが明らかになった。これまでにプロサポシンのサポシンへの分解にかかわるカテプシン D の欠損マウスが網膜変性を呈することが報告されている (Koike M., et al. *Mol. Cell Neurosci.* 22, 146-161, 2003.)。カテプシン D は神経セロイドリポフスチノーシス (NCLs) の原因遺伝子の一つである。NCLs は網膜病変による視力障害、てんかん、精神退行を特徴とする進行性神経変性疾患で、現在 14 の原因遺伝子 (CLN1 - CLN14) が知られ

ており、カテプシン D 欠損症を含むいくつかの病型ではサポシン-A および D の細胞内蓄積を認める。一方、豊福らは、網膜色素変性症の原因遺伝子の一つであるセマフォリン 4A (*Sema4A*) のノックアウトマウス (*Sema4A*-KO) が網膜視細胞の変性を呈することを見出し、その分子メカニズム解析から、網膜色素上皮細胞に発現する *Sema4A* はプロサポシン と相互作用し、細胞外へのプロサポシンのエキソサイトーシスに必須であることを発見した (Toyofuku T. et al. *Genes Dev.* 26, 816 -829, 2012.)。 *Psap*-KO マウスは病末期においても網膜変性を呈さないことから *Sema4* 欠損による視細胞脱落の原因は、プロサポシンが網膜色素上皮細胞内にとどまることが原因であると考えられる。今後はプロサポシン/サポシンの細胞内蓄積が網膜変性を引き起こす分子メカニズムを明らかにする必要がある。

網膜色素変性症は失明の主要原因であり、神経セロイドリポフスチノーシス (NCLs) をはじめ多くのライソゾーム病では網膜色素変性症を合併する。*PSAP-Tg* マウスの解析により、網膜におけるプロサポシンの機能と視細胞変性の分子メカニズムを明らかにすることは、ライソゾーム病態解明に加え、網膜色素変性症の病態メカニズムの解明、予防や治療方法の開発にもつながることが期待される。

#### C. 結論

近年、サポシンには、ライソゾーム加水分解酵素のコファクターとしての機能に加え、脂質抗原提示能や小胞膜融合促進能などの新たな機能が報告されている。一方、プロサポシンは 4 種類のサポシン A、B、C、D の前駆体タンパク質であるが、細胞外にも分泌され、神経栄養因子などの独自の生物機能が示唆されている。本研究によってプロサポシン/サポシンの新たな機能が示された。これが契機となりプロサポシン、サポシン研究の新しい展開がなされると予想される。



- 1) 均一な糖鎖を持つ化学合成サポシン C を用いて、サポシン C がゴーシェ病の欠損酵素であるグルコシルセラミド-β-グルコシダーゼ酵素製剤に対して活性化作用、安定化作用、プロテアーゼからの保護作用を持つことを明らかにした。この成果はゴーシェ病に対する酵素補充療法におけるサポシン C 補充の有用性を示している。
- 2) クラッペ病の欠損酵素である GALC とサポシン C の両欠損マウスを作製したところ、脳組織に LacCer が蓄積し、クラッペ病の神経病態が増悪することが明らかになった。この成果はサポシン C が BGAL による LacCer の分解に必須であり、クラッペ病の神経症状に LacCer の分解異常が関与することを示している。
- 3) プロサポシンおよびサポシンはマウス胚において脱落膜、栄養膜細胞、卵黄嚢細胞に強く発現し、羊水中にも分泌されることを明らかにした。この成果はプロサポシン/サポシンがマウスの胚発生に必須であることを示している。
- 4) PSAP-Tg マウスの網膜では色素上皮細胞に隣接する視細胞層が進行性に変性・脱落することを明らかにした。この成果は、網膜におけるプロサポシン、サポシンの新たな機能を示している。

本研究は東海大学の「遺伝子組換え実験安全委員会」および「動物実験委員会」、川崎医科大学の「組換えDNA 実験安全委員会」および「動物実験委員会」から承認を得て施行された。

#### D. 研究発表

##### 1. 誌上発表

##### 論文

- 1) Yoneshige, A., Suzuki, K., Suzuki, K., and Matsuda, J.: A mutation in the saposin C domain of the sphingolipid activator protein (prosaposin) gene causes neurodegenerative disease in mice. *J. Neurosci. Res.* 88: 2118-2134, 2010.

- 2) Hojo, H., Katayama, H., Tano, C., Nakahara, Y., Yoneshige, A., Matsuda, J., Sohma, Y., Kiso, Y., and Nakahara, Y.: Synthesis of the sphingolipid activator protein, saposin C, using an azido-protected O-acyl isopeptide as an aggregation- disrupting element. *Tetrahedron Lett.* 52: 635-639, 2011.
- 3) Suzuki, A, Miyazaki, M, Matsuda, J, Yoneshige, A.: High-performance thin-layer chromatography/mass spectrometry for the analysis of neutral glycosphingolipids. *Biochim. Biophys. Acta. (Molecular and Cell Biology of Lipids)*, 1811, 861-874, 2011.
- 4) 松田純子：サポシン欠損と神経機能障害．脳 21「特集；糖鎖と神経疾患 糖脂質」金芳堂．14, 55-60, 2011.
- 5) Toyofuku, T., Nojima, S., Ishikawa, T., Takamatsu, H., Tsujimura, T., Uemura, A., Matsuda, J., Seki, T., and Kumanogoh, A.: Endosomal sorting by Semaphorin 4A in retinal pigment epithelium supports photoreceptor survival. *Genes Dev.* 26, 816-829, 2012.
- 6) Hisaki, H., Matsuda, J., Tadano-Aritomi, K., Uchida, S., Okinaga, H., Miyagawa, M., Tamamori-Adachi, M., Iizuka, M., and Okazaki, T.: Primary polydipsia, but not accumulated ceramide, causes lethal renal damage in saposin D-deficient mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 303, F1049-1059, 2012.
- 7) Hojo, H., Tanaka, H., Hagiwara, M., Asahina, Y., Ueki, A., Katayama, H., Nakahara, Y., Yoneshige, A., Matsuda, J., Ito, Y., Nakahara, Y.: Chemoenzymatic synthesis of hydrophobic glycoprotein: synthesis of saosin C carrying complex-type carbohydrate. *J. Org. Chem.* 77, 9437-9446, 2012.
- 8) Murakami, I, Mitsutake, S, Kobayashi, N, Matsuda, J, Suzuki, A, Shigyo, T, Igarashi, Y. : Improved

high-fat diet-induced glucose intolerance by an oral administration of phytosphingosine. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 77, 194-197. 2013.

## 図書

- 1) 松田純子：シアリドーシス．ライソゾーム病—最新の病態、診断、治療の進歩．診断と治療社．P.223-225, 2011.
- 2) 松田純子、米重あづさ：サポシン欠損症．ライソゾーム病—最新の病態、診断、治療の進歩．診断と治療社．P.180-183, 2011.
- 3) 松田純子：シアリドーシス．先天代謝異常症候群 第2版(下) - 病因・病態研究、診断・治療の進歩 - . 日本臨牀．別冊 p.580-583. 2012.
- 4) 松田純子、米重あづさ：サポシン C 欠損症．先天代謝異常症候群 第2版(下) - 病因・病態 研究、診断・治療の進歩 - . 日本臨牀．別冊 p.518-522. 2012.
- 5) 松田純子、米重あづさ：サポシン B 欠損症．先天代謝異常症候群 第2版(下) - 病因・病態 研究、診断・治療の進歩 - . 日本臨牀．別冊 p.513-517. 2012.
- 6) 松田純子、米重あづさ：サポシン A 欠損症．先天代謝異常症候群 第2版(下) - 病因・病態 研究、診断・治療の進歩 - . 日本臨牀．別冊 p.508-512. 2012.
- 7) 松田純子：シアリドーシス．先天代謝異常ハンドブック．中山書店．p.212-213, 2013.

## 2. 学会発表

- 1) Yoneshige, A., and Matsuda, J. : Deficiency of saposin C in the mouse model of Krabbe disease showed neurodegeneration with accumulation of lactosylceramide. The 25<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2010), August, 2010, Makuhari, Japan.
- 2) Mutou, M., Yoneshige, A., and Matsuda, J. : Lack

of prosaposin in mice causes embryonic lethal phenotype and placental dysgenesis. The 25<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2010), August, 2010, Makuhari, Japan.

- 3) Matsuda, J., and Yoneshige, A. : The role of sphingolipid activator protein, saposins A-D in the nervous system: lessons learnt from mouse models of specific saposin deficiencies. Naito Conference: Glycan Expression and Regulation [I]: Functions and Disease mechanisms. August, 2010, Kanagawa, Japan.
- 4) Hojo, H., Katayama, H., Onuma, Y., Nakahara, Y., Yoneshige, A., Matsuda, J., and Nakahara, Y. : Synthetic study of sphingolipid activator glycoprotein, saposin C. 第46回ペプチド討論会 2009年11月 福岡 .
- 5) 松田純子、武藤真長、米重あづさ、渡辺 昂 . : マウス胚発生におけるプロサポシンの役割 . 第52回日本先天代謝異常学会 2010年10月 大阪 .
- 6) 松田純子 .ラクトシルセラミドの蓄積と神経細胞死 .第8回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム . 2010年11月 東京・品川 .
- 7) 米重あづさ、渡辺 昂、武藤真長、松田純子 . : サポシン C 欠損 *twitcher* マウスにおける領域特異的な神経細胞死の解析. BMB2010 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会. 2010年12月 神戸 .
- 8) 武藤真長、米重あづさ、渡辺 昂、松田純子 . : マウス胚発生におけるプロサポシンの役割. BMB2010 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会 . 2010年12月 神戸 .
- 9) 久樹晴美、只野 - 有富桂子、内田俊也、松田純子、岡崎具樹 . : Saposin D 欠損マウスの多飲・多尿は中枢性の飲水行動異常によって引き起こされる. BMB2010 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会 .

- 2010年12月 神戸 .
- 10) 松田純子、米重あづさ、武藤真長、渡辺 昂 .: クラッペ病モデルマウスにおけるラクトシルセラミドの蓄積と神経細胞死 .第 15 回日本ライソゾーム病研究会 . 2010 年 12 月 東京 .
  - 11) Yoneshige A, Muto M, Matsuda J. Prosaposin during the embryogenesis of mouse. The 31<sup>st</sup> Naito conference: Glycan Expression and Regulation [II]: Metabolites, Stress Response, Microdomains, and Beyond. Sapporo, Japan, September, 2011.
  - 12) 武藤真長、米重あづさ、渡辺 昂、松田純子 .: マウス胚発生におけるプロサポシンの役割 . 第 84 回日本生化学会大会 2011 年 9 月 京都 .
  - 13) 米重あづさ、田野千春、北條裕信、松田純子 .: グルコシルセラミド- $\beta$ -グルコシダーゼ活性に対する化学合成サポシン C の影響 . 第 84 回日本生化学会大会 . 2011 年 9 月 京都 .
  - 14) 米重あづさ、田野千春、北條裕信、松田純子 .: グルコシルセラミド- $\beta$ -グルコシダーゼ活性に対する化学合成サポシン C の影響、第 16 回日本ライソゾーム病研究会 . 2011 年 9 月 東京 .
  - 15) 武藤真長、米重あづさ、昼沢良介、吉村真一、松田純子 .: プロサポシン強発現マウス胚組織の表現型解析 . 第 85 回日本生化学会大会 . 2012 年 12 月 福岡 .
  - 16) 昼沢良介、武藤真長、米重あづさ、吉村真一、松田純子 .: プロサポシン強発現マウスの精巢の表現型解析 . 第 85 回日本生化学会大会 . 2012 年 12 月 福岡 .
  - 17) 米重あづさ、北條裕信、武藤真長、松田純子 .: 化学合成サポシン C のグルコシルセラミド  $\beta$  グルコシダーゼ活性への影響 .第 85 回日本生化学会大会 . 2012 年 12 月 福岡 .
  - 18) 吉川 彩、武田選理子、米重あづさ、松田純子 .: クラッペ病モデルマウスの免疫組織の病態解析 .第 85 回日本生化学会大会 .2012 年 12 月 福岡 .
  - 19) 吉川 彩、武田選理子、米重あづさ、松田純子 .: クラッペ病モデルマウスの免疫系組織の病態解析 .第 54 回日本先天代謝異常学会 .2012 年 11 月 15-17 日 岐阜 .
  - 20) Yoneshige A., Hojo H., Mutou M., Matsuda J.: The activity of chemically synthesized saposin C on glucosylceramide- $\beta$ -glucosidase 第 4 回国際ライソゾーム病フォーラム 第 17 回日本ライソゾーム病研究会 . 2012 年 10 月 4-6 日 東京 .
  - 21) Mutou M, Yoneshige A, Watanabe T, Matsuda J.: Role of prosaposin in the embryogenesis of mouse. The 26<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2012), P238, July, 22-27, 2012, Madrid, Spain.
  - 22) Yoneshige A, Mutou M, Watanabe T, Tano C, Hojo H, Matsuda J. : The effects of chemically synthesized saposin C on glucosylceramide- $\beta$ -glucosidase. The 26<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2012), P611, July, 22-27, 2012, Madrid, Spain.
  - 23) Matsuda J, Ono K, Muto M, Yoneshige A, Yoshimura S.: Overexpression of prosaposin causes severe retinal degeneration in mouse. 第 55 回日本先天代謝異常学会 . 2013 年 11 月 27-29 日 舞浜 .
  - 24) 久樹晴美、只野 - 有富桂子、宮川誠、内田俊也、松田純子、戸田年総、岡崎具樹 . : Saposin D 欠損マウスの 2D-DIGE タンパク質発現解析 - 炭酸脱水酵素(CA2)との関連 . 第 86 回日本生化学会大会 . 2013 年 9 月 11-13 日 横浜 .
- E. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)  
該当なし

図1 サポシンはライソゾームにおけるスフィンゴ糖脂質の分解に必須である

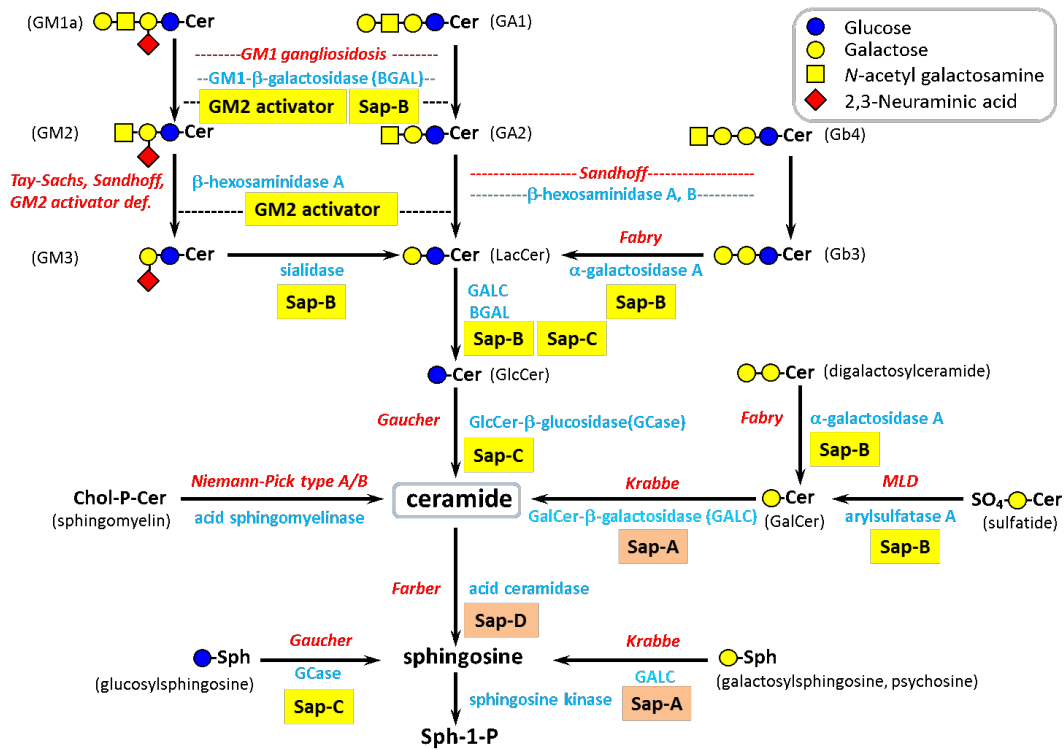
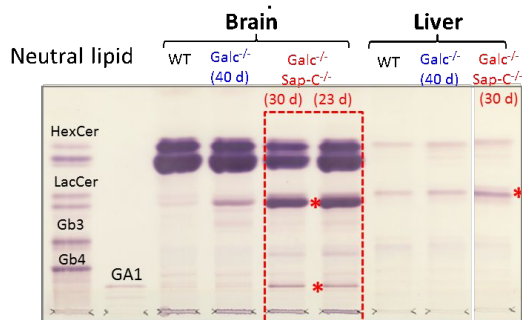
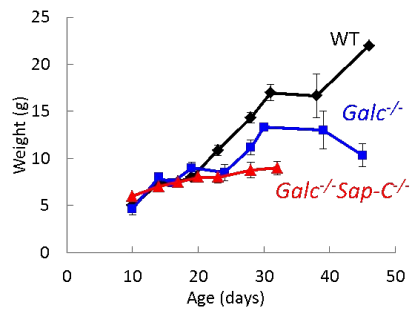


図2 GALC と SAP-C 両欠損マウスの脳組織には LacCer が蓄積する

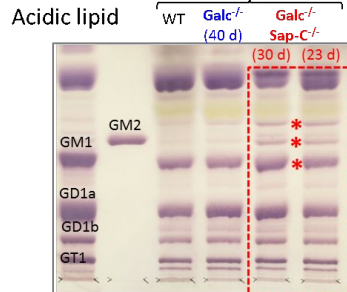
Massive accumulation of LacCer in the brain of *Galc*<sup>-/-</sup>*Sap-C*<sup>-/-</sup>



Body weight gain of *Galc*<sup>-/-</sup>*Sap-C*<sup>-/-</sup> mice



Acidic lipid



Survival rate of *Galc*<sup>-/-</sup>*Sap-C*<sup>-/-</sup> mice

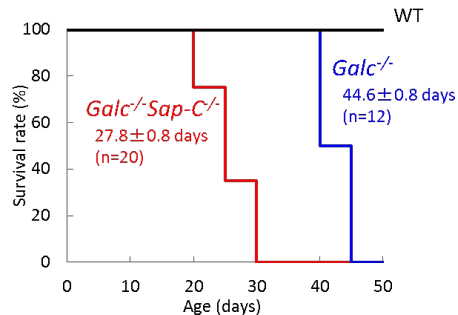


図3 プロサポシンノックアウトマウスの多くは胎生致死である

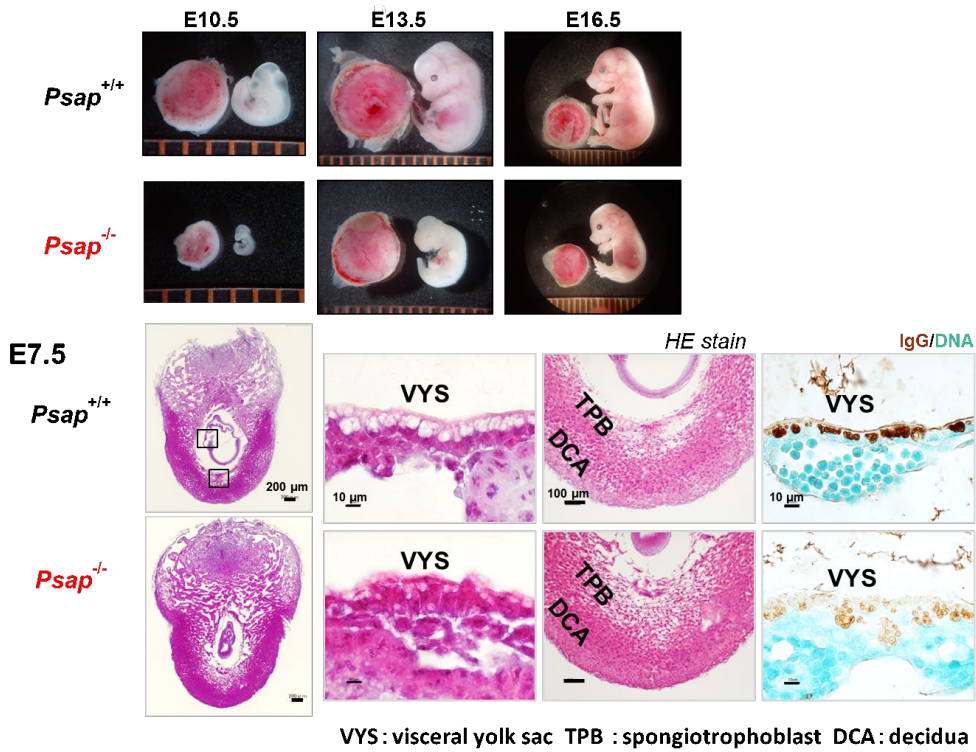
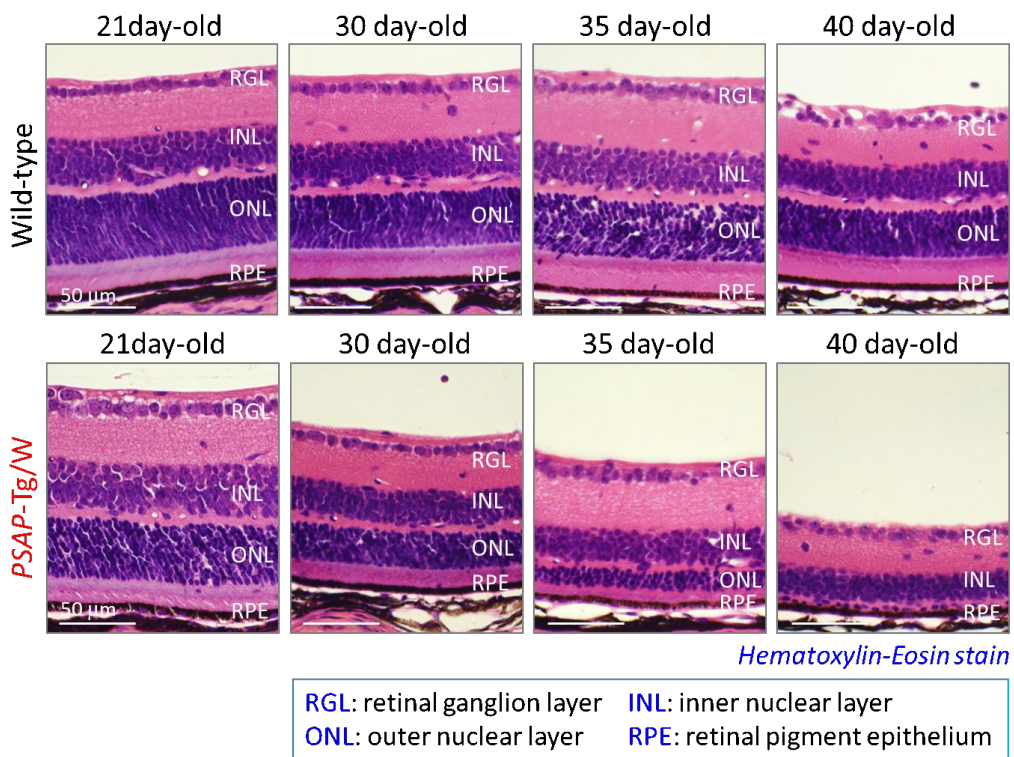


図4 プロサポシントランスジェニックマウスは網膜視細胞の変性・脱落を呈する



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究年度終了報告書

心筋細胞治療を目指したポンペ病 iPS 細胞に対する遺伝子治療

分担研究者：大橋十也（東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター遺伝子治療研究部）

研究要旨

われわれは遅発型ポンペ病 iPS 細胞を用いて、ポンペ病の心合併症の発症メカニズムの検討を行った。心筋細胞に分化誘導を行ったところ、明らかなサルコメアの異常は見られなかったが、細胞質にはライソゾームの腫大とグリコーゲンの蓄積が見られ、遅発型ポンペ病での心合併症のメカニズムの一部を解明した。

研究協力者氏名：

佐藤 洋平（東京慈恵会科大学遺伝子治療研究部  
大学院生）

A . 研究目的

ポンペ病はグリコーゲンの加水分解酵素の欠損により、ライソゾームにグリコーゲンが蓄積する常染色体劣性遺伝のライソゾーム病である。進行性の筋力低下、呼吸不全、肥大型心筋症などの臨床症状を呈するが、症状の出現時期によって乳児型と遅発型の2つの臨床型に大別される。

2007年より本邦でも酵素補充療法が開始されたが、酵素補充療法への反応に関しては個人差があり、新規治療法の開発が急務となっている。

なぜグリコーゲンの蓄積が細胞機能不全を起こすのかは依然として不明である。新規治療法の開発を行う上で、ポンペ病の病態に関するメカニズムの解明が必要と考えられる。そのため、心筋や骨格筋などの標的臓器での病態を正確に反映する *in vitro* モデルの開発が期待されている。

2011年に台湾の研究グループによって乳児型ポンペ病患者から iPS 細胞が樹立され、心筋様細胞に分化させたという報告がなされた。

われわれは日本人の遅発型ポンペ病患者より樹立した iPS 細胞を用いて *in vitro* でポンペ病の病態再現をすることを目的に研究をしている。また、レンチウイルスベクターにより欠損酵素である GAA を発現させることで、遺伝子修復した iPS 細胞を作成し、治療効果の検討や病態の解明を目指して研究を行った。

B . 研究方法

熊本大学発生医学研究所で樹立された遅発型ポンペ病 iPS 細胞3クローン（HPS0175, 0176, 0177）の提供を受ける。iPS 細胞としての品質を検証するため、免疫蛍光染色（SSEA4, Tra-1-60, Tra-1-80）や未分化マーカー（Oct, Sox, Nanog）などの iPS 細胞に特徴的な分子マーカーの発現を確認する。

また、疾患特異的 iPS 細胞の研究において特に注意すべきである“クローン間での表現型の差”に関しては、iPS 細胞を電子顕微鏡で観

察することでグリコーゲンの蓄積などの病理学的特徴に関して評価を行い、検証する。

心筋細胞の分化誘導に関しては、従来用いられてきた胚葉体を經由して分化誘導する方法は、効率が低く、未熟型の心筋細胞しか誘導できないことが問題とされていた。近年注目されている Wnt 阻害薬を使用したプロトコルを用いて、Robust な分化誘導を行い、効率よく、成熟型の心筋細胞の誘導を試みる。

また、欠損遺伝子の GAA を発現するような第 3 世代レンチウイルスベクターをクローニングする。また、蛍光蛋白である Venus を発現するベクターを同時に作成する。HEK293A 細胞や健康人由来 iPS 細胞に感染させて、GAA の酵素活性および Venus の陽性率を測定することで、遺伝子の導入効率と治療効果の最適化を行う。

最終的に、レンチウイルスベクターを用いて遺伝子修復を行ったポンペ病 iPS 細胞を作成する。さらに、遺伝子修復した iPS 細胞を心筋細胞に分化誘導することで、治療効果に関して生化学的・病理学的に判定する。

### C . 研究結果

ポンペ病iPS細胞のcharacterizationに関しては、いずれのクローンにおいてもALPだけでなく、SSEA-4、Tra-1-60、Tra-1-81などの未分化マーカーが陽性であることから、iPS細胞であることが確認された。

電子顕微鏡でiPS細胞を観察したところ、いずれの細胞もライソゾームにグリコーゲンの蓄積が確認された。しかし、明らかなクローン間での表現型の違いは見られなかった。

ポンペ病iPS細胞から分化誘導した心筋細胞にはグリコーゲンの蓄積やライソゾームの腫大などのポンペ病に特徴的な病理学的変化が観察

された。アクチンやミオシンなどのサルコメアレベルでの明らかな構造異常は認められなかった。

レンチウイルスベクターをHEK293A細胞、ならびに健康人由来iPS細胞に感染させたところ、容量依存性にGAAおよびVenusが発現することが確認された。

現在、ポンペ病iPS細胞に対しても同様のプロトコルで遺伝子導入を行うことを予定している。ポンペ病iPS細胞においてGAAの発現が確認できた場合には、心筋細胞に分化させることで治療効果の検討を行う予定となっている。

(倫理面への配慮)

東京慈恵会医科大学倫理委員会から承認を得ている

### D . 考察

本研究に使用した遅発型ポンペ病 iPS 細胞は未分化マーカー陽性であり、iPS 細胞としての性質を持っていることが確認された。

疾患特異的 iPS 細胞の研究においては、クローン間での表現型の違いがしばしば問題になることがあるが、本研究で使用した iPS 細胞に関しては、3 クローンのうち明らかな表現型の違いは見られなかった。

すでに乳児型ポンペ病では、iPS 細胞から心筋細胞に分化させた場合に、グリコーゲンの蓄積やライソゾームの腫大が見られると報告されている。遅発型ポンペ病でも乳児型に比較してより軽症ではあることが多いが、一部の患者では心肥大などの心合併症がみられることが報告されている。

われわれは遅発型ポンペ病 iPS 細胞から心筋細胞を分化させた場合でも、同様の病理学的変化が見られることを見出した。

また、家族性肥大型心筋症の原因となる、サルコメア蛋白異常症などで見られるような、錯綜配列などのサルコメアの構造異常は見られないことから、ポンペ病の心肥大のメカニズムとして、細胞質でのライソゾームの腫大による細胞肥大が影響している可能性が示唆された。

今後研究を進めるにあたり、乳児型ポンペ病との病態比較や、骨格筋や肝細胞などの他の標的臓器の細胞への分化誘導を試みる予定となっている。

#### E . 結論

遅発型ポンペ病から誘導した心筋細胞でも、グリコーゲンの蓄積とライソゾームの腫大が見られた。遅発型ポンペ病で見られる心筋病変の病態再現に成功し、メカニズムの一部を解明した。

#### F . 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

- 1) Y.Sato, T Higuchi, H Kobayashi et al.  
“Cardiomyocyte differentiation of Pompe disease specific iPSC following lentiviral gene therapy” The 7<sup>th</sup> TAKAO International Symposium
- 2) Y.Sato, H Kobayashi, T Higuchi et al.  
“Cardiomyocyte differentiation of Pompe disease specific iPSC following lentiviral gene therapy” 3rdACIMD/55thJSIMD

#### G . 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3.その他

なし



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

## ムコ多糖症および副腎白質ジストロフィーの早期診断治療

分担研究者：鈴木康之 岐阜大学医学教育開発研究センター

### 研究要旨

ムコ多糖症および副腎白質ジストロフィーの早期診断治療に関する各種検討を行った。ムコ多糖症に関しては標準成長曲線を作成し臨床的な早期診断画可能であることを明らかにした。イソフラボンの有効性については、明らかな所見は得られなかった。副腎白質ジストロフィーに関しては造血幹細胞移植の有効性を明らかにし、発症早期の受療行動が治療成績に影響していることを明らかにした。

### 研究協力者

折居忠夫（折居クリニック）  
折居建治、下澤伸行、小関道夫（岐阜大学）  
戸松俊治（デュポン小児病院）  
Montaño AM（セントルイス大学）  
奥山虎之（国立成育医療センター）  
田中あけみ（大阪市立大学）  
知念安紹（琉球大学）  
Wegrzyn G（グダニスク大学、ポーランド）  
矢部普正、加藤俊一、高倉広充（東海大学）  
加藤剛二（名古屋第一赤十字病院）  
辻 省次（東京大学）  
加我牧子（国立精神・神経医療研究センター）  
酒井規夫、大田秀明（大阪大学）  
小林博司、西山由梨佳（東京慈恵会医科大学）  
小田慈（岡山大学）  
足立壮一、加藤竹雄（京都大学）  
平山雅浩（三重大学）  
藤田直人（広島赤十字・原爆病院）  
新妻秀剛（東北大学）

### 研究成果 1) ムコ多糖症に対するイソフラボンの有効性の検討

ムコ多糖症 III 型 17 名に対し、イソフラボン（Genistein）5mg/kg を 1 年間投与し、身体所見、行動異常、睡眠障害、言語能力、理解力、運動

能力、日常生活動作の変化を観察し、尿中 GAG・血中 Genistein 濃度・毛髪形態との比較を試みた。尿中 GAG 排泄量（mg/g creat）は 4 例で GAG の減少を認めたと、6 例は増加した。また 5 例で血中 Genistein の増加を認めた。毛髪形態は 6 例で改善、2 例で悪化を認めた。尿中 GAG レベル、Genistein レベルは、臨床症状・ADL・毛髪形態との緩やかな相関があると推測されたが、明らかな相関は証明できなかった。

イソフラボン（genistein）は、ヘパラン硫酸の合成を抑制し、ムコ多糖症の症状を緩和することが期待されている。特に Sanfilippo 症候群は現時点で有効な治療法がなく、イソフラボンに対する期待は大きい。今回の検討で、Genistein は一部の患者で症状の緩和、ADL の改善、毛髪形態の改善を認めたと、一方で進行悪化する例もあり、明らかな有効性を証明できなかった。今後、症例を蓄積し、Genistein 服用量を再検討する必要がある。

### 研究成果 2) ムコ多糖症の成長曲線作成と早期臨床診断

Hunter 病患者の標準身長、標準体重を明らかにした。身長は生後 3 か月から 3 歳にかけて高身長を示し、体重は生後 6 か月から 5 歳にかけて過体重を示した（表 1）。この結果に基づき Hunter 病

患者の成長曲線を作成した（図 1、図 2）。成長パターンと臨床所見（ヘルニア）の組み合わせにより、ムコ多糖症各病型の早期診断が可能となることを明らかにした（表 2）。

表 1 Hunter 病患者の標準身長，標準体重

	Height		Weight			
	MPS-II		control	MPS-II		control
	mean	SD	mean	mean	SD	mean
<b>Birth</b>	50.1	1.6	49.0	3.3	0.4	3.0
<b>3 m</b>	65.9	2.7	62.0	7.8	1.1	6.6
<b>6 m</b>	71.9	2.3	67.9	9.3	1.1	8.0
<b>9 m</b>	76.2	3.0	71.8	10.6	1.4	8.7
<b>1 y</b>	78.9	2.6	74.8	11.6	1.6	9.2
<b>1.5 y</b>	84.6	3.3	80.6	13.4	2.2	10.4
<b>2 y</b>	88.8	3.3	85.1	15.5	2.9	11.3
<b>3 y</b>	96.9	4.0	93.3	18.0	4.0	13.9
<b>4 y</b>	102.0	3.8	101.8	19.7	3.5	15.7
<b>5 y</b>	106.7	4.2	107.0	22.0	5.1	17.5
<b>6 y</b>	110.5	4.4	114.9	23.3	3.2	19.9
<b>8 y</b>	117.0	5.6	125.3	30.3	9.3	26.6
<b>10 y</b>	115.0	5.9	136.4	26.7	6.2	33.5
<b>12 y</b>	118.6	3.9	149.1	28.3	3.4	43.5
<b>14 y</b>	118.0	6.4	162.8	30.2	6.3	53.4
<b>16 y</b>	121.8	10.3	169.4	31.8	6.0	60.5

図 1 Hunter 病患者の成長曲線（身長）

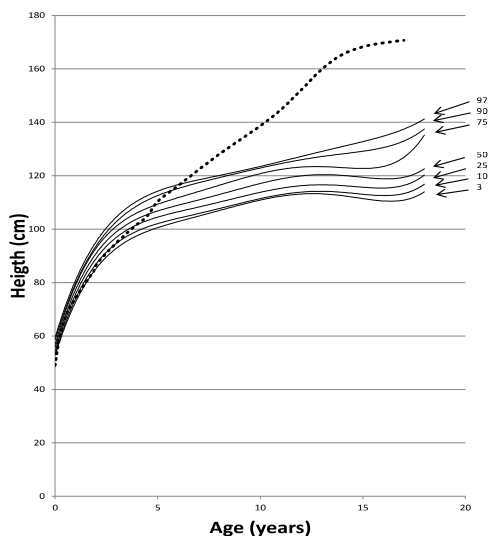


図 2 Hunter 病患者の成長曲線（体重）

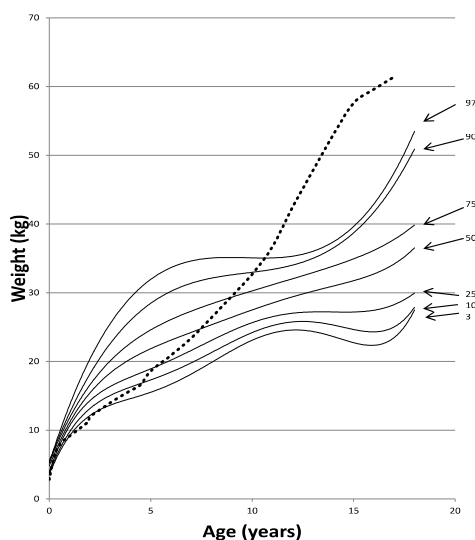


表 2 成長と臨床所見（ヘルニア）の組み合わせによる早期診断

病型	患者数	生後 18 か月前の過成長 (A)	乳児期のヘルニア (B)	A or B
I	5	5	3	5
II	65	58	31	61
III	13	11	4	12
IV	7	4	1	5
VI	2	2	0	2

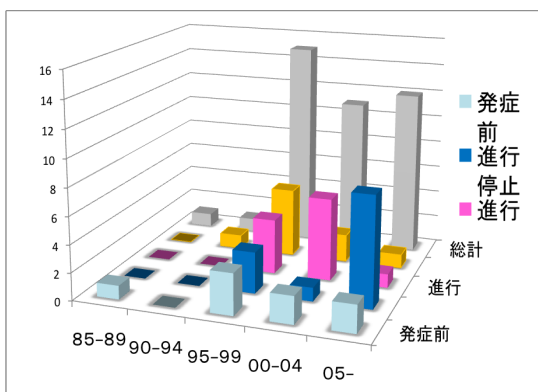
### 研究成果 3 ) 副腎白質ジストロフィーに対する造血幹細胞移植の有効性

47 例の小児・思春期大脳型 ALD 患者の造血幹細胞移植の効果について検討した。移植時平均年齢 8.6 歳、診断～移植の期間 6.7 か月、移植年（1993-2004 年 28 例、2005-2011 年 19 例）、脱髄部位（前頭葉型 9 例、後頭頭頂葉型 28 例）、ドナー（同胞骨髄 20 例、非血縁骨髄 11 例、臍帯血 15

例) HLA(完全一致 26 例、不完全一致 17 例)、前処置( BU/CY 18 例、Mel/ATG/TAI 12 例、Flu/Mel 14 例、その他 2 例) Loes score ( 10 未満 19 例、10 以上 11 例) ALD-DRS ( 0:9 例、I:14 例、II:13 例、III:9 例、IV:1 例)

47 例中、進行停止は 13 例、進行 13 例、死亡 8 例、発症前移植 7 例(無症状) 拒絶 6 例で、移植後の生存率は約 80%であった。2005 年以降の移植例は生存率が向上する傾向を認めた ( $p=0.063$ )( 図 3 )。進行停止した 13 例中 9 例が 2005 年以降の症例であり、2005 年以降、移植の有効性が向上していると考えられた。診断～移植期間が 6 か月未満では生存率が向上する傾向を認めた ( $p=0.09$ )。移植前処置に Busulfan(BU)を使用すると有意に生存率が低下した ( $p=0.05$ )。Flu/Mel 主体の前処置で進行停止例が多い傾向を示した。Loes score 10 以上で有意に生存率が低下したが ( $p<0.01$ ) 効果には差を認めなかった。後頭頭頂葉型で生存率の低下傾向を示した ( $p=0.11$ )。前頭葉型では死亡例がなかった。ALD-DRS がゼロの症例では死亡例がなかった。PIQ>80 の症例は生存率が高い傾向を示した ( $p=0.058$ )

図 3 年度別の副腎白質ジストロフィーに対する造血幹細胞移植成績



研究成果 4 ) 副腎白質ジストロフィー患者の受療行動と診断遅延

小児・思春期大脳型 22 名の初期症状は、以下のとおりであった。

学業不振・記憶障害	14 名
不器用・動作緩慢	12
転倒	12
視力低下	11
性格変化・対人関係の悪化	7
易疲労性	3
てんかん発作	3

不器用・動作緩慢は従来あまり強調されてこなかった初期症状である。初期症状の発見者は母 22 名、教員・保育士 7 名、父 3 名、友人 2 名で、教員・保育士の観察は重要である。診断までに 3 機関以上を受診した例が 12 名おり、2 名は 5 機関以上を受診していた。また診断まで 3 か月以上を要した例が 13 名おり、4 名は 1 年以上を要していた。診断までの受療行動については、家族、医療機関、教育機関それぞれに問題点があり、一層の啓発が必要と思われた。

#### 研究論文発表

- Tomatsu S, Montaña AM, Suzuki Y, et al. Dermatan sulfate and heparan sulfate as a biomarker for mucopolysaccharidosis I. J Inher Metab Dis. 2010; 33:141-150
- Tomatsu S, Montaña AM, Suzuki Y, et al. Validation of disaccharide composition derived from dermatan sulfate and heparan sulfate in mucopolysaccharidoses and mucopolysaccharidoses II and III by tandem mass spectrometry. Molecular Genetics and Metabolism 2010;99:124-131
- Okuyama T, Tanaka A, Suzuki Y, et al. Japan Elaprased Treatment (JET) study: idursulfase enzyme replacement therapy in adult patients with attenuated Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis II, MPS II). Mol Genet Metab 2010;99:18-25

4. Tomatsu S, Montaña AM, Suzuki Y, et al. Validation of keratan sulfate level in Mucopolysaccharidosis IVA by liquid tandem mass spectrometry method. *J Inher Metab Dis* Epub 2010, DOI 10.1007/s10545-009-9013-x.
5. Shimozawa N, Honda A, Suzuki Y, et al. Diagnostic and follow-up system of patients with X-linked adrenoleukodystrophy in Japan. *J Hum Genet* 2011;56:106-109
6. Morita M, Suzuki Y, Imanaka T, et al. ABC subfamily D proteins and very long chain fatty acid metabolism as novel targets in adrenoleukodystrophy. *Curr Drug Targets*. 2011;12:694-706.
7. Tomatsu S, Montaña AM, Suzuki Y, et al. Mucopolysaccharidosis type IVA (Morquio A disease): clinical review and current treatment. *Curr Pharm Biotechnol*. 2011;12:931-45.
8. Hintze JP, Tomatsu S, Suzuki Y, et al. Comparison of liquid chromatography -tandem mass spectrometry and sandwich ELISA for determination of keratan sulfate in plasma and urine. *Biomark Insights*. 2011;6:69-78.
9. Muenzer J, Beck M, Suzuki Y, et al. Idursulfase treatment of Hunter syndrome in children younger than 6 years: results from the Hunter Outcome Survey. *Genet Med*. 2011;13:102-9.
10. Matsukawa T, Suzuki Y, Tsuji S et al. Identification of novel SNPs of ABCD1, ABCD2, ABCD3, and ABCD4 genes in patients with X-linked adrenoleukodystrophy (ALD) based on comprehensive resequencing and association studies with ALD phenotypes. *Neurogenetics*. 2011;12:41-50
11. Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, et al. Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: A nationwide survey in Japan. *Molecular Genetics and Metabolism* 2012;107:513–520
12. Yasuda E, Suzuki Y, Tomatsu S et al. Pathogenesis of Morquio A syndrome: an autopsied case reveals systemic storage disorder. *Mol Genet Metab*. 2013 ;109:301-11
13. Tomatsu S, Suzuki Y, Orii T, et al. Newborn screening and diagnosis of mucopolysaccharidoses. *Mol Genet Metab* 110:42-53, 2013.
14. Tomatsu S, Suzuki Y, Orii T, et al. Therapies of mucopolysaccharidosis IVA (Morquio A syndrome). *Expert Opinion on Orphan Drugs* 1:805-818, 2013
15. Dũng VC, Tomatsu S, Suzuki Y, et al. Mucopolysaccharidosis IVA: Correlation between genotype, phenotype and keratin sulfate levels. *Mol Genet Metab* 110:129-138, 2013.



ニーマンピック病の臨床および病態に関する研究

分担研究者：高橋 勉（秋田大学大学院医学系研究科医学専攻小児科学講座教授）

研究要旨

ニーマンピック病は、ライソゾームにおける水解酵素 ASM (A/B 型) あるいは膜蛋白の異常 NPC1 あるいは NPC2 (C 型) でスフィンゴミエリンあるいはコレステロールがエンドゾームに蓄積し肝脾腫・肺機能異常・多彩な神経症状などを示す稀な遺伝性疾患である。脂質の蓄積減少を起こす薬物療法の開発が期待されている。本研究では C 型細胞に対して蓄積脂質減少をもたらす酢酸 (butyrate) および Histone Deacetylase (HDAC) Inhibitor の効果に関してスフィンゴミエリン分解酵素 ASM の発現量の観点から分析し、C 型細胞への蓄積脂質減少効果に二次的 ASM 欠損の改善が重要であることを示した。

A. 研究目的

ニーマンピック病 A/B 型は、ライソゾーム酸性スフィンゴミエリナーゼ (Acid sphingomyelinase: ASM) 異常によりライソゾームにスフィンゴミエリンが蓄積し、二次的にコレステロールが蓄積する。一方、ニーマンピック病 C 型は細胞内コレステロール輸送に関与する NPC1 あるいは NPC2 の異常によりライソゾームに遊離コレステロールが蓄積する。ニーマンピック病 C 型細胞では二次的に ASM 活性低下とスフィンゴミエリン蓄積が観察される。

ASM 酵素の酵素活性刺激薬として酪酸 (butyrate) が知られている。そこでまず、C 型細胞に酪酸を投与して本細胞に観察される二次的 ASM 欠損に対する効果を詳細に分析した。

次に、C 型細胞に対して報告された Histone Deacetylase (HDAC) Inhibitor の蓄積脂質減少効果に関して検討した。この効果に関しては変異 NPC1 蛋白の発現量を増加させる効果から生じる可能性が示され、軽症 C 型細胞だけへの効果である点が報告されている。しかし、我々が見出した酪酸 (butyrate) の C 型細胞に対する

蓄積脂質減少効果も酪酸が HDAC Inhibitor の 1 つであることから減少効果に ASM 活性が関与している可能性を想定し検討した。

B. 研究方法

・酪酸 (butyrate) と ASM

正常培養リンパ芽球および C 型培養リンパ芽球に対して、ASM 活性上昇作用を持つ酪酸 (butyrate) を添加 (10mM) し、各細胞の、**1)** ASM 活性、**2)** ASM mRNA レベル、**3)** 細胞内コレステロール含量、を調べた。次に、**4)** C 型皮膚線維芽細胞および **5)** ASM 欠損皮膚線維芽細胞に関して、酪酸 (butyrate) 添加の有無により細胞内遊離コレステロールをフィリピン染色で調べ検討した。

・HDAC inhibitor の効果と ASM

**6)** 正常皮膚線維芽細胞および C 型皮膚線維芽細胞に対して、HDAC Inhibitor として valproic acid (2 $\mu$ M)、vorinostat (10 $\mu$ M)、panobinostat (75 $\mu$ M) を加えコレステロール蓄積の程度を Filipin 染色および Amplex Red cholesterol

quantification (Fluoroscan Asent system)にて評価した。**7)**ASM のコレステロール輸送への関与を調べるために ASM Inhibitor として desipramine (50 $\mu$ M) を追加で加えその蓄積脂質に関して調べた。

## C. 研究結果

研究結果は以下の通りであった。

・酪酸 (butyrate) と ASM

**1)** 24 時間 10mM 酪酸添加後、正常および NPC1 培養リンパ芽球の ASM 活性は、負荷前と比較しそれぞれ 3.3 倍および 4.6 倍と有意に増加した ( $p < 0.01$ )。

**2)** 両細胞の ASM mRNA 発現レベルは、24 時間 10mM 酪酸添加後、著明に増加した ( $p < 0.01$ )。

**3)** NPC 培養リンパ芽球における、酪酸添加前および 10mM 酪酸添加後の細胞内遊離コレステロール量は酪酸添加により有意に低下した ( $p < 0.05$ )。

**4)** NPC1 皮膚線維芽細胞におけるフィリピン染色では、24 時間 10mM 酪酸添加後、細胞内遊離コレステロール蓄積の劇的な減少が観察された。

**5)** ASM 欠損皮膚線維芽細胞では酪酸添加後フィリピン染色で、細胞内遊離コレステロールの蓄積の減少を認めなかった。

・HDAC inhibitor の効果と ASM の

**6)** C 型培養皮膚線維芽細胞に観察される遊離コレステロール蓄積は valproic acid、yoricostat、panobinostat により減少した。しかし、desipramine を加えることでコレステロール蓄積が再び観察された。この結果は、**7)**HDAC Inhibitor による細胞内コレステロール輸送の改善には、ASM 活性の存在が重要であることを示していた。

## D. 考察

ASM 活性上昇作用を持つ酪酸 (butyrate) は、培養リンパ芽球に対して ASM mRNA を上昇させることで ASM 活性を上昇させた。そして、二次的 ASM 活性低下がみられる C 型細胞においては、ASM 活性を正常化することで細胞内蓄積遊離コレステロールを減少させた。この酪酸の作用は ASM 欠損コレステロール蓄積細胞では観察されなかった。

細胞内遊離コレステロール蓄積は C 型細胞の基本病態であるが、二次的 ASM 活性の低下を回復させることで、蓄積コレステロールを減少させたことは、今後の ASM 酵素を調節する薬剤開発の可能性を示すものである。

今回の対象とした C 型細胞は、比較的軽症のタイプであり、重症度の違う細胞に対する検討や新たな ASM 活性のアクチベーターの検索など今後の課題である。

C 型細胞の蓄積脂質に対する HDAC inhibitor の減少作用は ASM 抑制剤である desipramine により軽減され、減少した脂質が再び増加した。その結果は細胞内でコレステロール輸送に関与する NPC1 および NPC2 の作用には ASM が大きく関与していることを示している。

## E. 結論

細胞外由来の LDL コレステロールは LDL 受容体からライソゾームに至り酸性リパーゼにより遊離コレステロールとなる。その後のライソゾームから細胞質への輸送に C 型ニーマンピック病の原因である NPC1 および NPC2 が関与する。本研究によりこの輸送には A/B 型ニーマンピック病の欠損酵素である ASM が関与している可能性がある。従って、C 型ニーマンピック病の細胞

内脂質蓄積の改善には、二次的 ASM 欠損を改善する必要がある。

ニーマンピック病 C 型の原因である NPC1 および NPC2 のコレステロール輸送には ASM が関与している可能性がある

## F. 研究発表

### < 論文 >

- 1) Takamura A, Sakai N, Shinpoo M, Noguchi A, Takahashi T, Matsuda S, Yamamoto M, Narita A, Ohno K, Ohashi T, Ida H, Eto Y: The useful preliminary diagnosis of Niemann-Pick disease type C by filipin test in blood smear. Mol Genet Metab, 111: 401-404, 2013
- 2) Oyama C, Hirayama M, Noguchi A, Arai H, Takahashi T : Butyrate reduces free cholesterol accumulation in Niemann-Pick disease type 1 cells (Nova Scotia form) through the induction of acid sphingomyelinase. Akita J. Med 38: 111-119, 2011.

### < 著書 >

- 1) 高橋 勉 : Niemann-Pick 病、新領域別症候群シリーズ No.23、血液症候群 (第 2 版) —その他の血液疾患を含めて—、日本臨床、日本臨床社、491-75、2013.
- 2) 小山千嘉子、高橋 勉 : ニーマンピック病 A, B 型、新領域別症候群シリーズ No.20、先天代謝異常症候群 (第 2 版) 下—病因・病態研究、診断治療の進歩—、日本臨床、日本臨床社、472-75、2012.
- 3) 野口篤子、高橋 勉 : Niemann-Pick 病 C 型、先天代謝異常症 Diagnosis at a Glance, 診断

と治療社、東京、28-31、2011.

- 4) 高橋 勉 : ニーマンピック病 A、B 型、ライソゾーム病 - 最新の病態、診断、治療の進歩 - (初版)、診断と治療社、東京、154-158、2011.
- 5) 高橋 勉 : ライソゾームの生成と膜代謝、ライソゾーム病 - 最新の病態、診断、治療の進歩 - (初版)、診断と治療社、東京、10-13、2011 .
- 6) 高橋 勉 : Niemann-Pick 病 . 小児科臨床ピクシス 23, 中山書店、東京、235-237、2010.
- 7) 高橋 勉 : Niemann-Pick 病, 小児疾患診療のための病態生理, 小児内科 vol.41 増刊号, pp.462-465、2009 .

### < 学会発表 >

- 1) Hirayama, M., Oyama, C., Noguchi, A., Takahashi, T. Histone deacetylase inhibitors need acid sphingomyelinase to reduce the abnormal storage of cholesterol in Niemann-Pick C1 cells. The 3rd Asian congress for inherited metabolic diseases, Chiba, Japan, Nov. 2013.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし



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

PPT1 遺伝子変異による若年型神経セロイドリポフスチン症の発症機構の解明

分担研究者：高村 歩美（財）脳神経疾患研究所先端医療研究センター 主任研究員）

研究要旨

神経セロイドリポフスチン症の1つである CLN1 は、ライソゾーム酵素 Palmitoyl Protein Thioesterase1 (PPT1) 遺伝子欠損により発症し、進行性の視力障害、てんかん、運動退行、知的障害を伴う常染色体劣性遺伝病である。発症機構や臨床症状と遺伝子変異との関連性は明らかになっていない。そこで本研究は、CLN1 と診断された日本人 2 例の皮膚繊維芽細胞を用いた病態解析を目的とした。変異型 PPT1 の細胞内局在の変化や、オートファジーやミトコンドリア機能異常による細胞障害が明らかとなり、今後の更なる詳細な病態解析と、これらの病態を標的とする新しい治療法に関する研究が必要であると考えられた。

研究協力者

大樂武則（財）脳神経疾患研究所 研究員

藤崎美和（財）脳神経疾患研究所 嘱託研究員

A．研究目的

ライソゾーム病である神経セロイドリポフスチン症（CLN）は、進行性の視力障害、てんかん、運動退行、知的障害を呈する疾患群である。原因遺伝子CLN1-8,10-14が同定されており、神経細胞変性と細胞内リポフスチン蓄積が共通所見であるが同じ遺伝子型でも発症年齢により異なる臨床経過を示す場合もあり、各遺伝子型による発症機構の解明は困難である。根本的治療法はなく病態解明が期待されている。

PPT1遺伝子変異により発症した若年型CLN1、日本人2例について分子生物学的手法による病態解析を行い、PPT1遺伝子変異が引き起こす直接的な細胞障害のメカニズム解明を目的とした。

B．研究方法

若年型CLN1の確定診断は、乾燥濾紙血並びに白血球中のPPT1活性測定とPPT1遺伝子変異解

析により実施した。患者の皮膚繊維芽細胞の変異型PPT1のプロセッシングや細胞内局在の変化を検討した。

また、PPT1の生理学的機能の観点から、PPT1欠損による細胞障害メカニズムについてPPT1関連タンパク質や種々の細胞内現象を解析した。

（倫理面への配慮）

本研究は、（財）脳神経疾患研究所の倫理委員会の承認を得て実施した。対象者の血液、皮膚繊維芽細胞は、文書を用いた説明の後、署名による同意を得た。

C．研究結果

**1. CLN1 患者の確定診断**

日本人患者 2 例の乾燥濾紙血並びに、白血球の PPT1 活性は顕著に低下しており、新規 1 か所を含む遺伝子変異が 2 か所同定され確定診断に至った。

**2. 変異型 CLN1 の細胞内発現と局在変化**

本症例の変異型 PPT1 は、発現しているものの

異所性の局在を示した(図1)。また、これらの変異型 PPT1 は Triton X-100 不溶性分画に増加していた。

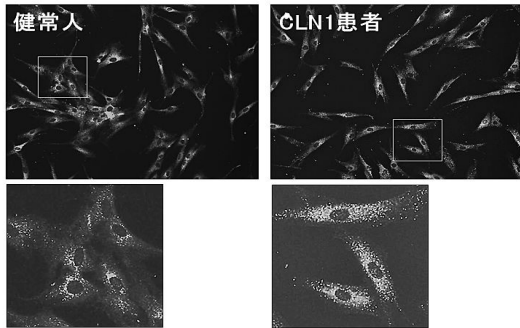


図1 変異型PPT1の細胞内局在

### 3. CLN1 細胞における脂質ラフトを介したエンドサイトーシスの亢進

変異型 PPT1 は、主に脂質ラフト( Triton X-100 不溶性分画)に集積していたことから、脂質ラフトを介したエンドサイトーシスのプローブである蛍光標識 cholera toxin b subunit(CTB)の取込み実験を行った。患者細胞では細胞膜や細胞内に取り込まれる CTB 量が増加しており、エンドサイトーシスの亢進が示された(図2)。

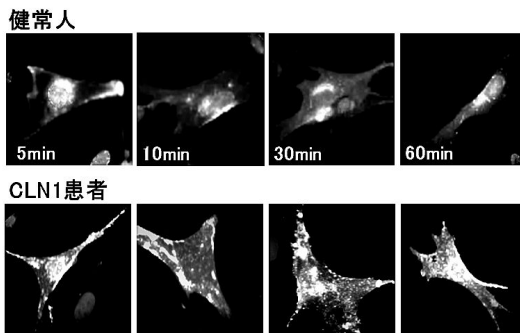


図2 エンドサイトーシス(CTBの取込み)の亢進

### 4. オートファジーの異常

患者細胞では、飢餓条件下におけるオートファゴソームのマーカーである LC3 の発現が上昇していた。興味深いことに、通常培養条件下において、すでに細胞質型である LC3 の発現量が顕著に増加しており、適切なタイミングでオートファジーが誘導されていない事が示された。

### 5. ミトコンドリアの機能障害

ミトコンドリア膜電位の蛍光プローブである JC-1 を用いて患者細胞を観察した結果、膜電位の消失が見られた。PPT1 遺伝子変異による細胞障害の下流には、ミトコンドリア機能異常が関与していることが示された。

### D. 考察

PPT1 の生理的機能は、脱パルミトイル化酵素であり、パルミトイル化により細胞膜に繋ぎ止められている種々のタンパク質(受容体、イオンチャネル、細胞接着因子など)を膜から解放する役割を担っている。脂質ラフト分画の変異型 PPT1 の集積により、パルミトイル化を受ける種々のタンパク質の膜から細胞質への過剰な取込みを引き起こし、細胞障害を誘導している事が考えられた。

### E. 結論

2 例の PPT1 活性は低下しており、新規 1 か所を含む遺伝子変異が 2 か所同定された。変異型 PPT1 は翻訳後糖鎖修飾を受けるものの、細胞内局在に変化が見られた。特に Triton X-100 不溶性分画への局在が増加しており、細胞膜上の脂質ラフトで働く PPT1 の生理学的機能の異常が示唆された。オートファジーやミトコンドリア機能異常も示された。今後は、変異型 PPT1 が直接作用するパルミトイル化タンパク質の同定をはじめ、CLN1 の新しい治療標的を視野に入れた更なる詳細な病態解析を行う必要がある。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Ohba C, Osaka H, Takamura A et al: Diagnostic utility of whole exome sequencing in patients showing cerebellar and/or vermis atrophy in childhood. Neurogenetics. 2013 Nov;14(3-4):225-32
- 2) Takamura A, Sakai N, Eto Y et al: The useful preliminary diagnosis of

Niemann-Pick disease type C by filipin test in blood smear. Mol Genet Metab. 2013 Nov;110(3):401-4.

## 2. 学会発表

- 1) Takamura A, Fujisaki M, Ida H, Ohashi T, Eto Y. Abnormal Intracellular Membrane Traffic in Juvenile Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, Novel CLN1 Mutated Cases. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, Nov. 2013
- 2) Fujisaki M, Takamura A, Diraku T, Ohashi T, Ida H, Eto Y. Enzymatic screening using dried blood spots and gene analysis of Mucopolysaccharidosis IVA (MPS IVA) in Japanese. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, Nov. 2013
- 3) 高村歩美, 藤崎美和, 井田博幸, 大橋十也, 衛藤義勝. PPT1 遺伝子変異による若年型神経セロイドリポフスチン症の発症機構の解明. 日本人類遺伝学会 第58回大会. 宮城, 2013.11
- 4) Takamura A, Sakai N, Shinpo M, Yamamoto M, Narita A, Ohno K, Ohashi T, Ida H, Eto Y. THE USEFUL PRELIMINARY DIAGNOSIS OF NIEMANN-PICK DISEASE TYPE C BY FILIPIN TEST IN BLOOD SMEAR. The12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism (ICIAM). Spain, Sep. 2013
- 5) Fujisaki M, Takamura A, Diraku T, Ohashi T, Ida H, Eto Y. ENZYMATIC SCREENING IN DRIED BLOOD SPOTS AND GENE

ANALYSIS OF MUCOPOLYSACCHARIDOSIS IVA (MPS IVA) IN JAPANESE. The12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism (ICIAM). Spain, Sep. 2013

- 6) 高村歩美, 酒井規夫, 新竈理子, 山本真也, 成田綾, 大野耕策, 井田博幸, 衛藤義勝. The useful preliminary diagnostic procedure of Niemann-Pick type C - Filipin test in blood smear-. ニーマンピック病C型シンポジウム 東京 - 診断と治療 -. 東京, 2013.4

G . 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究総合報告書

メタボローム解析による ALD 等ペルオキシソーム病の発症前診断マーカーの探索

分担研究者： 横山 和明 （帝京大学薬学部教授）

研究要旨

Zellweger 症候群患者由来繊維芽細胞に含まれる極長鎖脂肪酸含有脂質の構造を解析したところ、従来の指標である C26:0 以外の多数の極長鎖脂肪酸の存在が確認された。極長鎖脂肪酸含有するホスファチジルコリンの構造を解析したところ、グリセロール 1 位に含まれるものが多かった。これら分子種は患者間で個体差を認めた。

次に臨床応用を念頭に置き、MRM (multiple reaction monitoring) 条件を多段同時実施し、代表的な脂質クラスについて網羅的に定量する網羅的定量測定系の確立することに成功した。

研究協力者氏名：

下澤伸行（岐阜大学生命科学総合研究支援センター・ゲノム分野 教授）

今中常雄（富山大学大学院医学薬学研究部 教授）

A．研究目的

Zellweger 症候群(ZS)や副腎白質ジストロフィー(ALD)などのペルオキシソーム病において、増加あるいは減少している脂質をメタボローム解析の手法によって定量的に測定し、その構造を決定する。これにより ALD 発症診断マーカーを見いだすことを目的とする。

B．研究方法

ペルオキシソーム病患者の皮膚生検により得られた繊維芽細胞を、大量に培養し、回収して Bligh & Dyer 法により全脂質を抽出した。これを ESI-LC-MS/MS 法によるメタボローム解析に供し、極長鎖脂肪酸を含む分子種の構造を明らかにした。

さらに脂質分子種を網羅的に定量するため、一度の測定で装置の上限に近い 70-80 通りの定量条件を設定し検討した。

（倫理面への配慮）

各所属機関における倫理委員会の審査を受け、承認を受けたうえで実施した

C．研究結果

（平成 23 年度）ZS と ALD の検体を ESI-LC-MS 法で解析したところ、両者ともリン脂質画分で通常では検出されない大きな分子量で疎水性の高いスポットが多数検出された。特に ZS で著しく、ZS を優先して行うこととした。次に、各スポットの MS/MS 解析を行うことにより、リン脂質の分子種、すなわち極性部と脂肪酸の構成を調べたところ、ホスファチジルコリン(PC)には、臨床指標として通常用いられている C26:0 以外の、多様な極長鎖脂肪酸が含まれていることが明らかとなった。炭素数としては 32 個までのものが

あり、加えて二重結合 6 個までの高度不飽和のものも検出された。

(平成 24 年度)ホスファチジルコリン(PC)の MS/MS フラグメントイオン解析を行った。各ピークとも極長鎖脂肪酸のシグナルと通常の脂肪酸を 1 本ずつ含んでいた。さらにこの解析ではグリセロール 2 位の脂肪酸のシグナルが強くなるが、ほとんどの分子種で極長鎖脂肪酸ではないシグナルの方が強かった。この結果から極長鎖脂肪酸を含有する PC の大部分の分子種では、極長鎖脂肪酸 1 本をグリセロール 1 位に結合することがわかった(表 1)。さらにホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリンにも極長鎖脂肪酸が含まれることが明らかとなった。

異なる患者由来のサンプルを比較したところ、意外にも共通するシグナルは半数以下であり、共通する分子種よりも異なる分子種が多いことがわかった(表 1)。

(平成 25 年度)血清中のリン脂質としてはリポタンパク構成成分のホスファチジルコリンが主要成分とされる。これに加えて、一般の細胞の膜脂質として主要なホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、スフィンゴミエリンを今回の解析対象とした。血清脂質は微量であるが、検出可能であった。この中でホスファチジルコリンとスフィンゴミエリンについては極長鎖脂肪酸を含有すると思われる高分子量のピークのシグナル強度が高いことが確認された。さらに予備的測定により、高分子量ではない通常の脂肪酸から構成されるホスファチジルセリンが患者血清で高値である傾向が観察された。

## D. 考察

ZS 繊維芽細胞では多様な極長鎖脂肪酸が存在することから、臨床指標について再検討の余地があるものと考えられた。ただし個体差にも十分留意する必要があることがわかった。

多段同時 MRM 法がリン脂質分子種の網羅的定量に有効であることがわかった。さらに微量な血清でも、測定可能であることがわかった。ALD 発症診断マーカーを見いだすために、今後本法で患者血清を用いて検討を重ねていく必要がある。

## E. 結論

ペルオキシソーム病のうち少なくとも ZS 患者繊維芽細胞では、これまでに臨床指標に用いられている C26:0 以外の極長鎖脂肪酸が多数存在し、PC に含まれていることが明らかとなった。これら PC の分子種の構造を特定したところ、患者間で個体差があった。

多段同時 MRM 法がリン脂質分子種の網羅的定量に有効であること、微量な血清でも、測定可能であることがわかった。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kotaro Hama, Toru Nagai, Chiho Nishizawa, Kazutaka Ikeda, Masashi Morita, Noriko Satoh, Hiroki Nakanishi, Tsuneo Imanaka, Nobuyuki Shimosawa, Ryo Taguchi, Keizo Inoue, **Kazuaki Yokoyama**. *Lipids* 48, 1253–1267 (2013) Molecular Species of Phospholipids with Very Long Chain Fatty Acids in Skin Fibroblasts of Zellweger Syndrome

## 2. 学会発表

- 1) 第55回日本先天性代謝異常学会、Molecular Species of Phospholipids with Very Long Chain Fatty Acids in Skin Fibroblasts of Zellweger Syndrome、Kazuaki Yokoyama 他、日本先天性代謝異常学会誌、29、193 (2013)
- 3) 極長鎖脂肪酸含有脂質の定量解析による2つのペルオキシソーム病の比較、西澤千穂、濱弘太郎、永井徹、池田和貴、守田雅志、唐澤健、原田史子、谷川和也、佐藤典子、田口良、下澤伸行、今中常雄、井上圭三、横山和明、第133回日本薬学会、ファルマシア 49巻号、2013年3月
- 4) ペルオキシソーム病の繊維芽細胞にみられる極長鎖脂肪酸含有脂質定量の試み、西澤千穂、永井徹、池田和貴、守田雅志、唐澤健、原田史子、谷川和也、佐藤典子、田口良、下澤伸行、今中常雄、井上圭三、横山和明、第84回日本生化学会、京都、生化学、83巻8号、158項及びCD、2011年

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

表1 Zellweger 症候群患者繊維芽細胞に含まれる極長鎖脂肪酸分子種

炭素数32の極長鎖脂肪酸を含有するPC分子種						
Signals	M/z	<i>sn-1</i>	<i>sn-2</i>	Molecular Species	Zellweger 1	Zellweger 2
C50:7-PC	1030	<b>C32:6</b>	C18:1	C32:6-C18:1-PC	+	
C50:6-PC	1032	<b>C32:5</b>	C18:1	C32:5-C18:1-PC	+	+
C48:3-PC	1010	<b>C32:3</b>	C16:0	C32:3-C16:0-PC	+	
C48:2-PC	1012	<b>C32:2</b>	C16:0	C32:2-C16:0-PC		+
C48:2-PC	1012	<b>C32:1</b>	C16:1	C32:1-C16:1-PC	+	
C48:1-PC	1014	<b>C32:1</b>	C16:0	C32:1-C16:0-PC		+
C48:0-PC	1016	<b>C32:0</b>	C16:0	C32:0-C16:0-PC		+
炭素数30の極長鎖脂肪酸を含有するPC分子種						
C50:7-PC	1030	<b>C30:3</b>	C20:4	C30:3-C20:4-PC	+	
C46:3-PC	982	<b>C30:3</b>	C16:0	C30:3-C16:0-PC	+	+
C50:6-PC	1032	<b>C30:2</b>	C20:4	C30:2-C20:4-PC	+	+
C48:3-PC	1010	<b>C30:2</b>	C18:1	C30:2-C18:1-PC	+	+
C46:2-PC	984	<b>C30:2</b>	C16:0	C30:2-C16:0-PC	+	
C48:3-PC	1010	<b>C30:1</b>	C18:2	C30:1-C18:2-PC		+
C48:2-PC	1012	<b>C30:1</b>	C18:1	C30:1-C18:1-PC	+	+
C48:1-PC	1014	C18:0	<b>C30:1</b>	C18:0-C30:1-PC		+
C46:1-PC	986	<b>C30:1</b>	C16:0	C30:1-C16:0-PC		+
C48:1-PC	1014	<b>C30:0</b>	C18:1	C30:0-C18:1-PC		+
C48:0-PC	1016	C18:0	<b>C30:0</b>	C18:0-C30:0-PC		+
C46:0-PC	988	<b>C30:0</b>	C16:0	C30:0-C16:0-PC		+
炭素数28の極長鎖脂肪酸を含有するPC分子種						
C46:6-PC	976	<b>C28:5</b>	C18:1	C28:5-C18:1-PC		+
C44:6-PC	948	<b>C28:5</b>	C16:1	C28:5-C16:1-PC	+	
C44:5-PC	950	<b>C28:5</b>	C16:0	C28:5-C16:0-PC	+	
C48:8-PC	1000	<b>C28:4</b>	C20:4	C28:4-C20:4-PC		+
C46:5-PC	978	<b>C28:4</b>	C18:1	C28:4-C18:1-PC	+	
C48:7-PC	1002	<b>C28:3</b>	C20:4	C28:3-C20:4-PC		+
C46:4-PC	980	<b>C28:3</b>	C18:1	C28:3-C18:1-PC	+	
C48:6-PC	1004	<b>C28:2</b>	C20:4	C28:2-C20:4-PC		+
C46:3-PC	982	<b>C28:2</b>	C18:1	C28:2-C18:1-PC	+	+
C44:2-PC	956	<b>C28:2</b>	C16:0	C28:2-C16:0-PC	+	
C50:6-PC	1032	<b>C28:1</b>	C22:5	C28:1-C22:5-PC	+	
C50:6-PC	1032	C22:5	<b>C28:1</b>	C22:5-C28:1-PC		+
C48:5-PC	1006	<b>C28:1</b>	C20:4	C28:1-C20:4-PC	+	
C46:2-PC	984	<b>C28:1</b>	C18:1	C28:1-C18:1-PC	+	
C46:1-PC	986	C18:0	<b>C28:1</b>	C18:0-C28:1-PC		+
C44:2-PC	956	C16:1	<b>C28:1</b>	C16:1-C28:1-PC		+
C44:1-PC	958	<b>C28:1</b>	C16:0	C28:1-C16:0-PC	+	+
C48:4-PC	1008	<b>C28:0</b>	C20:4	C28:0-C20:4-PC	+	
C46:1-PC	986	<b>C28:0</b>	C18:1	C28:0-C18:1-PC		+
C46:0-PC	988	C18:0	<b>C28:0</b>	C18:0-C28:0-PC		+
C44:1-PC	958	<b>C28:0</b>	C16:1	C28:0-C16:1-PC		+
C44:0-PC	960	<b>C28:0</b>	C16:0	C28:0-C16:0-PC		+
C42:0-PC	932	C14:0	<b>C28:0</b>	C14:0-C28:0-PC	+	

表1 Zellweger 症候群患者繊維芽細胞に含まれる極長鎖脂肪酸分子種 ( 続き )

炭素数26の極長鎖脂肪酸を含有するPC分子種						
C44:6-PC	948	C18:0	<b>C26:6</b>	C18:0-C26:6-PC	+	
C42:7-PC	918	<b>C26:6</b>	C16:1	C26:6-C16:1-PC		+
C46:9-PC	970	<b>C26:5</b>	C20:4	C26:5-C20:4-PC		+
C44:7-PC	946	<b>C26:5</b>	C18:2	C26:5-C18:2-PC		+
C44:6-PC	948	<b>C26:5</b>	C18:1	C26:5-C18:1-PC	+	
C42:6-PC	920	<b>C26:5</b>	C16:1	C26:5-C16:1-PC		+
C42:5-PC	922	<b>C26:5</b>	C16:0	C26:5-C16:0-PC		+
C48:8-PC	1000	<b>C26:4</b>	C22:4	C26:4-C22:4-PC		+
C46:8-PC	972	<b>C26:4</b>	C20:4	C26:4-C20:4-PC	+	
C44:6-PC	948	<b>C26:4</b>	C18:2	C26:4-C18:2-PC	+	
C44:5-PC	950	<b>C26:4</b>	C18:1	C26:4-C18:1-PC	+	
C42:5-PC	922	<b>C26:4</b>	C16:1	C26:4-C16:1-PC		+
C42:4-PC	924	<b>C26:4</b>	C16:0	C26:4-C16:0-PC		+
C46:7-PC	974	<b>C26:3</b>	C20:4	C26:3-C20:4-PC	+	
C44:4-PC	952	<b>C26:3</b>	C18:1	C26:3-C18:1-PC	+	
C42:3-PC	926	<b>C26:3</b>	C16:0	C26:3-C16:0-PC	+	+
C40:3-PC	898	C14:0	<b>C26:3</b>	C14:0-C26:3-PC	+	
C46:6-PC	976	<b>C26:2</b>	C20:4	C26:2-C20:4-PC		+
C44:3-PC	954	<b>C26:2</b>	C18:1	C26:2-C18:1-PC	+	+
C42:3-PC	927	<b>C26:2</b>	C16:1	C26:2-C16:1-PC		+
C42:2-PC	928	<b>C26:2</b>	C16:0	C26:2-C16:0-PC	+	+
C40:2-PC	900	C14:0	<b>C26:2</b>	C14:0-C26:2-PC	+	
C48:6-PC	1004	<b>C26:1</b>	C22:5	C26:1-C22:5-PC		+
C46:5-PC	978	<b>C26:1</b>	C20:4	C26:1-C20:4-PC	+	
C46:3-PC	982	<b>C26:1</b>	C20:2	C26:1-C20:2-PC		+
C44:3-PC	954	<b>C26:1</b>	C18:2	C26:1-C18:2-PC	+	+
C44:2-PC	956	<b>C26:1</b>	C18:1	C26:1-C18:1-PC	+	+
C44:1-PC	958	C18:0	<b>C26:1</b>	C18:0-C26:1-PC		+
C42:2-PC	928	<b>C26:1</b>	C16:1	C26:1-C16:1-PC		+
C42:1-PC	930	<b>C26:1</b>	C16:0	C26:1-C16:0-PC	+	+
C40:1-PC	902	C14:0	<b>C26:1</b>	C14:0-C26:1-PC	+	+
C46:4-PC	980	<b>C26:0</b>	C20:4	C26:0-C20:4-PC	+	
C44:1-PC	958	<b>C26:0</b>	C18:1	C26:0-C18:1-PC	+	+
C44:0-PC	960	C18:0	<b>C26:0</b>	C18:0-C26:0-PC		+
C42:0-PC	932	<b>C26:0</b>	C16:0	C26:0-C16:0-PC	+	+
C40:0-PC	904	C14:0	<b>C26:0</b>	C14:0-C26:0-PC	+	
C24:1-PC	930	<b>C26:0</b>	C16:1	C26:0-C16:1-PC		+



表1 Zellweger 症候群患者繊維芽細胞に含まれる極長鎖脂肪酸分子種 (続き)

炭素数24の極長鎖脂肪酸を含有するPC分子種						
C42:7-PC	918	C24:6	C18:1	C24:6-C18:1-PC		+
C44:9-PC	942	C24:5	C20:4	C24:5-C20:4-PC		+
C42:6-PC	920	C24:5	C18:1	C24:5-C18:1-PC		+
C42:5-PC	922	C18:0	C24:5	C18:0-C24:5-PC		+
C40:6-PC	892	C24:5	C16:1	C24:5-C16:1-PC	+	
C40:5-PC	894	C24:5	C16:0	C24:5-C16:0-PC	+	
C46:9-PC	970	C24:4	C22:5	C24:4-C22:5-PC		+
C44:8-PC	944	C24:4	C20:4	C24:4-C20:4-PC		+
C44:7-PC	946	C24:4	C20:3	C24:4-C20:3-PC		+
C44:6-PC	948	C20:2	C24:4	C20:2-C24:4-PC	+	
C44:5-PC	950	C20:1	C24:4	C20:1-C24:4-PC	+	
C42:6-PC	920	C24:4	C18:2	C24:4-C18:2-PC		+
C42:5-PC	922	C24:4	C18:1	C24:4-C18:1-PC		+
C42:4-PC	924	C18:0	C24:4	C18:0-C24:4-PC		+
C40:4-PC	896	C24:4	C16:0	C24:4-C16:0-PC	+	
C44:7-PC	946	C24:3	C20:4	C24:3-C20:4-PC		+
C42:4-PC	924	C24:3	C18:1	C24:3-C18:1-PC		+
C42:3-PC	926	C18:0	C24:3	C18:0-C24:3-PC		+
C40:3-PC	898	C24:3	C16:0	C24:3-C16:0-PC	+	+
C44:6-PC	948	C24:2	C20:4	C24:2-C20:4-PC	+	
C42:3-PC	926	C24:2	C18:1	C24:2-C18:1-PC	+	+
C40:2-PC	900	C24:2	C16:0	C24:2-C16:0-PC	+	+
C42:2-PC	928	C24:1	C18:1	C24:1-C18:1-PC	+	+
C40:1-PC	902	C24:1	C16:0	C24:1-C16:0-PC	+	+
C42:1-PC	930	C24:0	C18:1	C24:0-C18:1-PC	+	+
C42:0-PC	932	C18:0	C24:0	C18:0-C24:0-PC	+	+
C40:0-PC	904	C24:0	C16:0	C24:0-C16:0-PC	+	
極長鎖脂肪酸を含有するPE分子種						
C44:5-PE	848	C26:5	C18:0	C26:5-C18:0-PE		+
C44:4-PE	850	C18:0	C26:4	C18:0-C26:4-PE		+
C44:3-PE	852	C26:2	C18:1	C26:2-C18:1-PE		+
C42:3-PE	824	C26:2	C16:1	C26:2-C16:1-PE	+	
C44:2-PE	854	C26:1	C18:1	C26:1-C18:1-PE	+	
C42:2-PE	826	C26:1	C16:1	C26:1-C16:1-PE	+	
C44:1-PE	856	C26:0	C18:1	C26:0-C18:1-PE	+	
C42:4-PE	822	C18:0	C24:4	C18:0-C24:4-PE		+
C42:3-PE	824	C18:0	C24:3	C18:0-C24:3-PE	+	+
C42:3-PE	824	C24:2	C18:1	C24:2-C18:1-PE	+	
C42:2-PE	826	C24:1	C18:1	C24:1-C18:1-PE	+	
C44:3-PE	852	C20:3	C24:0	C20:3-C24:0-PE		+
C42:1-PE	828	C24:0	C18:1	C24:0-C18:1-PE	+	
極長鎖脂肪酸を含有するPS分子種						
C42:2-PS	870	C24:1	C18:1	C24:1-C18:1-PS	+	

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

ペルオキシソーム病に関する診断・病態解明に関する研究

分担研究者：下澤伸行 岐阜大学生命科学総合研究支援センターゲノム研究分野・教授

研究要旨

平成22年からの4年間に国内ペルオキシソーム病診断実績として、Zellweger症候群9例、新生児型副腎白質ジストロフィー1例、乳児型 Refsum 病 1例、副腎白質ジストロフィー (ALD) のうち、小児大脳型 30例、思春期大脳型 4例、成人大脳型 6例、adrenomyeloneuropathy (AMN) 9例、小脳脳幹型 1例、アジソン型 2例、発症前 10例、女性保因者 54例を診断した。また国外のペルオキシソーム病患者診断については、継続中のサウジアラビアでは新たに 11例（計 22例）、新規のベトナムでは 20例、マレーシアでは 4例を4年間に診断した。さらに2つの疾患ハンドブックを編集し、医療関係者や患者会等に配布して国内における難病の啓蒙、診療情報の普及、診療の向上に努めた。また2例の国内初のペルオキシソーム病患者を診断し、その成果を国際誌に報告した。

病態解明研究では、ペルオキシソーム形成異常症に関しては患者線維芽細胞から樹立した iPS 細胞とペルオキシソーム欠損モデルフィッシュ作成により、病態解明を進めている。また ALD の大脳症状の発症因子の解明に関しては本研究班内に共同研究プロジェクトを立ち上げ、患者リソースを用いた脂質生化学的検討、分子生物学的検討に加えて、モデルマウスを用いた病態解明と中枢神経症状の発症実験を進めている。

研究協力者：

高島茂雄（岐阜大学ゲノム研究分野・助教）

本田綾子（岐阜大学ゲノム研究分野・研究補佐員）

梶原尚美（岐阜大学ゲノム研究分野・技術補佐員）

豊吉佳代子（岐阜大学ゲノム研究分野・  
技術補佐員）

大場亜希子（岐阜大学ゲノム研究分野・  
技術補佐員）

B．研究方法

1. ペルオキシソーム病診断システム：

ガスクロマトグラフィー質量分析計（GC/MS）および液体クロマトグラフィータンデム質量分析計（LC/MS/MS）を用いて患者血液よりペルオキシソーム代謝産物を測定し、細胞、タンパク、遺伝子レベルでの解析にて、確定診断を行う。

2. ペルオキシソーム病患者の iPS 細胞樹立及び神経系細胞への分化：

当研究室において同意が得られたペルオキシソーム形成異常症患者の皮膚線維芽細胞より iPS 細胞を作成し、クローンごとに CGH アレイによる iPS 化前後のゲノム比較解析、SCID マウスへの移植によるテラトーマの作成を確認後、神経系の細胞に分化させ、発生異常の病態を細胞レベル

A．研究目的

稀少難病であるペルオキシソーム病を国内に周知し、診断システムを確立して早期診断、早期介入に繋げるとともに新たな疾患単位を発見する。さらに集積した患者リソースや iPS 細胞に、疾患モデル生物を用いて本症の病態解明から治療法の開発を進める。

で形態や生理機能、分子生物学的手法を用いて解明する。

### 3. 疾患モデル生物による検討：

ALD では病因である ABC トランスポータータンパクの異常による病態は脊髄病変が中心で、何らかの因子が加わることにより大脳型を発症すると考えられており、基本的な病態はモデルマウスの脂質生化学、分子病態学的手法により解明するとともに、外的要因を負荷することにより、大脳型 ALD モデルを作製し、発症機序の解明、治療法の開発に繋げる。

一方、ペルオキシソーム形成異常症の病態解明については、モルフォリノ、TALEN により PEX 遺伝子をノックダウンしたペルオキシソーム欠損モデルフィッシュを作製し、発生過程における病態を形態、脂質生化学、分子生物学的手法により解明する。

## C . 研究結果

### 1. ペルオキシソーム病患者診断の成果：

平成 22 年からの 4 年間に国内ペルオキシソーム病診断実績として、Zellweger 症候群 9 例、新生児型副腎白質ジストロフィー 1 例、乳児型 Refsum 病 1 例、ALD のうち、小児大脳型 30 例、思春期大脳型 4 例、成人大脳型 6 例、adrenomyeloneuropathy (AMN) 9 例、小脳脳幹型 1 例、アジソン型 2 例、発症前 10 例、女性保因者 54 例を診断し、適切な診療情報を提供して早期治療に繋げた。また国外のペルオキシソーム病患者診断については、継続しているサウジアラビアでは新たに 11 例のペルオキシソーム形成異常症または酸化系酵素欠損症患者を（計 22 例）、新たに共同研究を始めたベトナムでは 20 例の副腎白質ジストロフィー患者を、マレーシアでも 4 例を 4 年間に診断し、その間にサウジアラビアとベトナムの診断例では論文発表も行った。

さらに診療情報周知活動として「副腎白質ジストロフィー診療ハンドブック」と「ペルオキ

シソーム病ハンドブック」を編集し（資料参照）各専門学会の評議員や患者会等に配布し、国内における難病の啓蒙に努めた。またペルオキシソーム病に関する総説の執筆や学会シンポジウム、セミナーを通じて、国内臨床医への啓蒙も行っている。

### 2 患者細胞よりの iPS 細胞の樹立：

同意を得たペルオキシソーム形成異常症患者より iPS 細胞を樹立し、複数のクローンにおいて CGH アレイで iPS 化前後でのゲノム構造の不変と SCID マウスへの移植によるテラトーマ作成を確認した。現在、神経系の細胞（ニューロン、グリア細胞）への分化を進めている。

### 3. 疾患モデル生物による検討：

ALD モデルマウスにロレンツォ油、PPAR アゴニスト、アルキル化剤等を投与し、臨床型を観察するとともに、血中の極長鎖脂肪酸をはじめとしたペルオキシソーム代謝産物にペルオキシソーム代謝系遺伝子発現の変動を検討した。

また ALD モデルマウスによる大脳型作成実験では再現性のある頭部外傷モデルの作成系を確立し、現在、受傷後モデルマウスの長期予後を観察中である。

モルフォリノを用いてペルオキシソーム形成に関わる PEX 遺伝子をノックダウンしたペルオキシソーム欠損ゼブラフィッシュを作成し、現在、表現型、ペルオキシソーム代謝機能、遺伝子発現を対照と比較検討中である。

## D . 考察

本分担研究の成果として、国内外のペルオキシソーム病患者の診断率の向上、早期診断の取組みについては、診断システムの機能を向上させるとともに、ハンドブックの作成・配布による疾患の啓蒙活動等により達成している。

ALD 患者リソースを用いた発症機序の解明に関しては本研究班内に複数の共同研究グループを構築した。今後、病型規定因子の解明から難病克服に繋がることが期待される。ALD 遺伝子改変

マウスを用いた生化学レベルでの病態解明、治療法の開発、並びに中枢神経症状発症による大脳型モデルの開発に関しても現在、本研究班内の共同研究グループにより解析を進めている。

ペルオキシソーム形成異常症患者におけるiPS細胞樹立とペルオキシソーム欠損モデルフィッシュによる病態解明も作成作業はほぼ終了段階にあり、現在、検証作業から解析を進めている。

患者会と協力した難病克服への取組みについては勉強会、ニュースレターの配布、情報交換から岐阜大学小児科外来でのセカンドオピニオン、遺伝カウンセリングに繋げている。

ペルオキシソームは発達途上のオルガネラであり、本研究班による単一遺伝子病の解明を通してペルオキシソーム機能を網羅的に明らかにして、生活習慣病や神経疾患も対象にした広い意味での代謝病におけるペルオキシソームの関わりを明らかにしていきたいと考えている。

## E. 結論

国内唯一のペルオキシソーム病の総合診断施設として、国内外のペルオキシソーム病患者を診断して最新の医療情報を提供するとともに、早期治療が不可欠な大脳型ALDに対しては出来るだけ迅速な診断を可能にして早期移植に繋げている。さらに倫理面に配慮した患者リソースに、疾患モデル生物も取り入れて、遺伝性ペルオキシソーム病の診断・病態解明・治療法の開発を進めた。

## F. 研究発表

診療ハンドブックの編集、配布

・「副腎白質ジストロフィー診療ハンドブック」  
1000部

本研究班班員、日本先天代謝異常学会・日本小児神経学会評議員、小児内分泌、血液等関連学会、患者会、主治医等へ配布

・「ペルオキシソーム病ハンドブック」800部

本研究班班員、日本先天代謝異常学会セミナー（400部）、関連学会、主治医等へ配布  
施策への反映:24年度保険収載改訂にて先天代謝異常学会を通じ、脂肪酸分析の保険収載に寄与した。

副腎白質ジストロフィー患者会(ALDの未来を考える会)への貢献:  
勉強会講師、患者相談、ニュースレター作成、ハンドブックの配布

ペルオキシソーム病の国内患者遺伝子診断数  
(平成22年~25年11月)

ペルオキシソーム形成異常症患者 : 11例

副腎白質ジストロフィー男性患者 : 62例

女性保因者 : 54例

ペルオキシソーム病の国外患者診断数

(平成22年~25年11月)

サウジアラビア : 11例 (総数22例)

ベトナム : 20例

マレーシア : 4例

## 原著論文(英文)

- 1) Vu Chi Dung, Nobuyuki Shimozawa, Nguyen Ngoc Khanh, et al. Mutations of ABCD1 gene and phenotype of Vietnamese patients with X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD). International Journal of Pediatric Endocrinology Suppl 1: 127, 2013.
- 2) Ohba C, Osaka H, Shimozawa N, et al. Diagnostic utility of whole exome sequencing in patients showing cerebellar and/or vermis atrophy in childhood. Neurogenetics 14: 225-32, 2013.
- 3) Hama K, Nagai T, Shimozawa N, et al. Molecular Species of Phospholipids with Very Long Chain Fatty Acids in Skin Fibroblasts of Zellweger Syndrome. Lipids 48: 1253-1267, 2013.
- 4) Shuji Matsui, Masuko Funahashia,

- Nobuyuki Shimozawa, et al. Newly identified milder phenotype of peroxisome biogenesis disorder caused by mutated PEX3 gene. *Brain Dev*; 35: 842-8, 2013.
- 5) Yumi Mizuno, Yuichi Ninomiya, Nobuyuki Shimozawa, et al. Tysnd1 deficiency in mice interferes with the peroxisomal localization of PTS2 enzymes, causing lipid metabolic abnormalities and male infertility. *PLOS Genetics* 9 :e1003286, 2013.
- 6) Masashi Morita, Junpei Kobayashi, Nobuyuki Shimozawa, et al. A novel double mutation in the ABCD1 gene in a patient with X-linked adrenoleukodystrophy: Analysis of the stability and function of the mutant ABCD1 protein. *J Inher Metab Dis*, Rep 10: 95-102, 2013.
- 7) Iwasa M, Yamagata T, Shimozawa N et al. Contiguous ABCD1 DXS1357E deletion syndrome: Report of an autopsy case. *Neuropathology* 33: 292-8, 2013.
- 8) Noriyuki Kanzawa, Nobuyuki Shimozawa, Ronald J.A. Wanders, et al. Defective lipid remodeling of GPI anchors in peroxisomal disorders, Zellweger syndrome and rhizomelic chondrodysplasia punctata. *J Lipid Res* 53: 653-63, 2012
- 9) Mizumoto H, Akashi R, Shimozawa N, et al. Mild case of D-bifunctional protein deficiency associated with novel gene mutations. *Pediatr Int* 54: 303-4, 2012.
- 10) Nobuyuki Shimozawa, Ayako Honda, Naomi Kajiwara, et al. X-linked adrenoleukodystrophy: Diagnostic and follow-up system in Japan *J Hum Genet* 56: 106-109, 2011.
- 11) Nobuyuki Shimozawa. Molecular and clinical findings and diagnostic flowchart of peroxisomal diseases *Brain Dev* 33: 770-776, 2011.
- 12) Kozawa S, Honda A, Shimozawa N, et al. Induction of peroxisomal lipid metabolism in mice fed a high-fat diet. *Mol Med Report* 4: 1157-1162, 2011.
- 13) Shaheen R, Al-Dirbashi OY, Shimozawa N, et al. Clinical, biochemical and molecular characterization of peroxisomal diseases in Arabs. *Clin Genet* 79: 60-70, 2011
- 14) Matsukawa T, Asheuer M, Shimozawa N, et al. Identification of novel SNPs of ABCD1, ABCD2, ABCD3, and ABCD4 genes in patients with X-linked adrenoleukodystrophy (ALD) based on comprehensive resequencing and association studies with ALD phenotypes. *Neurogenetics*. 12: 41-50, 2011.
- 15) Masashi Morita, Nobuyuki Shimozawa, Yoshinori Kashiwayama, et al. BC subfamily D proteins and very long chain fatty acid metabolism as novel targets in adrenoleukodystrophy *Current Drug Targets* 12: 694-706, 2011.
- 16) Miyoshi Y, Sakai N, Shimozawa N, et al. Clinical aspects and adrenal functions in eleven Japanese children with X-linked adrenoleukodystrophy. *Endocr J*.57: 965-972, 2010.

#### 診療ハンドブック

- 1) 下澤伸行：ペルオキシソーム病ハンドブック 2013 -全てのペルオキシソーム病患者の診断治療を目指して- 日本臨床社 大阪 2013年6月
- 2) 下澤伸行：監修、副腎白質ジストロフィー診療ハンドブック 2013 作成委員会：編集 副腎白

質ジストロフィー診療ハンドブック 2013 -  
ALD 患者を支えている関係者の皆様へ  
協力：日本先天代謝異常学会  
厚生労働省難治性疾患克服事業「ライソ  
ゾーム病(ファブリ病を含む)に関する  
調査研究」  
西濃印刷 岐阜 2013年9月

その他の論文(和文)

- 1) 下澤伸行 Zellweger spectrum 先天代謝異常ハンドブック pp248-249. 中山書店. 東京. 2013年
- 2) 下澤伸行 rhizomelic chondrodysplasia punctate (RCDP) type 1 先天代謝異常ハンドブック pp250-251. 中山書店. 東京. 2013年
- 3) 下澤伸行 副腎白質ジストロフィー 先天代謝異常ハンドブック pp252-253. 中山書店. 東京. 2013年
- 4) 下澤伸行 ペルオキシソーム 酸化酵素欠損症 先天代謝異常ハンドブック pp254-256. 中山書店. 東京. 2013年
- 5) 下澤伸行 Refsum 病、rhizomelic chondrodysplasia punctate (RCDP) type 2・3 先天代謝異常ハンドブック pp257-259. 中山書店. 東京. 2013年
- 6) 塩田睦記、舟塚 真、下澤伸行、他 極長鎖脂肪酸の反復検査で診断し得た D-bifunctional protein 欠損症の1例 東京女子医科大学雑誌 83: E103-106, 2013年
- 7) 下澤伸行 ペルオキシソーム病 小児科診療 76(1) 35-43. 2013年
- 8) 下澤伸行 ペルオキシソーム代謝異常症 内分泌・糖尿病・代謝内科 34(3) 198-203. 2012年
- 9) 下澤伸行 ペルオキシソーム病 Brain Medical 24(3) 261-270. 2012年
- 10) 下澤伸行 副腎白質ジストロフィーの診療アップデート 小児内科 44 (10) 1667-1672.

2012年

- 11) 下澤伸行 ペルオキシソーム病 (Zellweger 症候群, 原発性高シュウ酸尿症1型) 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No17 腎臓症候群(第2版) 369-373. 日本臨床社. 東京. 2012年
- 12) 鈴木康之、下澤伸行 副腎白質ジストロフィーの造血幹細胞移植法 Annual Review 神経 2012. 241-245. 中外医学社. 東京. 2012年
- 13) 下澤伸行 副腎白質ジストロフィー 今日の小児治療指針 第15版 大関武彦、古川 漸、横田俊一郎、水口 雅編. pp212-213 医学書院、東京、2012年
- 14) 下澤伸行 ペルオキシソーム病(副腎白質ジストロフィー) 最新ガイドライン準拠 小児科診断・治療指針 pp299-302. 中山書店、東京、2012年
- 15) 下澤伸行 ペルオキシソーム病: 概論 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群(第2版) 下 pp389-397. 日本臨床社. 東京. 2012年
- 16) 下澤伸行 ツェルウェガー (Zellweger) 症候群 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群(第2版) 下 pp398-404. 日本臨床社. 東京. 2012年
- 17) 下澤伸行 新生児型副腎白質ジストロフィー 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群(第2版) 下 pp405-408. 日本臨床社. 東京. 2012年
- 18) 下澤伸行 乳児型レフサム病 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群(第2版) 下 pp409-413. 日本臨床社. 東京. 2012年
- 19) 下澤伸行 Rhizomelic chondrodysplasia punctata (RCDP) type 1 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群(第2版) 下 pp414-417. 日本臨床社. 東京. 2012年
- 20) 下澤伸行 副腎白質ジストロフィー 別冊日本

- 臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群(第2版)下 pp418-427. 日本臨床社. 東京. 2012年
- 21) 下澤伸行 アシル CoA オキシダーゼ (AOX) 欠損症 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群(第2版)下 pp428-432. 日本臨床社. 東京. 2012年
- 22) 下澤伸行 二頭酵素 (D-bifunctional protein: DBP) 欠損症 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群(第2版)下 pp433-438. 日本臨床社. 東京. 2012年
- 23) 下澤伸行 Rhizomelic chondrodysplasia punctata (RCDP) type 2, RCDP type 3 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群(第2版)下 pp439-442. 日本臨床社. 東京. 2012年
- 24) 下澤伸行 レフサム病 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群(第2版)下 pp443-446. 日本臨床社. 東京. 2012年
- 25) 下澤伸行 アカタラセミア 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群(第2版)下 pp447-449. 日本臨床社. 東京. 2012年
- 26) 下澤伸行 新たに分類されたペルオキシソーム病 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群(第2版)下 pp454-455. 日本臨床社. 東京. 2012年
- 27) 下澤伸行 脳肝腎症候群 (ツェルウェーガー症候群) 症候群ハンドブック pp126-127 中山書店. 東京. 2011年
- 28) 下澤伸行 Zellweger 症候群 先天代謝異常症 Diagnosis at a Glance 日本先天代謝異常学会編. Pp146-148. 診断と治療社. 東京. 2011年
- 29) 鈴木康之、小関道夫、下澤伸行 副腎白質ジストロフィー 先天代謝異常症 Diagnosis at a Glance 日本先天代謝異常学会編. Pp149-151. 診断と治療社. 東京. 2011年
- 30) 下澤伸行 RCDP type1 先天代謝異常症 Diagnosis at a Glance 日本先天代謝異常学会編. Pp152-153. 診断と治療社. 東京. 2011年
- 31) 三善陽子、酒井規夫、池田佳世、長谷川泰浩、橘真紀子、清原由起、山田寛之、近藤宏樹、濱田悠介、木村志保子、里 龍晴、峰 淳史、神尾範子。鈴木保宏、塩見正司、太田秀明、下澤伸行、大園恵一 副腎白質ジストロフィーの日本人男児 11 例に置ける副腎機能解析 日本内分泌学会雑誌 87 suppl 83-85. 2011年
- 32) 下澤伸行 ペルオキシソーム病 (副腎白質ジストロフィー、Zellweger 症候群) 小児科診療 2010 増刊号、小児の治療指針 515-517, 2010年
- 33) 下澤伸行 ペルオキシソーム病を見逃していませんか? 小児内科 42 (7) 1167-1173, 2010年
- 34) 鈴木康之、下澤伸行 日本先天代謝異常学会学会賞受賞論文「ペルオキシソーム病との 30年:二人三脚の旅」日本先天代謝異常学会雑誌 26 (1) 2-12, 2010年
- 35) 下澤伸行 ペルオキシソーム形成異常症 - Zellweger 症候群- 別冊日本臨床新領域別症候群シリーズ No13 肝・胆道系症候群(第2版) 515-518. 日本臨床社. 東京. 2010年
- 36) 下澤伸行 極長鎖脂肪酸測定 小児科臨床ピクシス 23 見逃せない先天代謝異常 pp112-115 中山書店. 東京. 2010年
- 37) 下澤伸行 ペルオキシソーム病 小児科臨床ピクシス 23 見逃せない先天代謝異常 pp214-217 中山書店. 東京. 2010年
- 学会発表 (招待、シンポジウム)  
国内学会シンポジウム、セミナー等
- 1) 下澤伸行:「これだけは伝えたい診断法 ペルオキシソーム病」第9回先天代謝異常学会セミナー、品川、7月2013

- 2) 下澤伸行 副腎白質ジストロフィーの造血幹細胞移植療法の現状と問題点 シンポジウム「副腎白質ジストロフィー診療の現状と提案—診療ガイドラインの作成に向けて」第 54 回日本先天代謝異常学会、第 11 回アジア先天代謝異常学会、岐阜、11 月 2012
- 3) 下澤伸行：「ペルオキシソーム代謝異常症」第 42 回小児神経学セミナー、葉山、10 月 2012
- 4) 下澤伸行：「ペルオキシソーム病代謝異常症—ALD の克服を目指して—」第 10 回東北先天代謝異常症治療研究会、仙台、6 月 2012
- 5) 下澤伸行 副腎白質ジストロフィー 診断・治療の update シンポジウム「神経障害をきたす先天代謝異常症 診断・治療の update」第 54 回日本小児神経学会、札幌、5 月 2012
- 6) 下澤伸行：「ペルオキシソーム病の診断 ABC」第 7 回先天代謝異常学会セミナー、横浜、7 月 2011

#### 国際学会招待講演

1. Shimozawa N: Peroxisomal disorder 12th Asian and Oceanian Congress on Child Neurology. Riyadh. September 2013.
- 2) Shimozawa N: Diagnosis and treatment of Peroxisomal diseases 3rd ACIMD & 55<sup>th</sup> JSIMD. Maihama. November 2013.

G. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし





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

ALD・ペオキシソーム病の病態解析と治療薬の開発ならびに  
新規ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症（ライソゾーム蓄積症）の分子病態解析

分担研究者：今中 常雄（富山大学大学院医学薬学研究部 教授）

研究要旨

副腎白質ジストロフィー（ALD）は、ペルオキシソーム膜 ABC タンパク質 ABCD1 の変異を原因とする神経変性疾患で、極長鎖脂肪酸の蓄積を特徴とする。本研究では、ALD 治療薬の開発を目指して、ABCD1 の極長鎖脂肪酸 CoA 輸送機構、ミスセンス変異 ABCD1 の安定化を指標とした有用化合物のスクリーニング、遺伝子治療のための予備実験を行った。ペルオキシソーム病に関しては、ペルオキシソーム膜形成に焦点を当てた。ペルオキシソーム膜形成に関わる Pex3p と Pex19p の相互作用の分子機構を解析し、ペルオキシソームを欠損する Zellweger 病における変異 Pex3p と Pex19p の相互作用の異常を明らかにした。ABCD4 と LMBRD1 遺伝子異常による新規ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症（ライソゾームへのビタミン B<sub>12</sub> 蓄積症）に関しては、原因遺伝子産物である LMBD1 が輸送体 ABCD4 と複合体を形成し、ABCD4 を小胞体からライソゾームへ輸送するキャリアタンパク質として機能することを見出した。ABCD4 もしくは LMBD1 の変異により共通したフェノタイプが起こる原因が示唆された。

研究協力者氏名

守田雅志（富山大学大学院医学薬学研究部・  
准教授）

川口甲介（富山大学大学院医学薬学研究部・  
助教）

加藤博章（京都大学大学院薬学研究科教授）

た治療薬は開発されていない。そこで本研究で ALD 治療薬の開発を目指し、ABCD1 の極長鎖脂肪酸 CoA 輸送機構の解明、ABCD1 欠損アストロサイトでの代謝異常と遺伝子発現解析、ミスセンス変異 ABCD1 を安定化する化合物のスクリーニング、遺伝子治療の基礎的検討を目的とした解析を行った。

A．研究目的

ALD に関する研究

副腎白質ジストロフィー（ALD）は X 連鎖劣性の遺伝子疾患で、ペルオキシソーム膜 ABC タンパク質 ABCD1 をコードする ABCD1 遺伝子の変異により発症する。ALD は、極長鎖脂肪酸の異常蓄積を生化学的特徴とし、大脳における脱ミエリン化や副腎不全を主症状とするが、その発病メカニズムは不明である。ま

ペルオキシソーム病に関する研究

Zellweger 病をはじめとするペルオキシソーム形成因子（Pex）の欠損によるペルオキシソーム病は重篤な疾患であるが、近年、ミスセンス変異による軽症例が報告され治療の対象になってきている。本研究ではペルオキシソーム膜形成に焦点を当てた。Pex3p はペルオキシソーム膜に局在し、遊離型ポリソームで生合成さ

れたペルオキシソーム膜タンパク質 (PMP) と複合体を形成する Pex19p と相互作用し、PMP のペルオキシソーム膜への局在化に關与する。今回、Pex3p と Pex19p 複合体の X 線構造解析により、Pex3p、Pex19p の相互作用のメカニズムを解析し、Pex3p と Pex19p の変異による相互作用の破綻を明らかにすることを目的とした。

### 新規ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症 (ライソゾーム蓄積症) に関する研究

ビタミン B<sub>12</sub> はエンドサイトーシスによってライソゾームに取り込まれた後、細胞質中へと排出され、補酵素型に変換され機能している。最近、ABCトランスポーター ABCD4 とライソゾーム膜タンパク質 LMBD1 をコードする遺伝子変異により、ライソゾームから細胞質へのビタミン B<sub>12</sub> 輸送が障害されることが報告された。本研究では、ライソゾームからのビタミン B<sub>12</sub> 輸送異常の分子機構を理解するため、ABCD4 と LMBD1 の協調的な役割を明らかにすることを目的とした。

### B . 研究方法

#### ALD に関する研究

##### 1 . ABCD1 の機能解析

メタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* にヒト ABCD1 を発現させ、ペルオキシソーム分画ならびに精製酵素を調製した。ABCD1 の ATPase 活性はリン酸モリブデン法を用い、acyl-CoA thioesterase 活性はエルマン法を用いて測定した。

##### 2 . ALD の分子病態解析

生後 1 ~ 2 日の Abcd1 欠損マウス脳より調製した混合グリア細胞から、初代培養アストロサイトを分離培養した。脂肪酸の酸化活性は、[1-<sup>14</sup>C]C24:0 を基質として測定した。極長鎖脂肪酸は、抽出した脂質を加水分解し、遊離

した脂肪酸をメチルエステル化した後、ガスクロマトグラフィーで定量化した。遺伝子の発現解析は、抽出した mRNA を逆転写酵素で cDNA にした後、DNA マイクロアレイ法及びリアルタイム PCR により行った。

### 3 . ALD 治療薬の開発

ALD 患者で報告されているミスセンス変異 ABCD1 の C 末端に GFP を融合した変異 ABCD1-GFP を安定発現する CHO 細胞を作製した。この細胞を 96 well プレートで培養し、既存薬を含めた種々の化合物を最終濃度 20 μM で添加し、2 日後、細胞の蛍光強度を測定した。変異 ABCD1-GFP の発現及び細胞内局在性は、イムノプロット法及び蛍光抗体法により確認した。骨髄移植に関しては、野生型マウスの頸骨から骨髄細胞を採取し、放射線照射で骨髄破壊したレシピエントの ABCD1 欠損マウスの眼窩静脈叢に注入した。5 ヶ月飼育後、脳での ABCD1 タンパク質の発現を解析した。さらに、造血幹細胞 (lineage 陰性、c-kit 陽性) は、ABCD1 遺伝子を組み込んだレンチウイルスベクターを感染させた後、放射線照射処置を施したマウスの眼窩静脈叢に注入することにより移植した。

#### ペルオキシソーム病に関する研究

ヒト Pex3p の細胞質ドメイン GST-Pex3p (aa. 49-373)、ヒト GST-Pex19p (aa. 1-44) を大腸菌に発現させ精製した。Pex3p と Pex19p を 1:2 で混合し、ポリエチレングルコールを沈殿化剤として結晶化させ、複合体の結晶構造を決定した。また、GST-Pex19p と His-Pex3p との相互作用は、pull down 法により解析した。Pex19p によるペルオキシソーム形成能は、*pex19* Zellweger syndrome 患者線維芽細胞に野性型もしくは変異型 Pex19p を導入し、ペルオキシソームの形成を蛍光抗体法で解析した。

## 新規ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症(ライソゾーム蓄積症)に関する研究

ABCD4-HA 発現ベクターをヒト肝癌細胞 HuH7 に導入し、ABCD4-HA の安定発現細胞を取得した。発現した ABCD4-HA、LMBD1-GFP の細胞内局在性は免疫染色法で解析した。さらに LMBD1-GFP ならびに ABCD4-HA の各種変異体発現ベクターを作製した。LMBD1 の ABCD4 の局在化への影響は、野生型 ABCD4 と変異型 LMBD1 を共発現することにより解析した。ABCD4 と LMBD1 の相互作用は pull down 法で解析した。

(倫理面での配慮)

ALD 患者線維芽細胞は、提供者が子供のため、両親の同意を得て採取したものを使用した。

### C . 研究結果

#### ALD に関する研究

##### 1 . ABCD1 の機能解析

*P. pastoris* に発現させた His-ABCD1 は、ペルオキシソームに局在化していた。His-ABCD1 は ATPase 活性を保持し、脂肪酸ならびに脂肪酸 CoA 添加により活性が促進され、炭素数の増加により効果が増大した。さらに、ABCD1 が acyl-CoA thioesterase 活性を有することが明らかになった。149 番目の Ser を Ala に置換した変異型 ABCD1 は活性を失うことから、<sup>149</sup>Ser が活性中心であることが示唆された。Acyl-CoA thioesterase 活性は、高濃度の ATP で阻害された。また変異型 His-ABCD1(S149A)の ATPase 活性は、脂肪酸では活性化されたが、脂肪酸 CoA では活性化されなかった。

##### 2 . ALD の分子病態解析

Abcd1 欠損アストロサイトの極長鎖脂肪酸含量は、野生型に比べて約 2 倍増加していた。また極長鎖脂肪酸 (C24:0) の酸化活性は野生型に比べ 40% 減少していた。一方、

[1-<sup>14</sup>C]C24:0 由来の放射活性の C26:0 画分への取り込みは、Abcd1 欠損アストロサイトにおいて顕著に増加していた。このことからアストロサイトにおいても ALD の生化学的特徴が認められた。

野生型及び Abcd1 欠損アストロサイトでは、極長鎖脂肪酸代謝に関わる遺伝子及び発病に関わると予想される酸化ストレス関連 (*Cat*, *MnSOD*, *Homx1* 等)や炎症性サイトカイン遺伝子 (*Tnfa*, *Il-1b*, *Cxcl1* 等)、小胞体ストレス関連の遺伝子 (*Chop*, *Bip*, *Oasis* 等)の発現量に有意な違いは認められなかった。一方、Abcd1 欠損アストロサイトではケモカインレセプターの一つである *Darc* 遺伝子、細胞接着分子 *Cadm3* 遺伝子の増加、及び *Egr2* 遺伝子の発現低下が認められた。

##### 3 . ALD 治療薬の開発

変異 ABCD1-GFP を発現した CHO 細胞を用いてスクリーニングを行った結果、ABCD1-GFP の蛍光を回復させる 22 種類の化合物を見出した。この内、既存薬ではアントラサイクリン系抗生物質とボルテゾミブを含む 5 種類の化合物で、天然化合物では 3 種類の化合物で変異 ABCD1-GFP の回復とペルオキシソームへの局在化が確認された。さらに同じ変異をもつ患者由来線維芽細胞で内因性の変異 ABCD1 タンパク質の回復を解析した結果、既存薬で 2 種類 (ボルテゾミブを含む)、天然化合物で 2 種類の有効化合物を見出した。

造血幹細胞移植実験では、5 ヶ月間飼育した移植マウスの脳及び脊髄から調製したペルオキシソーム画分において、造血幹細胞由来の ABCD1 タンパク質が発現していることが確認された。ヒト ABCD1 遺伝子組替え造血幹細胞を移植した ABCD1 欠損マウスは、経過を観察している。

#### ペルオキシソーム病に関する研究

Pex3p は、6本のヘリックスから構成される回転楕円状の新規な構造をしていることが判明した。最も長い2が中心に位置し、他の5つのヘリックスが2に巻き付く構造をとっていた。Pex19pペプチドはヘリックス構造をとり、Pex3pの最先端部に結合していた。

X線結晶解析によりPex3pとPex19pとの相互作用に重要であるアミノ酸が示唆された。これらアミノ酸をAlaに置換すると、Pex3pとPex19pとの結合が起こらなかつた。さらに、*pex19* Zellweger syndrome患者線維芽細胞に野性型もしくは変異型Pex19pを発現させ、ペルオキシソームの回復能を解析すると、野性型Pex19pではペルオキシソームが検出されたが、Pex3pとの結合能を有しなかつたPex19pではペルオキシソームが検出されなかつた。一方、*pex3* Zellweger syndrome患者線維芽細胞に変異型Pex3p (W104A)を発現させても、ペルオキシソームは検出されなかつた。

#### ビタミンB<sub>12</sub>欠乏症(ライソゾーム蓄積症)に関する研究

一過性に発現させたABCD4-HAは小胞体に、LMBD1-GFPはリソゾームに局在していた。一方、ABCD4-HAを安定過剰発現させたHuH7細胞にLMBD1-GFPを共発現させたところ、ABCD4-HAの局在は小胞体からライソゾームへと変化し、LMBD1-GFPと共局在していた。また、両タンパク質が複合体を形成していた。

ABCD4の6個の膜貫通領域のうち、N末端側の2個の膜貫通領域を欠損した変異型ABCD4-HAは、LMBD1-GFPと共発現させてもライソゾームには移行しなかつた。一方、LMBD1の11個の膜貫通領域のうちの6番目以降を欠損した変異型LMBD1-GFPをABCD4と共発現させると、ABCD4と変異型LMBD1-GFPは共局在していたが、ライソゾーム上には局在しなかつた。

#### D. 考察

##### ALDに関する研究

##### 1. ABCD1の機能解析

*P. pastoris*にABCD1を活性型酵素として発現することに成功した。ABCD1のATPase活性は脂肪酸添加により促進され、炭素数の増加により効果が増大したことから、より長鎖の脂肪酸に高い親和性を持つことが示唆された。さらに、同じ炭素数でもCoA体を添加した際にATPase活性はより増大したことから、CoA体への親和性の方が高いことが示唆された。ABCD1のもつacyl-CoA thioesterase活性は、149番目のSerをAlaにさせることにより失活した。ALD患者においても同様の変異が報告されているので、ABCD1のacyl-CoA thioesterase活性は、基質輸送に必須と考えられる。ABCD1は極長鎖脂肪酸を認識し、CoAを加水分解により分離し、極長鎖脂肪酸を輸送している可能性が高い。またacyl-CoA thioesterase活性とATP加水分解が協調して脂肪酸を輸送していると推測される。

##### 2. ALDの分子病態解析

Abcd1欠損アストロサイトにおいても極長鎖脂肪酸蓄積が認められた。しかし、アストロサイトは、極長鎖脂肪酸を蓄積しても発病に関わると推定されるサイトカインなどを産生していない可能性が示唆された。一方、*Darc*、*Cadm3*などのmRNAが増加していたことより、Abcd1欠損アストロサイトではサイトカインに対する反応性や他の細胞との相互作用などに異常がある可能性が推察された。

##### 3. ALD治療薬の開発

ハイスループットアッセイ系により見いだした既存薬のボルテゾミブは、多発性骨髄腫の治療薬として認可されているプロテアソーム阻害薬である。もう一つの既存薬は細胞毒性が低く、脳代謝改善薬として用いられていた薬物であり、血液脳関門を通過することが知られて

いる。これらの既存薬については、ALD の候補治療薬になる可能性が考えられる。一方、天然化合物で効果のあった 2 種類は類似構造をもっており、治療薬のシーズ化合物になると考えられる。今後さらに多くの天然化合物をスクリーニングすることにより、リード化合物を見出す予定である。

骨髄移植により骨髄由来の細胞が脳や脊髄に生着していることが確認された。また、組換えレンチウイルスベクターにより造血幹細胞にヒト ABCD1 を発現することが確認され、ABCD1 欠損マウスに移植することができた。現在、順調に飼育されている。今後、移植 5~6 ヶ月後の組織を調製し、生着細胞とその分布について組織化学染色により検討する予定である。本疾患に対する造血幹細胞移植の神経症状抑制のメカニズム解明は、発症機構及び治療戦略を考える上で重要である。

#### ペルオキシソーム病に関する研究

我々はこれまでに、生合成された PMP70 の Pex19p との相互作用に必要な領域を明らかにするとともに、Pex19p の N 末端側の領域が Pex3p との相互作用に重要であることを報告してきた。今回、Pex3p と Pex19p 複合体の X 線結晶解析により、両者の相互作用における分子基盤が明らかになった。すなわち、Pex3p の細胞質側の先端に位置し、Trp-104 で隔てられた 2 つの cavity に Pex19p の疎水性アミノ酸 Leu-18、Leu-21、Leu-22 と Phe-29 が結合することが示された。またその相互作用はペルオキシソーム形成に必須であることが、各種変異体を用いた Pex3p と Pex19p との結合実験と Zellweger syndrome 患者線維芽細胞でのペルオキシソーム形成回復実験から示された。また Pex19p の Pex3p 結合領域は、単独ではランダムコイルを示し、Pex3p とのみ特異的に結合する可能性が示唆された。

#### 新規ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症(ライソゾーム蓄積症)に関する研究

ABCD4 は単独で過剰発現させると、その細胞内局在は小胞体であったが、LMBD1 と共発現させると、ライソゾームへと変化した。一方、LMBD1 は単独でもライソゾームに局在することから、LMBD1 は ABCD4 をライソゾームへと移行させるキャリアタンパク質として機能していることが示唆された。両タンパク質が複合体を形成することも確認した。変異体を用いた解析から、両者の複合体形成には、ABCD4 の N 末端側の 2 個の膜貫通領域、LMBD1 の N 末端側の 5 個の膜貫通領域に重要な部位が存在することが示唆された。また、LMBD1 の 6 番目の膜貫通領域以降にライソゾームへの移行シグナルが存在することも示唆された。ABCD4 と LMBD1 単独の変異により同様のフェノタイプが現れる原因が理解できた。今後、重篤なビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症患者から、患者を同定し治療法を確立する必要がある。

#### E . 結論

#### ALD に関する研究

ヒト ABCD1 が ATPase 活性とともに acyl-CoA thioesterase 活性を有していることを明らかにした。また、その thioesterase 活性には 149 番目のセリンが重要であることも明らかにした。今後は、ABCD1 の基質輸送における thioesterase 活性の意義を明らかにするとともに、基質輸送メカニズムを解明することが期待できる。

アストロサイトの極長鎖脂肪酸蓄積は、直接 ALD 発病と関連していないが、他のグリア細胞との相互作用に違いがある可能性が考えられた。今後、サイトカイン等の刺激に対する反応性の違いについて検討し、発病におけるアストロサイトの役割について検討したい。

ミスセンス変異 ABCD1 の安定化に関して、

有効な既存薬 2 種類及び天然化合物 2 種類を見いだした。既存薬については今後、治療薬としての有効性を検証する。天然化合物については、さらに多くの化合物をスクリーニングし、治療薬のリード化合物を見出す。一方、ヒト ABCD1 を発現した造血幹細胞を ABCD1 欠損マウスに移植した。今後、脳や脊髄での ABCD1 タンパク質の分布や脂肪酸含量への効果について検討する予定である。

#### ペルオキシソーム病に関する研究

ペルオキシソーム膜形成における Pex3p と Pex19p との相互作用の分子構造基盤が明らかになった。今後、Pex19p が担う PMP のペルオキシソーム膜への挿入過程を解析するとともに、ペルオキシソーム膜形成過程の分子メカニズムに基づいたペルオキシソーム病治療薬開発のためのアッセイ系を確立したい。

#### 新規ビタミン B<sub>12</sub> 欠乏症(ライソゾーム蓄積症)に関する研究

ABCD4 および LMBD1 をコードする遺伝子の変異によって、ライソゾームにビタミン B<sub>12</sub> が蓄積する。ABCD4 は単独ではライソゾームへと局在しないことから、ABCD4 がビタミン B<sub>12</sub> の輸送体として機能し、LMBD1 が ABCD4 のライソゾームへの移行を補助するキャリアタンパク質として機能していることが示唆された。我々は、メタノール資化性酵母を用いたヒト ABCD4 の発現と精製に成功しているため、今後、リポソームに精製 ABCD4 を組み込んだプロテオリポソームを構築することにより、ABCD4 のビタミン B<sub>12</sub> 輸送機能を明らかにしたい。

#### F . 研究発表

##### 1 . 論文発表

1) Sato Y, Shibata H, Nakatsu T, *et al.*: Structural

basis for docking of peroxisomal membrane protein carrier Pex19p onto its receptor Pex3p. *EMBO J* 29: 4083-4093, 2010

- 2) Kashiwayama Y, Tomohiro T, Narita K, *et al.*: Identification of a substrate-binding site in a peroxisomal  $\alpha$ -oxidation enzyme by photoaffinity labeling with a novel palmitoyl derivative. *J Biol Chem* 285: 26315-26325, 2010
- 3) Woudenberg J, Rembacz KP, Hoekstra M, *et al.*: Lipid rafts are essential for peroxisome biogenesis in HepG2 cells. *Hepatology* 52: 623-633, 2010
- 4) Iwashita S, Tsuchida M, Tsukuda M, *et al.*: Multiple organelle-targeting signals in the N-terminal portion of peroxisomal membrane protein PMP70. *J Biochem* 147: 581-590, 2010
- 5) Kouno T, Watanabe N, Sakai N, *et al.*: The structure of *Physarum polycephalum* hemagglutinin I suggests a minimal carbohydrate recognition domain of legume lectin fold. *J Mol Biol* 405: 560-569, 2011
- 6) Morita M, Shimozawa N, Kashiwayama Y, *et al.*: ABC subfamily D proteins and very long chain fatty acid metabolism as novel targets in adrenoleukodystrophy. *Curr Drug Targets* 12: 694-706, 2011
- 7) Morita M., Shinbo S., Asahi A, *et al.*: Very long chain fatty acid  $\beta$ -oxidation in astrocytes: Contribution of the ABCD1-dependent and -independent pathways. *Biol Pharm Bull* 35: 1972-1979, 2012
- 8) Morita M, and Imanaka T: Peroxisomal ABC transporters: Structure, function and role in disease. *Biochim Biophys Acta* 1822: 1387-1396, 2012
- 9) 川口甲介, 今中常雄: ペルオキシソームの多様性と動態から見た微生物の生存戦略 .

生化学 84: 840-844, 2012

- 10) Morita M, Kobayashi J, Yamazaki K, et al.: A novel double in the *ABCD1* gene in a patient with X-linked adrenoleukodystrophy: Analysis of the stability and function of the mutant ABCD1 protein. *J Inher Metab Dis Rep*. 10: 95-102, 2013
- 11) Hama K, Nagai T, Nishizawa C, et al.: Molecular species of phospholipids with very long chain fatty acids in skin fibroblasts of Zellweger syndrome. *Lipids* 48: 1253-1267, 2013

## 2. 学会発表

- 1) 横山和明, 西澤千穂, 池田和貴, 永井徹, 守田雅志, 原田史子, 佐藤典子, 唐沢健, 今中常雄, 下澤伸行, 田口良. ペルオキシソーム病の繊維芽細胞に蓄積する極長鎖脂肪酸含有脂質. 第 52 回日本脂質生化学会. 渋川, 2010. 6
- 2) 志村裕介, 川道美里, 谷口範壮, 新保沙織, 渡辺志朗, 守田雅志, 今中常雄. 野生型および ABCD1 欠損マウス脳における極長鎖脂肪酸延長反応と関連タンパク質 ELOVL1 の発現. 日本薬学会北陸支部第 122 回例会. 金沢, 2010. 11
- 3) 柏山恭範, 今中常雄. ABC タンパク質サブファミリーD 群のオルガネラ選択的局在化機構. 第 32 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム. 富山, 2010.11
- 4) 五十嵐喜子, 柏山恭範, 平裕幸, 今中常雄. ペルオキシソーム膜形成因子 Pex16p のペルオキシソーム局在化シグナルの解析. 第 32 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム. 富山, 2010.11
- 5) 新保沙織, 志村祐介, 守田雅志, 渡辺志朗, 今中常雄. ABCD1 欠損マウス由来アストロサイトを用いた ALD 分子病態の検討. 第 83 回日本生化学会大会・第 33 回日本分子生物学会年会合同大会. 神戸, 2010.12
- 6) 柏山恭範, 今中常雄. ペルオキシソーム膜上に存在する raft 様構造体の解析. 第 83 回日本生化学会大会・第 33 回日本分子生物学会年会合同大会. 神戸, 2010.12
- 7) 李朝香, 朝日彰子, 赤池 宗輔, 柏山恭範, 守田雅志, 安川洋生, 今中常雄. ABC タンパク質サブファミリーDの細胞内局在化とN末端アミノ酸配列. 第 83 回日本生化学会大会・第 33 回日本分子生物学会年会合同大会. 神戸, 2010.12
- 8) 中野雄太, 森達哉, 楠本梨賀, 柏山恭範, 今中常雄. ペルオキシソーム形成因子 Pex3p の存在状態と Pex19p との相互作用に伴う高次構造変化. 第 83 回日本生化学会大会・第 33 回日本分子生物学会年会合同大会. 神戸, 2010.12
- 9) 土屋裕貴, 柏山恭範, 今中常雄: ペルオキシソーム膜 raft 様構造体の機能解析. 第 83 回日本生化学会大会・第 33 回日本分子生物学会年会合同大会. 神戸, 2010.12
- 10) 東野和直, 上杉泰介, 柏山恭範, 今中常雄. 小胞体膜上に存在する ABC タンパク質 P70R(ABCD4)の存在状態と機能の解析. 第 83 回日本生化学会大会・第 33 回日本分子生物学会年会合同大会. 神戸, 2010.12
- 11) 西澤千穂, 永井徹, 池田和貴, 守田雅志, 唐沢健, 原田史子, 佐藤典子, 中西広樹, 田口良, 下澤伸行, 今中常雄, 井上圭三, 横山和明. ペルオキシソーム病の繊維芽細胞にみられる極長鎖脂肪酸含有脂質の分子構造決定. 第 83 回日本生化学会大会・第 33 回日本分子生物学会年会合同大会. 神戸, 2010.12
- 12) Tomohiro T, Kashiwayama Y, Imanaka T, Hatanaka Y. Identification of a substrate-binding site in a peroxisomal



- $\beta$ -oxidation enzyme by diazirine-based photoaffinity labeling. 8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium: Frontier of Medicinal Science. Tokyo, Sept. 2011
- 13) 李朝香, 朝日彰子, 赤池宗輔, 柏山恭範, 守田雅志, 安川洋生, 今中常雄. ABC タンパク質サブファミリーD の細胞内局在化における N 末端疎水性アミノ酸配列の役割. 日本生化学会北陸支部第 29 回大会. 金沢, 2011. 5
  - 14) 守田雅志. 極長鎖脂肪酸代謝異常と副腎白質ジストロフィー. 第 12 回 Pharmaco-Hematology シンポジウム. 富山, 2011. 6
  - 15) 谷口範壮, 新保沙織, 守田雅志, 今中常雄. ABCD1 欠損マウス脳由来初代培養アストロサイトの極長鎖脂肪酸代謝と遺伝子発現解析. 第 12 回 Pharmaco-Hematology シンポジウム. 富山, 2011. 6
  - 16) 守田雅志, 新保沙織, 今中常雄. ペルオキシソーム膜 ABC タンパク質 ABCD1 欠損アストロサイトの遺伝子発現解析. 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
  - 17) 上杉泰介, 柏山恭範, 今中常雄. 小胞体膜上に存在する ABC タンパク質 P70R(ABCD4)の存在状態の解析. 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
  - 18) 李朝香, 朝日彰子, 赤池宗輔, 柏山恭範, 守田雅志, 安川洋生, 今中常雄. ABC タンパク質サブファミリーD の細胞内局在化機構-ヒト, 線虫及び粘菌での共通性-. 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
  - 19) 李朝香, 朝日彰子, 阪口雅郎, 柏山恭範, 今中常雄. ABC タンパク質サブファミリーD のオルガネラ膜への選別輸送機構:N 末端マルチオルガネラ移行シグナルの解析. 第 10 回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム. 仙台, 2011. 10
  - 20) 上杉泰介, 赤池宗輔, 柏山恭範, 守田雅志, 加藤博章, 今中常雄. 小胞体膜上に局在する ABCD4 (P70R)の存在様式と機能. 第 33 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム. 岡山, 2011. 11
  - 21) 上杉泰介, 柏山恭範, 今中常雄. 小胞体膜上に存在する ABC タンパク質 P70R (ABCD4)の存在状態の解析. 日本薬学会北陸支部平成 23 年度第 1 回総会及び第 123 回例会. 金沢, 2011. 11
  - 22) 守田雅志, 新保沙織, 浜田知世, 今中常雄. 副腎白質ジストロフィーモデルマウス由来初代培養アストロサイトの極長鎖脂肪酸代謝と遺伝子発現解析. 第 53 回日本先天代謝異常学会総会・第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 千葉, 2011. 1
  - 23) Uesugi T, Kashiwayama Y, Imanaka T. Complex formation of ABC protein, P70R/ABCD4 on endoplasmic reticulum membranes. 第 34 回日本分子生物学会年会. 横浜, 2011. 12
  - 24) Morita M, Shinbo S, Asahi A, Imanaka T. Very long chain fatty acid -oxidation in astrocytic cells; contribution of ABCD1-dependent and -independent pathways. 第 34 回日本分子生物学会年会. 横浜, 2011. 12
  - 25) Kostsin, DG, Lee A, Yamazaki K, Kawaguchi K, Morita M, Imanaka T. Establishment of screening system to discover candidates of chemical Chaperone that stabilize mutant ABCD1 responsible for adrenoleukodystrophy. The 4th EMBO Meeting. Nice, Sept. 2012
  - 26) 守田雅志, 山崎こず枝, 小出玲爾, 下澤伸行, 今中常雄. 副腎白質ジストロフィー患者で見出された二カ所にミスセンス変異をもつ新規変異 ABCD1 タンパク質の発現

- 解析．日本薬学会第 132 年会．札幌，2012.3
- 27) 池島俊季，赤池宗輔，川口甲介，守田雅志，今中常雄．メタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* 発現系を用いたペルオキシソーム膜 ABC タンパク質 ABCD1 の機能解析．日本生化学会北陸支部第 30 回大会．金沢，2012.5
- 28) 山崎こず枝，守田雅志，小出玲爾，下澤伸行，今中常雄．副腎白質ジストロフィー患者の新規 ABCD1 遺伝子変異 -二カ所にミスセンス変異をもつ ABCD1 タンパク質の発現解析- 第 13 回 Pharmaco-Hematology シンポジウム．東京，2012.6
- 29) 池島俊季，川口甲介，赤池宗輔，守田雅志，今中常雄．メタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* 発現系を用いた ABC タンパク質サブファミリー D の発現系の構築．第 11 回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム．福岡，2012.9
- 30) 池島俊季，川口甲介，守田雅志，今中常雄．ペルオキシソーム膜 ABC タンパク質 ABCD1D の構造と機能．第 34 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム．京都，2012.11
- 31) Morita M, Kostsin DG, Yamazaki K, Arimura K, Shimozawa N, Imanaka T. A screening system to discover chemical compounds that stabilize missense mutant ABCD1 protein. 第 54 回日本先天代謝異常学会総会・第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム．岐阜，2012.11
- 32) 李朝香，朝日彰子，川口甲介，守田雅志，今中常雄．ABC タンパク質サブファミリー D の細胞内局在性-ヒトと線虫での共通性-．日本薬学会北陸支部第 124 回例会．富山，2012.11
- 33) 野村芽衣子，友廣岳則，池島俊季，今中常雄，畑中保丸：光反応性脂肪酸プローブによる脂肪酸結合タンパク質のラベル化．日本薬学会北陸支部第 124 回例会．富山，2012.11
- 34) Morita M, Yamazaki K, Kawaguchi K, Shimozawa N, Koide R, Imanaka T. A novel double mutation in *ABCD1* gene in a patient with X-linked adrenoleukodystrophy: Analysis of the stability and function of the mutant ABCD1 protein. 第 35 回日本分子生物学会年会．福岡，2012.12
- 35) Morita M., Kostsin DG, Yamazaki K, Shimozawa N, Imanaka T. A Screening system to discover chemical compounds that stabilize ABCD1 protein with missense mutation. 第 35 回日本分子生物学会年会．福岡，2012.12
- 36) 池島俊季，川口甲介，赤池宗輔，守田雅志，今中常雄．メタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* ペルオキシソーム膜 ABC タンパク質 ABCD1 の発現系構築．第 85 回日本生化学会大会．福岡，2012.12
- 37) 守田雅志，小林晃，松本隼，渡辺志朗，下澤伸行，今中常雄：ABCD1 欠損マウスの分子病態の解析とロレンツ油の効果．日本薬学会第 133 年会．横浜，2013.3
- 38) 池島俊季，川口甲介，守田雅志，今中常雄．メタノール資化性酵母を用いたペルオキシソーム膜 ABC タンパク質の発現と機能解析．日本薬学会第 133 年会．横浜，2013.3
- 39) 李朝香，朝日彰子，川口甲介，守田雅志，今中常雄：ABCD タンパク質のオルガネラ局在化における N 末端疎水性モチーフの役割．種を超えた共通性．日本薬学会第 133 年会．横浜，2013.3
- 40) 西澤千穂，濱弘太郎，永井徹，池田和貴，守田雅志，唐澤健，原田史子，谷川和也，佐藤典子，田口良．下澤伸行．今中常雄，

- 井上圭三, 横山和明. 極長鎖脂肪酸含有脂質の定量解析による2つのペルオキシソーム病の比較. 日本薬学会第133年会. 横浜, 2013. 3
- 41) 有村洸平, 守田雅志, Kostsin DG, 山崎こず枝, 下澤伸行, 今中常雄: 副腎白質ジストロフィーの治療薬開発. ABCD1 タンパク質の安定化を指標としたスクリーニング系の構築. 第14回 Pharmaco-Hematology シンポジウム. 東京, 2013. 6
- 42) 池島俊季, 川口甲介, 守田雅志, 今中常雄. ペルオキシソーム膜 ABC タンパク質 ABCD1 の機能解析. 第86回日本生化学会大会. 横浜, 2013. 9
- 43) Kostsin DG, Morita M, Yamazaki K, Arimura K, Shimozawa N, Imanaka T. Establishment and application of fluorescence-based assay for screening of chemical compounds that stabilize mutant ABCD1 protein responsible for adrenoleukodystrophy. 第86回日本生化学会大会. 横浜, 2013. 9
- 44) 池島俊季, 川口甲介, 守田雅志, 今中常雄: メタノール資化性酵母を用いたペルオキシソーム膜 ABC タンパク質 ABCD1 の発現と機能解析. 第12回次世代を担う若手ファーマ・バイオフィोरラム. 東京, 2013. 9
- 45) 岡元拓海, 川口甲介, 金林峰, 守田雅志, 今中常雄. ABC トランスポーター ABCD4 のリソソームへの局在化機構の解析. 日本薬学会北陸支部第125回例会. 金沢, 2013. 11
- 46) 松本隼, 守田雅志, 渡邊康春, 長井良憲, 小林博司, 高津聖志, 今中常雄: 副腎白質ジストロフィー. レンチウイルスベクターを用いた ABCD1 遺伝子発現と骨髄移植. 日本薬学会北陸支部第125回例会. 金沢, 2013. 11
- 47) 高崎満喜子, 渡邊雄一, 深澤力也, 川口甲介, 守田雅志, 大熊芳明, 今中常雄. ペルオキシソーム膜形成因子 Pex3p と相互作用するタンパク質の検索. 日本薬学会北陸支部第125回例会. 金沢, 2013. 11
- 48) 兵藤沙織, 川口甲介, 守田雅志, 今中常雄. リソソーム膜タンパク質 LMBD1 の異種発現系の構築. 日本薬学会北陸支部第125回例会. 金沢, 2013. 11
- 49) 岡元拓海, 川口甲介, 金林峰, 守田雅志, 今中常雄. ABC トランスポーター ABCD4 のリソソームへの局在化における LMBD1 の役割. 第35回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム. 東京, 2013. 11
- 50) Morita M., Kostsin DG, Yamazaki K, Arimura K, Shimozawa N, Imanaka T. Screening of chemical Compounds that stabilize ABCD1 protein with missense mutation. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. Tokyo, Nov. 2013
- 51) Yokoyama K, Hama K, Nagai T, Nishizawa C, Ikeda K, Morita M, Nakanishi, H, Imanaka, T, Shimozawa N, Taguchi R, and Inoue K, Inoue K. Molecular species of phospholipids with very long chain fatty acids in skin fibroblasts of Zellweger syndrome. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. Tokyo, Nov. 2013
- 52) Okamoto T, Kawaguchi K, Morita M, Imanaka T: Subcellular localization of ABC transporter ABCD4 is regulated by LMBD1. 第36回日本分子生物学会年会. 神戸, 2013, 12
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許登録
- 特許第 5049329 号. 発明名称: ペルオキ

シソーム脂肪酸 酸化系活性化物質の検  
出方法. 特許権者：今中常雄, 株式会社ツ  
ムラ. 発明者：今中常雄, 林 利光, 守田雅  
志. 登録日：平成 24 年 7 月 27 日

2 . 実用新案登録

3 . その他

なし

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

小児副腎白質ジストロフィーの超早期診断法開発に関する研究  
小児 ALD 脳波における突発性徐波 ～未発症例の超早期診断に向けて～

分担研究者： 加我牧子（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所）

研究要旨

小児副腎白質ジストロフィー症の早期治療のための早期診断法の開発が急務であり、これまで発症前男児における視覚誘発電位 VEP の振幅増加を報告したが、より簡便な方法を確立するため、脳波上の局在性徐波の存在に注目し検討してきた。本研究期間において ALD の前頭型 6 例、後頭型 15 例、未発症型 11 例につき安静覚醒時に前頭、中心、頭頂、後頭の 4 電極から記録されたデジタル脳波の ～ 周波数帯域毎にフーリエ解析を行い、特に波含有量について脳表電極の前後に分けて検討した。発症例の波含有量は前頭型では前方、後頭型では後方に多く、未発症型では 3 例が前頭型、5 例が後頭型に類似した型を示した。未発症型の前頭型に類似していた 2 例で治療後は前方の波含有量の減少が認められ、後頭型に類似していた 1 例でも、治療後に後方の波含有量の減少が認められた。また未発症型の後頭型に類似してした 5 例中 3 例は VEP の高振幅も併せて認められた。脳波の周波数解析が ALD の早期診断と発症部位推定および治療効果の判定に役立つ可能性を示唆し、今後症例を重ねての検討が必要であることを明らかにした。

研究協力者氏名

崎原ことえ、軍司敦子、中村雅子、稲垣真澄  
国立精神・神経医療研究センター精神保健研  
究所知的障害研究部

A. 研究目的

小児副腎白質ジストロフィー症（ALD）、特に大脳型の自然歴では発症後数年以内に死に至ることが知られ、発症早期の幹細胞移植のみが現実的には唯一の治療法となっている。大部分が伴性劣性遺伝で、発端者親族では新生児期からの ALD と診断される症例も現実のものとなっている。本分担班ではこれまでに MRI 病変が確認される前の未発症型（3 歳から 14 歳の男児 8 例）について神経心理学的検査、神経生理学的検査を実施した。Wechsler 系知能検査で言語性 IQ と動作性 IQ の乖離および、視覚誘発

電位の高振幅が認められ、いずれも発症早期のサインとなる可能性を報告した。

これまでの研究の一環として聴覚事象関連電位を記録中に突発的な徐波の存在が確認されていることを踏まえて、これが発症の超早期の診断に役立つ新たな指標となる可能性を検討しはじめ昨年度は前頭型、後頭型および未発症型を合わせ計 20 例について検討し、本年度は症例数を増やして徐波の意義を明らかにするため研究を行った。また H23 年度に報告した視覚誘発電位の高振幅と局在性徐波の関係についても検討することを目的とした。

B. 研究方法

2005 年 1 月から 2013 年 9 月までの間に幹細胞移植治療前後の評価のため当院に紹介された 20 歳以下の小児 33 例を対象として解析を行う

ことにした。このうち 24 症例は治療前に受診された。これらの症例のうち後頭型は 16 例( 10 例)、前頭型は 6 例( 5 例)、未発症型 11 例( 9 例)であった(括弧内は治療前受診例)。解析対象とした脳波は本研究班における検査の一環である聴覚性事象関連電位検査中(純音/言語音に対する頭頂部緩反応と mismatches negativity の計 4 種類)と安静閉眼時において記録されたデジタル脳波で、4 つの電極(前頭部 Fz、中心部 Cz、頭頂部 Pz、後頭部 Oz)から記録された脳波につき、 $\delta \sim \gamma$  (2-45Hz)の周波数帯域毎にフーリエ解析を行った。特に  $\delta$  波含有量は電極の脳表前半(Fz と Cz)と後半(Pz と Oz)に分けて分析した。眼球運動や体動などアーチファクトが混入している脳波は除外した。

(倫理面への配慮)

紹介もと病院での主治医の説明に加えて、当院来院時に患児および保護者に、上記検査について説明し、同意を得たうえで検査を実施した。

### C . 研究結果

発症例の  $\delta$  波含有量は前頭型 4 / 6 例では Fz、Cz により多く、後頭型の発症例 11 / 16 例では Pz、Oz により多く認められた。前頭型 2 / 6 例は  $\delta$  波含有量が Pz、Oz に多く認められ、この 2 例は視知覚の異常や VEP の高振幅が見られるなどのこれまでの後頭型とは違い非典型的な臨床所見を示していた。前頭型で幹細胞移植治療を受けて 10 年以上を経過した 1 例では、前方の  $\delta$  波含有量は著しく減少していた。後頭型で Fz、Cz の  $\delta$  波の方が多かった症例は見られなかった。後頭型で幹細胞移植後の 1 例で 6.3 年と 8.5 年後を比較すると、移植後 8.5 年後のほうが  $\delta$  波含有量がより減少していた。

発症型は  $\delta$  波含有量の分布と一致し、同一児では 4 つの聴覚性事象関連電位検査の再現性が認められた。また  $\delta$  波含有量には個人差が大きかった。前頭型 2 例で安静閉眼時の  $\delta$  含有量の

分布が Fz、Cz に多くみとめられた。

未発症型では前頭型に類似のパターンを示した者が 3 例、後頭型に似たパターンを示した者が 5 例あった。前頭型に似たパターンを示した未発症型の 2 例と後頭型に似たパターンを示した未発症の 1 例は、臨床的にも MRI の変化も認められない状態で幹細胞移植治療を受け、治療後には  $\delta$  波含有量が減少していることが確認された。未発症型で前頭型および後頭型に類似した例では、幹細胞移植後 2 年以下で  $\delta$  波含有量の減少が認められた。

未発症型の後頭型に類似した型を示した 3 / 5 例は、閃光刺激による VEP の高振幅も併せて認められた。

### D . 考察

発症型と  $\delta$  波の出現分布が一致していたことから  $\delta$  波含有量の分布は局在部位の推定に役立つ可能性がある。また  $\delta$  含有量が幹細胞移植後の経年によって次第に減少していたことから、移植治療効果の判定にも有用ではないかと期待される。MRI 所見が出ていない未発症例では極早期診断と、局在部位の推定に役立つ可能性がある。安静閉眼時での  $\delta$  波含有量も発症型と一致していたことから、一般脳波検査で実施している閉眼時の計測データを使っても  $\delta$  波含有量を調べられる可能性がある。Benke ら (Human Genetics、1981) は ALD の症例報告にて脳波で連続した  $\delta$  波と  $\gamma$  波が認められることを報告している。また Pen-Jung ら (Journal of Clinical Neurophysiology、2001) は ALD で背景脳波に徐波が混入していることを報告している。

また本邦でも、左側頭～頭頂後頭部の白質に MRI 高信号をみとめた ALD 症例で、左半球の徐波が増加していることが報告されている (Suzuki ら、2000、J Inherit Metab Dis)。ALD 症例で背景脳波に徐波が目立つことはこれまで少数ながら報告はあったが、発症型と

波の含有用分布および幹細胞移植の前後で検討したのは、本研究が初めてである。今後、症例を重ね、治療前後の脳波の徐波含有量変化を検討し、早期診断の真の指標として確立しうるかどうか検討する必要がある。

#### E . 結論

小児 ALD において脳波の局在性徐波化が、早期診断に際して発症と発症部位の推定に役立つ可能性を指摘した。

#### F . 研究発表

##### 1 . 論文発表

- 1) Tamura T, Gunji A, Kaga M, et al : Audio-vocal monitoring system revealed by mu-rhythm activity. *Frontiers in Psychology*. Volume3 (Art225): 1-10,2012.
- 2) Yasumira A, Kokubo N, Kaga M, et al : Neurobehavioral and hemodynamic evaluation of Stroop and reverse Stroop interference in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Brain & Development*. (2014 in press)
- 3) Tsujimoto S, Yasumura A, Kaga M, et al: Increased Prefrontal Oxygenation Related to Distractor-Resistant Working Memory in Children with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD). *Child Psychiatry Hum Dev*44:678-688, 2013
- 4) Inoue Y, Ito K, Kaga M, et al : Psychometric Properties of Japanese version of the Swanson, Nolan, and Pelham, version-IV Scale-Teacher Form: A study of school children in community samples. *Brain & Development*. (in press)
- 5) 加我牧子：先天代謝異常，加我君孝編：新生児・幼小児の耳音響放射と ABR，診断と治療社，東京，pp157-162，2012
- 6) 加我牧子：第 6 章 神経・筋疾患の医療ニーズ 第 6 節 副腎白質ジストロフィー，技術情報協会編：希少疾患/難病の診断・治療と製品開発，技術情報協会，東京，pp953-959，2012

#### 2. 学会発表

- 1) 加我牧子，軍司敦子，中村雅子，崎原ことえ，稲垣真澄：聴覚失認の神経生理学．第 43 回日本臨床神経生理学会学術大会.高知，2013 . 11

#### G . 知的財産権の出願・登録状況

特になし

厚生労働科学研究補助金（難治性疾患克服研究事業）  
総合分担研究報告書

新しい治療法の開発（ケミカルシャペロン療法）  
神経型ゴーシェ病に対するケミカルシャペロン療法

分担研究者：H22-H24 大野耕策 鳥取大学医学部脳神経小児科・教授  
H25-H26 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。本研究にて我々は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た。また、ゴーシェ病の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（LC-ESI-MS/MSによる髄液グルコシルスフィンゴシン測定、赤外線電子瞳孔計による対光反射測定）の開発と臨床応用を行い、シャペロン療法による神経学的所見ならびに客観的指標の改善を認め、中枢神経系への有効性が示唆された。

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（GBA）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。

そこで我々は神経型ゴーシェ病の中枢神経系の治療法の開発を行ってきた。我々は神経型ゴーシェ病の中枢神経系の治療法の開発をめざし、変異酵素を活性化する薬理的シャペロンの開発を行い、N-オクチルバリエナミン（NOV）が3型の原因変異であるF213I、N188S、G202Rの残存酵素活性を上昇させることを見いだした。またスペインとの共同研究でSP2アザ糖が新しいシャペロンとし

て働くことを見いだした。

一方で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ソール（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。アンブロキシソ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。

そこで我々は神経型ゴーシェ病患者由来培養線維芽細胞（N188S/G193W、F213I/L444P、R120W/L444P）を用いてアンブロキシソールのシャペロン効果を確認した。次に正常マウスに対してアンブロキシソール投与を行い、中枢神経系での変異グルコセレブロシダーゼ活性の上昇を確認した。これらの結果より、アンブロキシソールは神経型ゴーシェ病に対しても有効なシャペ



ロン化合物であり、中枢神経系に移行し、効果を発揮する事が期待できるとし、2010年より鳥取大学医学部倫理審査委員会の承認後、患者家族の同意を得て神経型ゴーシェ病患者に対して、酵素補充療法に併せてアンブロキシソール投与を行い、シャペロン療法の安全性を有効性の評価を開始した。

また、臨床症状は患者毎に多様であることから、臨床症状の観察に加え、客観的な有効性の評価法を構築する必要があると考え、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、神経型ゴーシェ病の診断と治療の評価法として有用であるかを検討した。

## B. 研究方法

### 【患者】

スクリーニング時に以下の選択基準をすべて満たす患者を対象とした。

- 1) リンパ球又は培養皮膚線維芽細胞  $\beta$  グルコセレブロシダーゼ (GBA) 活性の低下、及び遺伝学的 (GBA 遺伝子診断) にゴーシェ病と確定診断された患者。
- 2) 上記 1) にてゴーシェ病と診断され、神経症状を\*有する患者。  
\* 異常眼球運動、呼吸障害、嚥下障害、構音障害、けいれん発作、ミオクローヌス・筋緊張の異常 (ジストニア、低緊張、後弓反張、痙性)・失調による運動能力の退行、知的能力の退行など。
- 3) 患者由来培養皮膚線維芽細胞にてアンブロキシソールによるシャペロン効果が確認された患者。
- 4) ゴーシェ病の治療として、酵素補充療法を実施している患者。
- 5) 本研究の参加にあたり、十分な説明を受けた後、十分な理解の上、患者本人あるいは保護者の自由意思による文書同意が得られた患者。

### 【治療薬の調整】

アンブロキシソール塩酸塩製剤 (以下、アンブロキシソール、商品名ムコソルバン) は帝人ファーマ株式会社から購入した。

### 【治療薬の投与方法】

簡易懸濁法にて溶解したアンブロキシソールを分3投与した。アンブロキシソールは 3mg/kg/日から開始し、最終投与量を 25mg/kg/日まで増量した。

### 【治療効果の判定】

血液 (血算、一般生化学検査、リンパ球 GBA 酵素活性、アンブロキシソール血中/髄液中濃度)、尿検査、腹部エコー、腹部 CT、脳 MRI、MRS、脳波、電気生理検査 (聴性脳幹反応、短潜時 SEP、視覚誘発電位、Blink reflex、眼電位図) を治療開始前後に行った。

また、リンパ球 GBA 酵素活性は全ての患者において評価が可能であるが、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る。また、通常の 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、中枢神経系に特異的で、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ると考えた。

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も併せて検討した。

## C. 結果

### 【対象】

2013年10月31日の時点で、計17名の患者に投与を行った。1年以上の投与を終了した6例 [2013年10月31日の時点で、治療期間中央値: 1年11ヵ月 (1年~3年7ヵ月)] について、安全性、有効性及び薬物動態の解析を行った (後述

の結果は投稿準備中である)。

### 【治療経過による有害事象】

安全性に関しては、投与を行ったすべての患者について集計し、1例に皮疹、2例に低尿酸血症を認めたと、いずれも軽度であり、投薬継続で自然軽快した。中止例は3例であり、1例はリンパ球GBA酵素活性の上昇が得られず、無効と判断し、中止となった。2例目は原疾患の進行に関連するイレウス(上腸間膜動脈症候群)にて一旦中止としている。3例目は薬剤アレルギー(ムコソルバンによるDLST陽性)にて使用21日で中止となった。

これら3例を除いた14例は現在も治療を継続しており、有害事象は報告されていない。

### 【有効性】

以下の有効性に関する項目は、1年以上の投与を終了した6例[2013年10月31日の時点で、治療期間中央値:1年11ヵ月(1年~3年7ヵ月)]について解析を行った。

#### (1) リンパ球GBA酵素活性

リンパ球GBA活性は、アンプロキソール塩酸塩を25mg/kg/日投与することにより、治療前のコントロールの14.3%(n=6、5.5-30.9%)から、治療後には48.3%(n=6、42.2-54.6%)まで有意に上昇した。

#### (2) 臨床症状(痙攣、ミオクローヌス)

薬剤抵抗性のミオクローヌス並びに痙攣発作を有した5例において、発作頻度並びに発作持続時間の改善を認めた(表1、図1)。治療前には歩行や独座が不能であった2症例では、再度歩行が可能となるなど粗大運動機能スコア(GMFM)(図2)ならびに日常生活動作(ADL)の改善(図3)を得た。開始時に既に寝たきりとなっており、ADLの評価不能であった2症例に関しても、痙攣やミオクローヌスの軽減によって全身状態の

安定化や介護者の負担軽減が得られた。

### (3) 電気生理検査

治療効果判定の生理学的指標として、脳波、電気生理検査(聴性脳幹反応、短潜時SEP、視覚誘発電位、Blink reflex、眼電位図)を施行した。治療1年目の評価で聴性脳幹反応、短潜時SEP、視覚誘発電位、Blink reflexに関しては、一定の傾向は得られなかった。診察指示に応じる事が可能な2例で眼電位図による水平性衝動性眼球運動の潜時を測定し、治療後に潜時の改善を認めた。その他、脳波で1例にspike indexの低下を認めた。

### (4) 画像検査

頭部MRI、MRS検査を施行し、1例に軽度の萎縮の進行を認めた。その他5例では著変は認めなかった。MRSにて共通する特記所見は得られなかった。

### (5) 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)の髄液グルコシルスフィンゴシンをLC-ESI-MS/MSを用いて測定し、神経型ゴーシェ病では平均29倍(中央値88.0pg/ml、26.6-2000pg/ml)とコントロール群(中央値2.81pg/ml、0-8.49pg/ml)に比して有意に上昇していることを確認した。

また、6例全例で治療開始12ヶ月後にベースラインより有意な低下を認めた(図4)。

### (6) 電子瞳孔計による対光反射計測

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)におい

て赤外線電子瞳孔計（イリスコーダデュアルC 10641、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。

神経型（Ⅲ型およびⅡ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られた。非神経型（Ⅰ型）の2例にはいずれの異常も認めなかった。

治療12ヶ月後に評価が可能であった4例に関して再度測定を行い、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5）。

#### D. 考察

本研究において、17例中1例の薬剤アレルギーによる因果関係が否定できない中止を認めたが、その他の重篤な副作用は認めず、安全性・忍容性に優れた治療であることが示唆された。

臨床症状の改善に関しては、治療抵抗性の痙攣発作やミオクローヌスに対しても、評価症例全例においてミオクローヌス及び痙攣の軽減を認め、それに伴うADLの改善が得られた。また、眼球運動の潜時や対光反射などの生理学的指標においても中枢神経における改善が確認できた。

病状の重症度や治療法に影響を受けにくい客観的な評価法として、髄液グルコシルスフィンゴシンの定量を行い、その評価系を構築した。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、神経型の中枢神経に過剰蓄積し、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에서도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、中枢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。

#### E. 結論

神経型ゴーシェ病患者へのアンブロキシソールの大量長期経口投与は、有害事象を伴わず、患者の残存酵素活性を上昇させた。また、進行例であってもミオクローヌスや対光反射の改善等の神経症状に対する改善効果を有する可能性が示唆された。

加えて本研究で開発した髄液グルコシルスフィンゴシン測定と電子瞳孔計を用いた対光反射測定は、指示に応じる事が困難な年少児や重症例においても施行可能な客観的評価方法であり、効果判定の有用な指標となり得る事が示唆された。

今後は症例数を増やし、安全性・忍容性に加え、中枢神経治療薬としての有効性を更に検討していく。

#### 図表

表1. 臨床症状の経過

患者	年齢	病型	発作様式	発作頻度（前）	発作頻度（治療後）
①	33	Ⅲ	ミオクローヌス（安静時）	顔面、四肢に 10回>10秒	
②	3	Ⅱ	強直痙攣	8回/28日	4回未満/28日
③	22	Ⅲ	強直痙攣 ミオクローヌス	強直痙攣： 4.8回/28日 ミオクローヌス： 10回>10秒	強直痙攣： 4.6回/28日 ミオクローヌス： 10回>10秒
④	17	Ⅲ	強直間代痙攣 ミオクローヌス	強直間代痙攣： 26回/28日 ミオクローヌス： 10回>10秒	強直間代痙攣： 12.3回/28日 ミオクローヌス： 10回>10秒
⑥	4	Ⅱ	強直間代痙攣 ミオクローヌス	痙攣重積：3回/年 ミオクローヌス： 7.2回/10秒	痙攣重積：1回/年 ミオクローヌス： 3.4回/10秒

図 1 . ミオクローヌス評価 ( U M R S )

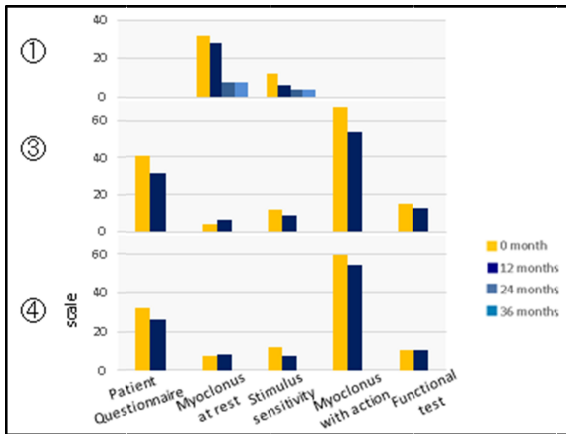


図 4. 髄液グルコシルスフィンゴシン

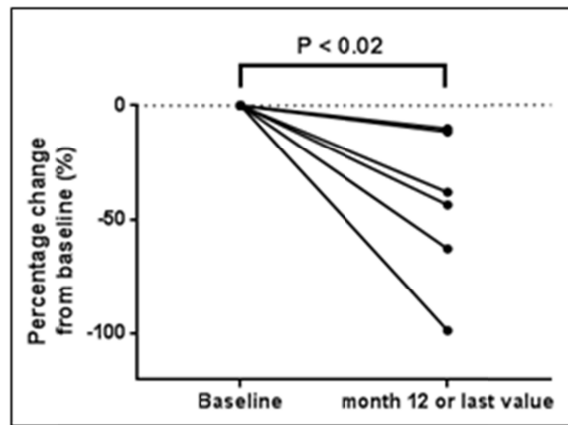


図 2 . 粗大運動評価 ( G M F M )

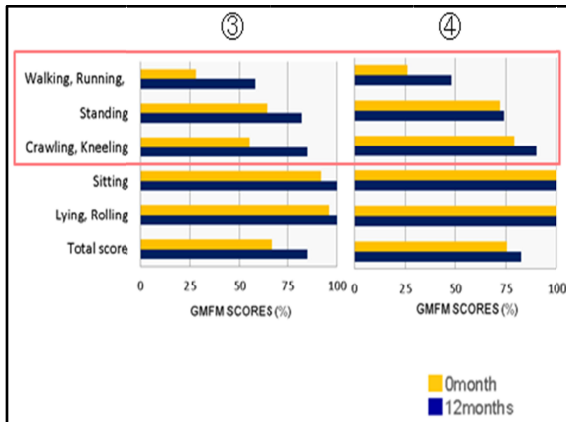


図 5. 対光反射

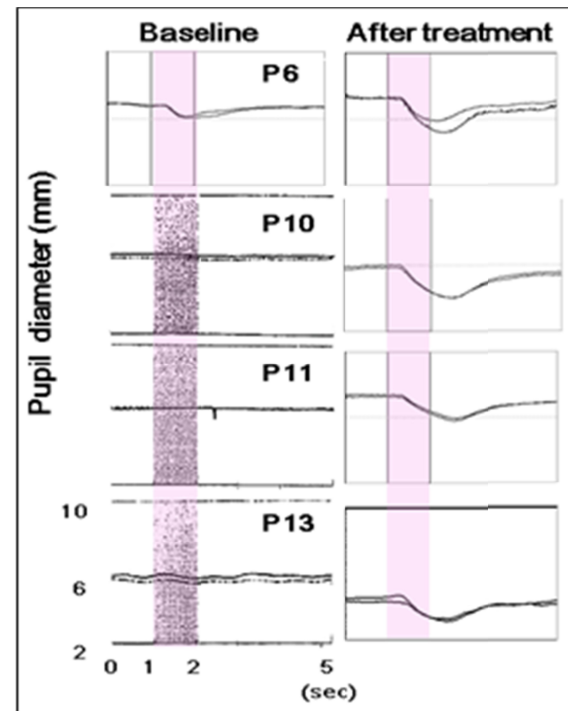
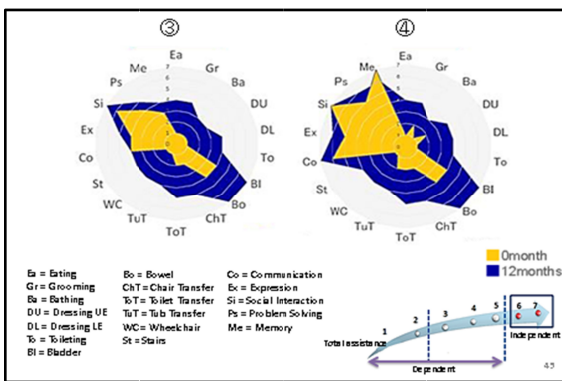


図 3 . 日常生活動作評価 ( F I M )



1. 論文発表

- 1) Li, L., K. Higaki, et al. Chemical chaperone therapy: luciferase assay for screening of beta-galactosidase mutations. *Mol Genet Metab* 101(4): 364-369, 2010
- 2) Luan, Z., K. Higaki, et al. A Fluorescent sp2-iminosugar with pharmacological chaperone activity for gaucher disease: synthesis and intracellular distribution studies. *ChemBiochem* 11(17): 2453-2464, 2010

- 3) Katsumi Higaki , Linjing Li , Kousaku Ohno, et al. Chemical Chaperone Therapy: Chaperone Effect on Mutant Enzyme and Pathophysiology in  $\beta$ -Galactosidase Deficiency. Hum Mutat 32: 843-852, 2011.
- 4) Ayumi Takamura, Katsumi Higaki, Kousaku Ohno, et al. Lysosomal accumulation of Trk protein in brain of GM1-gangliosidosis mouse and its restoration by chemical chaperone. J.Neurochem.118, 399-406, 2011
- 5) Luan Z, Linjing Li , Higaki K ,Ohno K, et al. The chaperone activity and toxicity of ambroxol on Gaucher cells and normal mice. Brain Dev. 2012 Jun 7
- 6) Suzuki Y, Ichinomiya S, Ohno K, et al. Therapeutic chaperone effect of N-octyl 4-epi- $\beta$ -valienamine on murine G(M1)-gangliosidosis. Mol Genet Metab. 106(1), 92-98, 2012
- 7) 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
- 8) 成田綾、大野耕策：ミオクローヌス What ' s myoclonus ? ライソゾーム病. Clinical Neuroscience 30(7):822-825, 2012
- 第 54 回日本先天代謝異常学会
- 4) Aya Narita, Kousaku Ohno, et al. Chaperone therapy for neuronopathic Gaucher disease. 13th Lysosomal Disease Network World Symposium .Orlando, Feb. 2013
- 5) 成田綾、板村真司、大野耕策他 神経型 Gaucher 病に対するアム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
- 6) 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

## 2. 学会発表

- 1) 成田綾、前垣義弘、大野耕策 . Gaucher 病 3 型患者に対するケミカルシャペロン療法の効果 . 第 53 回日本小児神経学会総会 . 横浜、2011.5
- 2) Aya Narita, Luan Zhuo, Kousaku Ohno, et al. Chemical chaperone therapy for neuronopathic Gaucher disease. 12<sup>th</sup> International Child Neurology Congress 2012
- 3) 成田綾、白井謙太郎、大野耕策他 神経型 Gaucher 病に対するケミカルシャペロン療法

## β-ガラクトシダーゼ欠損症の遺伝子変異解析に関する研究

分担研究者：難波 栄二 (鳥取大学生命機能研究支援センター教授)

### 研究要旨

β-ガラクトシダーゼ欠損症患者 8 検体 (GM1-ガングリオシドーシス 6 検体、モルキオ B 病 2 検体) について遺伝子変異解析を行った。患者由来の皮膚線維芽細胞に対するケミカルシャペロン化合物 NOEV と 6S-NBI-DGJ の効果を検討し、シャペロン効果の変異型特異性を明らかにした。

### A. 研究目的

β-ガラクトシダーゼ欠損症の遺伝子変異解析を行った。β-ガラクトシダーゼ欠損症患者由来培養皮膚線維芽細胞に対するケミカルシャペロンの効果を検討し、新規シャペロン療法開発のための基礎的な知見を得る目的で研究を行った。

### B. 研究方法

#### 1. β-ガラクトシダーゼ遺伝子変異解析

β-ガラクトシダーゼ欠損症患者由来培養皮膚線維芽細胞および血液検体からゲノム DNA を抽出し、全エクソンについてシーケンス解析を行った。

#### 2. GM1-ガングリオシドーシス患者皮膚線維芽細胞に対するシャペロン効果の検討

培養皮膚線維芽細胞に対するシャペロン効果の検討は 0.2、2 μM の NOEV (N-octyl-4-epi-β-valienamine) または 20、80 μM の 6S-NBI-DGJ を含む培地で 4 日間培養後、細胞抽出液のβ-ガラクトシダーゼ酵素活性を 4-MU 人工基質を用い測定し行った。

### C. 研究結果

GM1-ガングリオシドーシス 6 検体について遺伝子変異解析を行い、Y333C/Y333C、H102D/L499Q、L162S/R590C、D640Y/?、M1C/R49G、R59H/R59H を同定した。モルキオ B 病 2 検体においては、R482H/T500A、R68Q/T500A 変異をそれぞれ同定した。

また、9 人の GM1-ガングリオシドーシス患者由来皮膚線維芽細胞について NOEV と 6S-NBI-DGJ のシャペロン効果を検討した結果、NOEV は 5 細胞に対し、6S-NBI-DGJ は 6 細胞に対し有意なシャペロン効果を認めた (図 1)。

### D. 考察

今回同定した変異のうち、M1C、R49G、H102D、L499Q および D640Y 変異は報告のない変異型であった。このうち H102D と L499Q は変異 cDNA 発現細胞系において活性低下をみとめたので、新規変異の可能性が高い。また、M1C と R49G は機能予測ソフト Polyphen2 において、共に機能欠損の可能性を示し、責任変異である可能性を示唆した。

#	Mutation	Phenotype	Ethnic Origin	NOEV	MTD118
1	p.L162S/p.R590C	G <sub>M1</sub>	Caucasian	Positive	Positive
2	p.I51T/?	G <sub>M1</sub>	Japanese	Positive	Positive
3	p.Y270D/p.Y270D	G <sub>M1</sub>	UK	Negative	Negative
4	p.R208C/IVS10,+1 G>A	Inf G <sub>M11</sub> 1	Japanese	Negative	Positive
5	p.R201C/?	Juv G <sub>M1</sub>	Japanese	Positive	Positive
6	p.Y333C/p.Y333C	G <sub>M1</sub>	UK	Positive	Positive
7	p.S54N/p.D640Y	Inf G <sub>M1</sub>	Russian	Negative	Negative
8	p.K578R/?	G <sub>M1</sub>	UK	Positive	Positive
9	p.R59H/p.R59H	Inf G <sub>M1</sub>	Japanese	Negative	Negative

図1 GM1-ガングリオシドーシス皮膚線維芽細胞に対するシャペロン効果

シャペロン活性について、新規シャペロン化合物 6S-NBI-DGJ は NOEV が効果を示さない I51T などの変異に対し有効性を示す (Higaki et al, 2011; Takai et al, 2013)。今回の培養線維芽細胞に対する検討においても、6S-NBI-DGJ は R208C に有効性を示したことから、NOEV とは異なる変異型に有効性を示す可能性がある。今後はこれらの化合物が有効でない変異型に対する新規化合物の探索が必要と考える。

#### E. 結論

β-ガラクトシダーゼ欠損症の遺伝子変異解析を行い、変異を同定した。2つのシャペロン化合物が異なる変異型に対する有効性を示した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Li L, Higaki K, Ninomiya H, Luan Z, Iida M, Ogawa S, Suzuki Y, Ohno K, Nanba E. Chemical chaperone therapy: Luciferase assay for screening of β-galactosidase

mutations. *Mol Genet Metab*, 101, 354-369, 2010

- 2) Luan Z, Higaki K, Aquilar-Moncayo M, Li L, Ninomiya H, Nanba E, Ohno K, García-Moreno MI, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Suzuki Y, A fluorescent sp2-iminosugar with pharmacological chaperone activity for Gaucher disease: Synthesis and intracellular distribution studies. *ChemBioChem*, 11, 2453-2463, 2010

- 3) Higaki K, Li L, Bahrudin U, Okuzawa S, Takamura A, Yamamoto K, Adachi K, Paraguison RC, Takai T, Ikehata H, Tominaga L, Hisatome I, Iida M, Ogawa S, Matsuda J, Ninomiya H, Sakakibara Y, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E. Chemical chaperone therapy: chaperone effect on mutant enzyme and cellular pathophysiology in β-galactosidase deficiency. *Hum Mutat*, 32, 843-852, 2011

- 4) Takamura A, Higaki K, Ninomiya H, Takai T, Matsuda J, Iida M, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E. Lysosomal accumulation of Trk protein in brain of GM1-gangliosidosis mouse and its restoration by chemical chaperone. *J Neurochem*, 118, 399-406, 2011
  - 5) Otomo T, Higaki K, Nanba E, Ozono K, Sakai N. Lysosomal storage causes cellular dysfunction in mucopolidosis II skin fibroblasts. *J Biol Chem*, 286, 35283-35290, 2011
  - 6) Xiong H, Higaki K, Wei C, Bao CW, Zhanf YH, Fu N, Qui J, Adachi K, Kumura Y, Ninomiya H, Nanba E, Wu XR. Genotype/phenotype of 6 Chinese cases with Niemann-Pick disease type C. *Gene*, 498, 332-335, 2012
  - 7) Suzuki Y, Ichinomiya S, Kurosawa M, Matsuda J, Ogawa S, Iida M, Kubo T, Tabe M, Itoh M, Higaki K, Nanba E, Ohno K: Therapeutic chaperone effect of *N*-octyl 4-epi- $\beta$ -valienamine on murine GM<sub>1</sub>-gangliosidosis. *Mol Genet Metab* 106: 92-8, 2012.
  - 8) Aguilar-Moncayo M, Takai T, Higaki K, Mena-Barragán T, Hirano Y, Yura K, Li L, Yu Y, Ninomiya H, García-Moreno I, Ishii S, Sakakibara Y, Ohno K, Nanba E, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Suzuki Y: Tuning glycosidase inhibition through aglycone interactions: Pharmacological chaperones for Fabry disease and GM<sub>1</sub> gangliosidosis, *Chem Commun* 48: 6514-6, 2012.
  - 9) Castilla J, Riquez R. Cruz D, Higaki K, Nanba E, Ohno K, Suzuki Y, Diaz Y, Ortiz Mellet C, Carcia Fernandez JM, Castillon S: Conformationally-locked N-glycosides with selective  $\beta$ -glucosidase inhibitory activity: Identification of a new non-iminosugar-type pharmacological chaperone for Gaucher disease. *J Med Chem* 55:6857-65, 2012.
  - 10) Luan Z, Li L, Higaki K, Nanba E, Suzuki Y, Ohno K, The chaperone activity and toxicity of ambroxol on GD cells and normal mice. *Brain Dev*, 2013 35: 317-322.
  - 11) Takai T, Higaki K, Aguilar-Moncayo M, Mena-Barragán T, Hirano Y, Yura K, Yu L, Ninomiya H, García-Moreno I, Sakakibara Y, Ohno K, Nanba E, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Suzuki 1 Y, A bicyclic 1-deoxygalactonojirimycin derivative as a novel pharmacological chaperone for GM<sub>1</sub> gangliosidosis. *Mol Ther*, 2013 21: 526-532.
  - 12) Higaki K, Ninomiya H, Suzuki Y, Nanba E. Two candidate molecules for chemical chaperone therapy for GM<sub>1</sub>-gangliosidosis. *Future Med Chem*. 2013 5(13): 1551-1558.
2. 学会発表
    - 1) 難波栄二、檜垣克美 : GM<sub>1</sub>-ガングリオシドーシス脳神経細胞内のユビキチン化蛋白質の蓄積. 第 52 回 日本小児神経学会総会、福岡、2010.5
    - 2) 難波栄二 : ケミカルシャペロン療法. 第 52 回 日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
    - 3) 高井知子、檜垣克美、李林静、飯田真己、大野耕策、鈴木義之、難波栄二 : ベータガラクトシダーゼに対するシャペロン活性測定のため



- めの新規細胞系の構築. 第 52 回 日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 4) 高井知子、檜垣克美、李林静、榊原康文、鈴木義之、難波栄二：ヒト変異 $\beta$ -ガラクトシダーゼに対するシャペロン効果. 第 83 回 日本生化学会大会、神戸、2010.12
  - 5) 檜垣克美、栞卓、李林静、難波栄二、大野耕策、Carmen Ortiz Mellet、José M. García Fernández、鈴木義之：ゴーシェ病に対する蛍光標識薬理的シャペロンの効果に関する検討. 第 15 回日本ライソゾーム病シンポジウム、東京、2010. 12
  - 6) Nanba E. Chemical chaperone therapy for lysosomal storage diseases. Satellite Symposium of Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases 2011 Tokyo Meeting on Lysosomal Storage Disease Screening. Tokyo, 2011.8
  - 7) Takai T, Higaki K, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E. Chemical chaperone therapy: chaperone effect on mutant enzyme and cellular pathophysiology in  $\beta$ -galactosidase deficiency. Satellite Symposium of Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases 2011 Tokyo Meeting on Lysosomal Storage Disease Screening. Tokyo, 2011.8
  - 8) 高井知子、檜垣克美、鈴木義之、難波栄二：ヒト変異 $\alpha$ -ガラクトシダーゼに対する新規シャペロン化合物. 第 84 回 日本生化学会大会、京都、2011.9
  - 9) 三浦弘子、檜垣克美、山内裕子、高井知子、難波栄二：ライソゾーム病神経変性とミトコンドリア異常. 第 84 回 日本生化学会大会、京都、2011.9
  - 10) 檜垣克美、高村歩美、大野耕策、鈴木義之、難波栄二：GM1 ガングリオシドーシスモデルマウス脳におけるシグナル伝達異常. 第 16 回日本ライソゾーム病シンポジウム、東京、2010. 9
  - 11) Higaki K, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E. Chemical chaperone therapy for  $\beta$ -galactosidase deficiency. 12<sup>th</sup> International Congress of Human Genetics, Montreal, Canada, 2011,10
  - 12) 高井知子、檜垣克美、Ortiz Mellet C, Garcia Fernandez J, 大野耕策、鈴木義之、難波栄二：ベータガラクトシダーゼに対する新規シャペロン候補化合物の解析. 第 53 回 日本先天代謝異常学会総会、千葉、2011.11
  - 13) Yi Y, 檜垣克美、Ortiz Mellet C, Garcia Fernandez J, 大野耕策、鈴木義之、難波栄二：ファブリー病に対する新規シャペロン候補化合物の解析. 第 53 回 日本先天代謝異常学会総会、千葉、2011.11
  - 14) Takai T, Higaki K, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E: A novel chaperone compound for GM1-gangliosidosis. 第 17 回日本ライソゾーム病研究会、東京、2012.10.5-6.
  - 15) Yu Y, Higaki K, Takai T, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E: Tuning glycosidase inhibition through aglycone interactions: pharmacological chaperones for Fabry disease and GM1-gangliosidosis. 第 17 回ライソゾーム病研究会、東京、2012.10.5-6.
  - 16) 難波栄二、檜垣克美、高井知子、Yu Yi, 大野耕策、鈴木義之：ファブリー病ならびに GM1-ガングリオシドーシスに対する新しいシャペロン治療薬の開発. 第 57 回日本人類遺伝学会、

東京、2012.10.24-27.

- 17) 高井知子, 檜垣克美, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, 大野耕策, 鈴木義之, 難波栄二: ヒトI51T変異 $\beta$ -ガラクトシダーゼに有効な新規ケミカルシャペロン化合物の解析. 第54回日本先天代謝異常学会、岐阜、2012.11.15-17.
- 18) 難波栄二. ライソゾーム病に対するシャペロン療法. 第2回先天代謝異常症患者会フォーラム. 東京, 2013. 8
- 19) 難波栄二, 檜垣克美, 高井知子, 由良敬, 榊原康文, Carmen Ortiz Mellet, Jose M. Garcia Fernandez, 鈴木義之.  $\alpha$ -ガラクトシダーゼ欠損症に対するシャペロン治療薬の開発. 第58回日本人類遺伝学会. 仙台, 2013. 11
- 20) Nanba E. Chaperone therapy for lysosomal storage diseases. The 3<sup>rd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55<sup>th</sup> Annual Meeting for The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Nov. 2013
- 21) Takai T, Higaki K, Suzuki Y, Nanba E. Comparison of two Chaperone candidates for treatment of GM1-gangliosidosis. The 3<sup>rd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55<sup>th</sup> Annual Meeting for The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Nov. 2013

22) Hossain MA, Higaki K, Nanba E, Suzuki Y, Ozono K, Sakai N. NOEV treatment option for Japanese late-onset Krabbe disease. The 3<sup>rd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55<sup>th</sup> Annual Meeting for The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Nov. 2013

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

Nanba E, Higaki K, Suzuki Y: Utilizacion de derivados biciclicos de 1-deoxygalactonojirimycina en la preparacion de un medicamento para el tratamiento de enfermedades relacionadas cn beta-enzimas galactosidasas lisosomicas mutantes humanas (Use of bicyclic derivatives of 1-deoxygalactonojirimycin for the formulation of drugs against lysosomal storage disorders associated to mutations on the acid  $\beta$ -galactosidase), ES P201232024 (December 26, 2012)

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

レンチウイルスベクターを用いた遺伝子治療法の開発

分担研究者：小林博司（東京慈恵会医科大学 DNA 医学研究所遺伝子治療研究部）

研究要旨

ムコ多糖症 VII 型(MPSVII)、およびクラッペ病は、ライソゾーム性分解酵素欠損による常染色体劣性遺伝病である。我々はレンチウイルスを用いたこの二疾患に対する遺伝子治療の検討を進めた。まず MPSVII の欠損酵素 HBG (human  $\beta$ -glucuronidase) を組み込んだレンチウイルスを作成し、細胞への導入で有意な活性上昇を見た。更に新生児マウスへの静脈注射により、生命予後の改善、中枢神経系への長期遺伝子発現、オートファジービルドアップ抑制効果も得られた。またクラッペ病の欠損酵素 GALC ( $\beta$ -galactocerebrosidase) を組み込んだレンチウイルスも開発し、細胞株 (293A、ヒトオリゴデンドロサイト細胞株) およびマウス新生児での肝臓での酵素発現上昇、脳でのサイコシン蓄積の減少が見られた。更に基質合成阻害薬を併用することで相乗効果的な生命予後の改善が見られた。またタンパク質のミスフォールディングによる遺伝子発現の低下などを抑制する目的で組込む遺伝子のシークエンスを改変した codon optimization GALC を組み込み、同様に効果を検討し体重増加などで有効性が見られた。

これらの研究から効果に疾患ごとの差異は当然あるものの、レンチウイルスベクターによる新生児遺伝子治療はライソゾーム病の表現型の改善に有効と考えられた。

研究協力者：有賀賢典 東京慈恵会医科大学助教

A．研究目的

ムコ多糖症およびクラッペ病の根本的治療としての有効な遺伝子治療の開発

B．研究方法

1．組換えレンチウイルス

HIV 由来であり NEF, VIF などの副蛋白を除去し、IRES 配列を介してレポーター遺伝子として GFP を組み込んだレンチウイルスベクターに MPSVII の欠損酵素 HBG、さらに Krabbe 病の欠損酵素 GALC をクローニングし、2 種類の組換えレンチウイルスを作成した。

2．細胞培養

実験に使用する 293A 細胞は 10% ウシ胎児血清と抗生物質とを加えた DMEM(D-10) 培地を用いて、5% 二酸化炭素の環境下において、37 で培養した。これに対し組換えウイルスを希釈を系列を作って感染させ、GFP および欠損酵素の力価を計測した。

3．新生児マウスへの投与：

日令 0-2 の新生児マウスの顔静脈へ作成した組換えウイルスを静脈注射し、5 週間臨床所見、病理、脳、肝臓などでの欠損酵素およびレポーター遺伝子発現を評価した。MPSVII ではグリコサミノグリカン、クラッペ病ではサイコシンといった蓄積物質の評価も行った。更にクラッ

ペ病では基質合成阻害剤 L-シクロセリンを遺伝子治療を行ったマウス群で日齢 5 から隔日で皮下注射し効果を検討した。

またタンパク質のフォールディングによる遺伝子発現の低下などを抑制する目的で組み込む遺伝子のシークエンスを改変した codon optimization GALC を (Gen Script 社に依頼合成) 組み込み、同様に新生児注射による効果を検討した。

C．研究結果

1．MPSVII の欠損酵素 HBG を組み込んだウイルスを感染させた細胞株 (293A) は HBG と GFP 両方の発現が容量依存性に見られ、FITC フィルタを用いた蛍光顕微鏡では GFP 発現細胞を数多く確認できている。新生児モデルマウスへの遺伝子導入では 30 週齢を超えても中枢神経系への遺伝子発現が realtime PCR により確認され、更に主要臓器での蓄積物質の減少も見られた。また脳組織でのオートファジービルドアップの抑制効果が遺伝子治療群で見られ、これは時間経過につれて小さくなることが確認された。また生命予後は遺伝子治療群で有意に改善が見られた。

2．Krabbe 病の欠損酵素 GALC を組み込んだウイルスを感染させた細胞株 (293A) では GALC、GFP 両方の発現が見られ、モデルマウスへの新生

児注射では1週間後の肝において正常の10%の酵素活性が得られた。更に5週齢の脳ではサイコシンの減少が有意に見られた。また基質合成阻害剤 L-シクロセリン併用群では生命予後、症状発現遅延効果において有意な所見が得られた。codon optimization GALC を組込んだレンチウイルスベクターによる新生児遺伝子治療では細胞株において十分な over expression が見られ、in vivo でも体重増加にやや優位性が見られた。

#### D. 考察

MPSVII に関しては生命予後の改善、導入遺伝子の長期発現が証明され遺伝子治療の in vivo での有用性が示唆された。クラッペ病でも有意な生命・症状発現遅延効果は得られ、基質合成阻害、codon optimization などにより更に相乗効果が期待された。これら二つの基質の異なるライソゾーム蓄積症において効果に差はあったがレンチウイルスベクターを用いた新生児遺伝子治療は有効であったと考えられた。

#### E. 健康危険情報なし

#### F. 研究発表

- 1) 小林博司、飯塚佐代子、有賀賢典、島田洋太、井田博幸、衛藤義勝、ほか: レンチウイルスベクターシステムを用いたクラッペ病の遺伝子治療 (ポスター) 日本小児科学会 2010.4. 盛岡
- 2) Kobayashi H., Ariga M., Shimada Y., Izuka S., Yokoi T., Iwamoto T. et al. Neonatal Gene Therapy for the mouse model of Krabbe Disease. Japanese Society of Gene and Cell Therapy. Utsunomiya, Tochigi., Japan. July. 2010.
- 3) Kobayashi H., Izuka S., Ariga M, et al. Lentivirus mediated neonatal gene therapy for Krabbe disease. 14<sup>th</sup> annual meeting of American Society of Gene and Cell Therapy (ASGCT) 2011. May Seattle, WA.
- 4) 小林博司、飯塚佐代子ほか レンチウイルスベクターを用いたクラッペ病に対する遺伝子治療 第17回日本遺伝子治療学会 福岡、2011年7月
- 5) 有賀賢典、小林博司ほか レンチウイルスベクターを用いたムコ多糖症 VII 型に対する遺伝子治療 第53回日本先天代謝異常学会 千葉 2011年11月
- 6) Lentiviral Vector Mediated Neonatal Gene Therapy of Krabbe Disease Model Mice. Hiroshi Kobayashi, Yota Shimada, Sayoko Izuka, Takashi Higuchi, Masamichi Ariga, Takeo Iwamoto, Takahiro Fukuda, Hiroyuki Ida, Yoshikatsu Eto, Toya Ohashi. (O-18) The 2<sup>nd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Disease 2012. April, Soul.
- 7) Lentivirus Mediated Gene Therapy For Krabbe Disease. Hiroshi Kobayashi, Sayoko Izuka, Takahiro Fukuda, Takeo Iwamoto, Asako Morita, Masamichi Ariga, Yota Shimada, Takayuki Yokoi, Hiroyuki Ida, Yoshikatsu Eto, Toya Ohashi. 第18回日本遺伝子治療学会 JSGCT 2012年6月、熊本
- 8) レンチウイルスベクターを用いたクラッペ病モデルマウスに対する新生児遺伝子治療 小林博司、有賀賢典、飯塚佐代子、岩本武夫、嶋田洋太、福田隆浩、衛藤義勝、大橋十也. 第57回日本人類遺伝学会 2012年10月、東京
- 9) Kobayashi H., Izuka S., Ariga M, et al. Gene therapy for mouse model of Krabbe disease. 16<sup>th</sup> annual meeting of American Society of Gene and Cell Therapy (ASGCT) 2013. May Saltlakecity, UT.
- 10) 小林博司、飯塚佐代子ほか レンチウイルスベクターを用いたクラッペ病に対する遺伝子治療 第19回日本遺伝子治療学会 岡山、2013年7月
- 11) Gene Therapy for Krabbe Disease. Hiroshi Kobayashi, Yota Shimada, Takeo Iwamoto, Takahiro Fukuda, Masamichi Ariga, Yohei Sato, Taichi Wakabayashi, Sayoko Izuka, Yoshikatsu Eto, Hiroyuki Ida, Toya Ohashi. (P-101) The 3<sup>rd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Disease (ACIMD) and The 55<sup>th</sup> Annual Meeting for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD) joint meeting 2013. Nov., Chiba, Japan.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## ムコリピドーシス II/III とクラッペ病の病態解明と治療法の開発

分担研究者：酒井規夫 大阪大学大学院医学系研究科 小児科学講座

### 研究要旨

リソソーム病の一つであり、著明な骨病変、心弁膜症、神経症状を来すムコリピドーシスの培養皮膚線維芽細胞を用いて、この疾患の病態解明とライソゾーム酵素の補充による治療法の開発を行なった。またもう一つのライソゾーム病であるクラッペ病についても変異解析と、その変異蛋白の発現実験系を用いてシャペロン療法の可能性について解析を行なったので報告する。

### A. 研究目的

ムコリピドーシス II/III (MLII/III)の患者の培養皮膚線維芽細胞においてライソゾーム酵素の糖鎖のリン酸化が障害されることにより、様々な基質が蓄積することが基本病態と考えられるが、それ以外にライソゾームの pH、オートファジー、膜のエンドサイトーシスなどにおける病態を解明する。また正常細胞内のライソゾーム酵素を塩化アンモニウム処理することによって培養液中に放出する現象を用いて、ライソゾーム酵素の混合液を作成し、治療薬の開発を目的とした。

また、クラッペ病の日本人の病型をまとめ、変異解析を行なうことで遺伝子型-表現型相関を解析し、変異蛋白の一過性発現系を構築して、ガラクトシダーゼのシャペロン NOEV の有効性を確認することを目的とした。

### B. 研究方法

- 1) ライソゾーム酵素混合液の作成；正常細胞に塩化アンモニウムを負荷し、培養液中に出てきた酵素を濃縮して作成した。
- 2) ムコリピドーシスの患者細胞におけるライソゾームの変化の解析と前記酵素混合液の治療

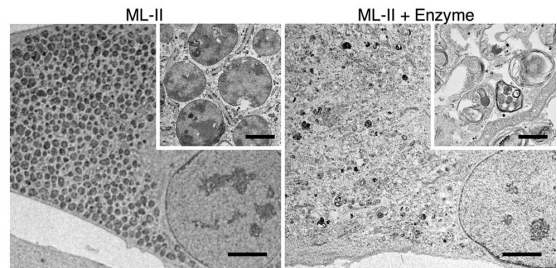
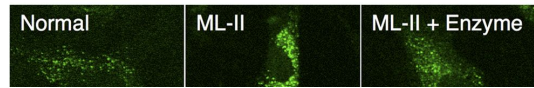
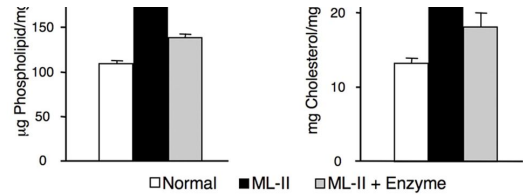
効果の解析；LysoSensor を用いて細胞を染色し、ライソゾームの pH を測定し、正常との差を調べ、治療によってどうなるかを解析した。ライソゾームの基質として Phospholipid と Cholesterol を例にとりその量を正常と比較し、治療効果を調べた。ライソゾームの数(量)を LysoTracker と DAPI との蛍光量を用いて測定し、正常細胞との差を調べ、治療による効果を解析した。BODIPY-Cer を培養細胞に負荷し、その取り込みを最上細胞と比較し、治療効果を解析した。オートファジーの状態を LC3 の Western を用いて正常と比較し、酵素治療での反応を見る。またミトコンドリアの形態変化についても観察した。電子顕微鏡で Inclusion body の様子を酵素治療の前後で観察した。

- 3) クラッペ病の日本人症例の解析；5 1 例について、その臨床病型と遺伝子変異について解析した。高頻度変異について発現ベクターを作成し、その酵素活性と前駆体からの成熟について解析した。
- 4) クラッペ病の変異蛋白に対する NOEV のシャペロン効果；変異蛋白の発現系を用いて、シャペロン物質 NOEV の効果について解析した。

### C. 研究結果

5) ライソゾーム酵素混合液の作成；ライソゾーム混合液の酵素活性を、正常細胞の培養液上清と比較すると、 $\alpha$ -hexosaminidaseA の 20 倍を最高に上昇しており、そのパターンは、MLII 細胞の上清における漏れ出た酵素活性の比と類似していた。これを疾患細胞に負荷したあと細胞内の酵素活性は負荷前より上昇し、これは M-6-P の濃度依存性に阻害された。

6) ムコリポドーシスの患者細胞におけるライソゾームの変化の解析と前記酵素混合液の治療効果の解析；ライソゾームの pH は正常で 4.8 なのに対し、5.3 と上昇し、酵素治療に反応して 5.0 程度に回復した。ライソゾームの基質は正常に比し疾患細胞で増加していたが、これは酵素治療に反応して回復した。ライソゾームの DAPI 染色に対する比としての量は正常で 0.4 であったが疾患細胞で 1.2 と増加し、治療によって 0.8 と低下した。エンドサイトーシスの状態を BODIPY-Cer の取り込みでみると、MLII ではゴルジ領域に停滞していた流れが、酵素治療後は正常化していた。正常細胞に比し MLII 細胞では LC3 の発現が上昇しているが、これも治療により改善が Western でみられた。またミトコンドリアの形態も MLII では fragmentation が多いのが治療により改善がみられた。顕微鏡で見る Inclusion body は酵素治療後に明らかに減少していることが観察された。



- 7) クラッペ病の日本人症例の解析；日本人 51 人のクラッペ病患者の臨床病型をまとめ、乳児型は全体の 41% と半分以下であることを明らかにした。そして後期乳児型 20%、若年型 10%、成人型 29% と、成人型もかなり多いことが判明しており、日本人の特徴と考えられる。また、変異解析のまとめから、高頻度変異 7 つで日本人のクラッペ病の 6 割が同定できること、また遺伝子型 / 表現型相関の解析から、乳児型変異 4 つ、遅発型変異 3 つを見つけており、今後診断時に遺伝子診断から臨床病型の類推に重要な情報となった。また、変異の重症度と western blot で確認した蛋白のプロセッシングの効率が、乳児型で悪く、若年型変異で高いことも確認した。
- 8) クラッペ病の変異蛋白に対する NOEV のシャペロン効果；酵素活性に対する効果としては乳児型の変異に対してはその有効性は明らかでなかったが、遅発型の変異 3 つに対してはいずれも有効性が見られ、2  $\mu$ M で最大の効果を認めた。また、Western blot からは前駆体の量は変異にあまり関係ないが、ライソゾームに運搬されたあとにプロセスされて成熟すると言われている成熟タンパク質の量は、正常蛋白、遅発型変異に多く、乳児型蛋白は成熟蛋白をほ

とんど認めないことが判明した。

#### D. 考察

ムコリピドーシスの繊維芽細胞ではライソゾーム酵素の運搬障害により、ライソゾーム内の酵素が減少し、その分解基質が蓄積するのみならず、pH 上昇、エンドサイトーシスの異常、オートファジー亢進、ミトコンドリアの形態異常など様々な細胞機能に異常を来していることが解明された。またこれがライソゾーム酵素の調整混合液を用いた治療により、多くの細胞機能がかなり改善することが認められ、今後 *in vivo* での効果を試す意義があると考えられる。

ケミカルシャペロン NOEV は、クラッペ病の原因酵素ガラクトセレブロシダーゼの阻害効果も認め、その熱安定性を増大させることがわかった。*in vivo* で変異酵素の酵素活性の増大は、遅発型の変異で明らかであり、重症な乳児型には効果は弱いと考えられた。活性の上昇する変異は成熟蛋白の増加が認められており、NOEV により ER からライソゾームへの運搬が高率良く行なわれていることが判明した。

#### E. 結論

ムコリピドーシスは大半のライソゾーム酵素の減少をとまなうことにより、基質の蓄積以上に細胞内の様々な機能異常を来しているが、ライソゾーム酵素の混合液の治療により、有効に細胞内に取り込まれることが明らかになり、今後の治療開発の将来性を示すものと考えられた。

ケミカルシャペロン NOEV は、クラッペ病の原因酵素ガラクトセレブロシダーゼの高頻度の遅発型変異 4 つに対し、そのライソゾームへの運搬効率を上昇し、成熟タンパク量を増やすことによって治療効果が想定される。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Miyoshi Y, Sakai N, Hamada Y, Tachibana M, Hasegawa Y, Kiyohara Y, Yamada H, Murakami M, Kondou H, Kimura-Ohba S, Mine J, Sato T, Kamio N, Ueda H, Suzuki Y, Shiomi M, Ohta H, Shimozawa N, Ozono K., Clinical aspects and adrenal functions in eleven Japanese children with X-linked adrenoleukodystrophy., *Endocr J.* 57(11): 965-72, 2010
- 2) Terao M, Sakai N, Higashiyama S, Kotobuki Y, Tanemura A, Wataya-Kaneda M, Yutsudo M, Ozono K, Katayama I., Cutaneous symptoms in a patient with cardiofaciocutaneous syndrome and increased ERK phosphorylation in skin fibroblasts., *Br J Dermatol.* 163(4):881-4, 2010
- 3) Kobayashi H, Takahashi-Fujigasaki J, Fukuda T, Sakurai K, Shimada Y, Nomura K, Ariga M, Ohashi T, Eto Y, Otomo T, Sakai N, Ida H., Pathology of the first autopsy case diagnosed as mucopolipidosis type III  $\alpha/\beta$  suggesting autophagic dysfunction., *Mol Genet Metab.* 102(2):170-5, 2011
- 4) Yamamoto T, Tanaka H, Kobayashi H, Okamura K, Tanaka T, Emoto Y, Sugimoto K, Nakatome M, Sakai N, Kuroki H, Yamaguchi S, Matoba R., Retrospective review of Japanese sudden unexpected death in infancy: The importance of metabolic autopsy and expanded newborn screening., *Mol Genet Metab.* 102(4): 399-406, 2011
- 5) Otomo T, Higaki K, Nanba E, Ozono K, Sakai N., Lysosomal storage causes cellular dysfunction In mucopolipidosis II skin

- fibroblasts., *J Biol Chem.* 286(40): 35283-90, 2011
- 6) Hashimoto N, Kagitani-Shimono K, Sakai N, Otomo T, Tominaga K, Nabatame S, Mogami Y, Takahashi Y, Imai K, Yanagihara K, Okinaga T, Nagai T, Taniike M and Ozono K, SLC2A1 gene analysis of Japanese patients with glucose transporter 1 deficiency syndrome, *J Hum Genet.* 56(12): 846-51, 2011
- 7) Akagi M, Mohri I, Iwatani Y, Kagitani-Shimono K, Okinaga T, Sakai N, Ozono K, Taniike M., Clinicogenetical features of a Japanese patient with giant axonal neuropathy., *Brain Dev.* 34(2):156-62, 2012
- 8) Otomo T, Hossain MA, Ozono K, Sakai N., Genistein reduces heparan sulfate accumulation in human mucopolidosis II skin fibroblasts., *Mol Genet Metab.* 105(2):266-9, 2012
- 9) Koshimizu T, Kawai M, Kondou H, Tachikawa K, Sakai N, Ozono K, Michigami T., Vinculin functions as regulator of chondrogenesis., *J Biol Chem.* 287(19):15760-75, 2012
- 10) Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Takakura H, Sawada T, Tanaka T, Otomo T, Ohashi T, Ishige-Wada M, Yabe H, Ohura T, Suzuki N, Kato K, Adachi S, Kobayashi R, Mugishima H, Kato S., Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: A nationwide survey in Japan., *Mol Genet Metab.* 107(3):513-20, 2012
- 11) Miura K, Namba N, Fujiwara M, Ohata Y, Ishida H, Kitaoka T, Kubota T, Hirai H, Higuchi C, Tsumaki N, Yoshikawa H, Sakai N, Michigami T, Ozono K., An overgrowth disorder associated with excessive production of cGMP due to a gain-of-function mutation of the natriuretic peptide receptor 2 gene., *PLoS One.* 7(8):e42180, 2012
- 12) Lee T, Takeshima Y, Okizuka Y, Hamahira K, Kusunoki N, Awano H, Yagi M, Sakai N, Matsuo M, Iijima K., A Japanese child with geleophysic dysplasia caused by a novel mutation of FBN1. *Gene.* 512(2):456-9, 2012
- 13) Hara M, Inokuchi T, Taniwaki T, Otomo T, Sakai N, Matsuishi T, Yoshino M., An adult patient with mucopolidosis III alpha/beta presenting with parkinsonism., *Brain Dev.* 35(5):462-5, 2013
- 14) Tokushige SI, Sonoo T, Maekawa R, Shirota Y, Hanajima R, Terao Y, Matsumoto H, Hossain MA, Sakai N, Shiio Y., Isolated pyramidal tract impairment in the central nervous system of adult-onset Krabbe disease with novel mutations in the GALC gene., *Brain Dev.* 35(6):579-81, 2013
- 15) Chang B, Gorbea C, Lezin G, Li L, Shan L, Sakai N, Kogaki S, Otomo T, Okinaga T, Hamaoka A, Yu X, Hata Y, Nishida N, Yost HJ, Bowles NE, Brunelli L, Ichida F., 14-3-3ε Gene variants in a Japanese patient with left ventricular noncompaction and hypoplasia of the corpus callosum., *Gene.* 515(1):173-80, 2013
- 16) Kardas F, Uzak AS, Hossain A, Sakai N, Canpolat M, Yikilmaz A., A novel homozygous GALC mutation: Very early onset and rapidly progressive Krabbe disease., *Gene.* 517(1):125-7, 2013



- 17) Eto K, Sakai N, Shimada S, Shioda M, Ishigaki K, Hamada Y, Shinpo M, Azuma J, Tominaga K, Shimojima K, Ozono K, Osawa M, Yamamoto T., Microdeletions of 3p21.31 characterized by developmental delay, distinctive features, elevated serum creatine kinase levels, and white matter involvement., *Am J Med Genet A*. 2013 Dec;161(12):3049-56.
- 18) Hossain MA, Otomo T, Saito S, Ohno K, Sakuraba H, Hamada Y, Ozono K, Sakai N., Late-onset Krabbe disease is predominant in Japan and its mutant precursor protein undergoes more effective processing than the infantile-onset form., *Gene*. 2013 Nov 16. doi:pri: S0378-1119(13)01515-1. 10.1016/j.gene.2013.11.003.
2. 学会発表
- 1) 田中あけみ, 酒井規夫, 奥山虎之, 鈴木康之, 澤田智, 大橋十也, 大浦敏博, 麦島秀雄, 田中藤樹, 大友孝信、ムコ多糖症 II 型における造血幹細胞移植の中樞神経系への効果について(多施設共同研究)、第 52 回日本小児神経学会総会、横浜、2010.5
- 2) 大友 孝信、檜垣 克美、難波 栄二、大園 恵一、酒井 規夫、ムコリピドーシス II 型の皮膚線維芽細胞ではライソゾームの成熟異常と pH 上昇を来している、第 52 回日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 3) 赤木 幹弘、豊島 光雄、山村 なつみ、鈴木 保宏、Hossain Arif、濱田 悠介、大友 孝信、酒井 規夫、大園 恵一、日本人 PKAN 症例の遺伝子解析、第 52 回日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 4) 長谷川 泰浩、池田 佳世、橘 真紀子、山田 寛之、清原 由起、近藤 宏樹、三善 陽子、酒井 規夫、大園 恵一、小児期発症 Wilson 病 13 例における酢酸亜鉛製剤の有用性について、第 52 回日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 5) ホセイン モハンマト アリフ、大友 孝信、濱田 悠介、赤木 幹弘、大園 恵一、酒井 規夫、Distribution of the Clinical Phenotype of Krabbe Disease in Japan、第 52 回日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 6) 濱田 悠介、大友 孝信、酒井 規夫、田中 雅嗣、大園 恵一、ピルビン酸脱水素酵素複合体欠損症患者に対するピルビン酸療法開始前後での呼気ガス試験による評価、第 52 回日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 7) 酒井 規夫、シンポジウム2；先天性代謝異常症マス・スクリーニングのこれから、マス・スクリーニングにおける遺伝カウンセリング、第52回日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 8) 酒井規夫、日本人クラッベ病の表現型の分布と新生児マススクリーニングを含めた診断/治療ガイドライン、第15回日本ライソゾーム病研究会2010.12
- 9) 渡邊順子、大平智子、加藤俊一、矢部普正、酒井規夫、大友孝信、芳野 信:骨髄移植を受けた I-cell 病患者の長期予後 第 15 回日本ライソゾーム病研究会 2010.12
- 10) N Sakai, A Hossain, T Otomo, Y Hamada, T Okinaga, H Ohta, K Ozono、Patients with Krabbe disease in Japan: phenotype and treatment、10th International Symposium on Lysosomal Storage Diseases、Spain、2011.4
- 11) 濱田悠介、大友孝信、酒井規夫、大園恵一、田中雅嗣、ピルビン酸脱水素酵素複合体欠損症患者に対する呼気ガス試験による診断の試み、第 7 回近畿先天代謝異常症研究会、大阪、2011.6
- 12) 濱田悠介、東純史、Mohammad Arif Hossain、正島和典、大友孝信、曹秀樹、酒井規夫、大

- 大園恵一、胆のう乳頭腫を呈した異染性白質ジストロフィーの2症例、第7回近畿先天代謝異常症研究会、大阪、2011.6
- 13) 酒井規夫、ミニレクチャー「ライソゾーム病の遺伝カウンセリング」、第7回近畿先天代謝異常症研究会、大阪、2011.6
- 14) 佐藤友紀、酒井規夫、金川武司、大友孝信、濱田悠介、國府力、小巻正泰、吉津紀久子、西田千夏子、市村沙希、松村泰志、野口眞三郎、大阪大学病院における電子カルテによる遺伝子情報管理の取り組み、遺伝医学合同学術集会 2011、京都、2011.6
- 15) 小巻正泰、酒井規夫、金川武司、大友孝信、濱田悠介、國府力、佐藤友紀、吉津紀久子、西田千夏子、市村沙希、野口眞三郎、全国遺伝子医療部門におけるホームページに関する実態調査報告、遺伝医学合同学術集会 2011、京都、2011.6
- 16) Mohammad Arif Hossain, Takanobu Otomo, Yusuke Hamada, Motohiro Akagi, Keiichi Ozono, Norio Sakai, Screening of seven common mutations is effective to predict the phenotypes of Krabbe disease patients in Japan、ライソゾーム病スクリーニング東京会議 2011、東京、2011.8
- 17) 酒井規夫、濱田悠介、Mohammad Arif Hossain、大友孝信、大園恵一、後期乳児型異染性白質ジストロフィーに対する造血幹細胞移植の効果について、第16回日本ライソゾーム病研究会、東京、2011.9
- 18) 酒井規夫、濱田悠介、大友孝信、乾 幸治、大園恵一、ゴーシェ病 I 型に対する酵素補充療法の長期経過について、第16回日本ライソゾーム病研究会、東京、2011.9
- 19) 大友 孝 信 、 Mucopolysaccharidosis II: Pathophysiology to Therapy ( ムコリピドーシス II 型の病態解明と治療法の開発 )、第16回日本ライソゾーム病研究会、東京、2011.9
- 20) 大友孝信、檜垣克美、難波栄二、大園恵一、酒井規夫、ムコリピドーシス II 型・III 型に対する新しい治療法の開発(1)全ライソゾーム酵素補充法の確立、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011.11
- 21) 大友孝信、檜垣克美、難波栄二、大園恵一、酒井規夫、ムコリピドーシス II 型・III 型に対する新しい治療法の開発(2)酵素補充療法による治療効果、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011.11
- 22) 大友孝信、大園恵一、酒井規夫、ムコリピドーシス II 型 (I-cell disease) 細胞におけるゲニステインの効果について、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011.11
- 23) 濱田悠介、中野さやか、新寶理子、東純史、大友孝信、富永康仁、下野九理子、沖永剛志、酒井規夫、大園恵一、ムコ多糖症□型の発達と発育に対する酵素補充療法の効果、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011.11
- 24) 濱田悠介、林真貴子、豊田健太郎、下野九理子、沖永剛志、酒井規夫、大園恵一、松下賢治、阿部暁子、早坂清、多彩な症状を呈した OPA1 異常症の兄妹例、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011.11
- 25) 濱田悠介、中野さやか、新寶理子、東純史、大友孝信、富永康仁、下野九理子、沖永剛志、酒井規夫、大園恵一、非常に緩徐な神経学的進行を呈した副腎白質ジストロフィーの一症例、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011.11
- 26) ホセインモハンマドアリフ、大友孝信、濱田悠介、赤木幹弘、大園恵一、酒井規夫、In vitro transient experiment for the common mutations of Krabbe disease in Japan、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011.11

- 27) Norio Sakai, Respiratory impairment and NPPV treatment in patients with late-onset Pompe disease receiving enzyme replacement therapy, 5th European Symposium on Steps Forward in Pompe Disease, Hungary, 2011.12
- 28) Michiko Shinpo, Sayaka Nakano, Yusuke Hamada, Hossain Mohammad Arif, Norio Sakai, Clinical course of four Niemann-Pick type C patients and initiation of miglustat therapy, 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders, 2012.10
- 29) Yusuke Hamada, Michiko Shinpo, Mohammad Arif Hossain, Norio Sakai, Keiichi Ozono, Observation of lysosomes in lysosomal storage disorders with superresolution structured illumination microscopy, 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders, 2012.10
- 30) MOHAMMAD ARIF HOSSAIN, Takanobu Otomo, Yusuke Hamada, Michiko Shinpo, Motohiro Akagi, Keiichi Ozono, Norio Sakai, The late-onset mutant protein of GALC shows effective processing, 第54回日本先天代謝異常学会、2012.11
- 31) 新寶理子、GM2 ガングリオシドーシス ~ 当科での診断症例の検討 ~、第54回日本先天代謝異常学会、2012.11
- 32) 濱田悠介、The efficacy of sodium pyruvate therapy and breath gas test for PDH E1-alpha deficiency、第54回日本先天代謝異常学会、2012.11
- 33) 酒井規夫、造血幹細胞移植(代謝専門医の立場から)、第1回 先天代謝異常症患者会フォーラム、2012.8
- 34) 米衛ちひろ, 豊島光雄, 濱田悠介, 酒井規夫, 河野嘉文. 進行性骨溶解を認めたセラミダーゼ欠損症の一例. 第54回日本小児神経学会総会 札幌 2012.05
- 35) 中野さやか, 新寶理子, 東 純史, 濱田悠介, 岩谷祥子, 富永康仁, 木村志保子, 下野九理子, 沖永剛志, 酒井規夫, 永井利三郎, 大園恵一、Cataplexy が診断の契機となった Niemann-Pick 病 C 型の 2 症例、第54回日本小児神経学会総会 札幌 2012.05
- 36) 酒井規夫, ファブリー病と遺伝カウンセリング-遺伝カウンセリングとライフプラン、日本遺伝カウンセリング学会、2012.5
- 37) 酒井規夫、神経遺伝病治療戦略セミナー、ニーマン・ピック病 C 型の診断と治療、第55回日本小児神経学会学術集会、2013.5
- 38) Norio Sakai, Potential effects and obstacles for NBS of metabolic leukodystrophy, including adrenoleukodystrophy, Krabbe and metachromatic leukodystrophy, Asian Congress for Lysosomal Storage Disease Screening, 2013.5
- 39) 新寶理子、青天目 信、近藤 秀仁、 Mohammad Arif Hossain、濱田 悠介、酒井規夫、大園 恵一、当科で診断した GM2 ガングリオシドーシス症例の検討、第9回近畿先天代謝異常研究会、2013.6
- 40) Mohammad Arif Hossain, Michiko Shinpo, Keiichi Ozono, Norio Sakai, Molecular and biochemical diagnosis for three Japanese patients of galactosialidosis, 第9回近畿先天代謝異常研究会、2013.6
- 41) 佐藤友紀、金川武司、酒井規夫、望月秀樹、大阪大学医学部附属病院における羊水染色体検査の現状報告、第37回日本遺伝カウンセリング学会、2013.6
- 42) 酒井規夫、ファブリー病の診療; 今患者がもとめるもの、神奈川酵素補充療法研究会、2013.7

- 43) 酒井規夫、ムコ多糖症と遺伝カウンセリング、第1回ムコ多糖症フォーラム、2013.7
- 44) Hossain MA<sup>1</sup>, Higaki K<sup>2</sup>, Nanba E<sup>2</sup>, Suzuki Y<sup>3</sup>, Ozono K<sup>1</sup>, Sakai N、CHAPERONE THERAPY FOR KRABBE DISEASE; JAPANESE LATE-ONSET MUTATIONS CAN BE TREATED EFFECTIVELY BY NOEV、ICIM2013.9
- 45) Hidehito Kondo<sup>1</sup>, Michiko Shinpo<sup>1</sup>, Mohammad Arif Hossain<sup>1</sup>, Yusuke Hamada<sup>1</sup>, Norio Sakai<sup>1</sup>, Yoshihiro Asano<sup>2</sup>, Takeshi Masaki<sup>2</sup>, Tadayasu Togawa<sup>3</sup>, Keichi Ozono, A case report of Fabry disease with chronic heart failure treated with amiodarone, ACIM2013.11
- 46) Mohammad Arif Hossain<sup>1</sup>, Katsumi Higaki<sup>2</sup>, Eiji Nanba<sup>2</sup>, Yoshiyuki Suzuki<sup>3</sup>, Keiichi Ozono<sup>1</sup>, Norio Sakai<sup>1</sup>, NOEV treatment option for Japanese Krabbe disease, ACIM2013.11
- 47) Mohammad Arif Hossain<sup>1</sup>, Michiko Shinpo<sup>1</sup>, Katsumi Higaki<sup>2</sup>, Eiji Nanba<sup>2</sup>, Yoshiyuki Suzuki<sup>3</sup>, Keiichi Ozono<sup>1</sup>, Norio Sakai<sup>1</sup>, NOEV can stabilize  $\beta$ -galactosidase in galactosialidosis patients' skin fibroblasts effectively and cause normalization of its activity, ACIM2013.11
- 48) Michiko Shinpo, Sayaka Nakano, Yusuke Hamada, Kouji Tominaga, Shin Nabatame, Takeshi Okinaga, Yoshiko Hashii, Norio Sakai, Keichi Ozono, Outcomes of hematopoietic stem cell transplantation for three patients with metachromatic leukodystrophy, ACIM2013.11
- 49) Yusuke Hamada<sup>1</sup>, Hidehito Kondo<sup>1</sup>, Michiko Shinpo<sup>1</sup>, Yoshiro Wada<sup>2</sup>, Norio Sakai<sup>1</sup>, Yutaka Sumida<sup>2</sup>, Kiichi Ozono<sup>1</sup>, Different clinical course of propionic acidemia in two siblings, ACIM2013.11
- 50) Motohiro Akagi<sup>1, 2</sup>, Mohammad Arif Hossain<sup>1</sup>, Keiichi Ozono<sup>1</sup>, Norio Sakai<sup>1</sup>, Yoshinori Okumura<sup>3</sup>, Clinicogenetical features of a Japanese patient with static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood (SENDA), ACIM2013.11
- 51) N. Sakai<sup>1</sup>, X.F. Gu<sup>2</sup>, H. Ida<sup>3</sup> on behalf of the EDGE investigators, O. Kawaguchi<sup>4</sup>, Y. Xue<sup>5</sup>, A phase 3 study evaluating once versus twice daily dosing of eliglustat in patients with Gaucher disease type 1 (GD1): Interim results from the lead in period, ACIM2013.11
- 52) Akemi Tanaka<sup>1</sup>, Takashi Hamazaki<sup>1</sup>, Motomichi Kosuga<sup>2</sup>, Torayuki Okuyama<sup>2</sup>, Yasuyuki Suzuki<sup>3</sup>, Norio Sakai<sup>4</sup>, Tomo Sawada<sup>1</sup>, Hiromasa Yabe<sup>5</sup>, Mika Ishige<sup>6</sup>, Hideo Mugishima<sup>6</sup>, Shunichi Kato<sup>5</sup>, Efficacy of hematopoietic stem cell transplantation versus enzyme replacement therapy on intelligence in the patients with Mucopolysaccharidosis type II, ACIM2013.11
- 53) Mohammad Arif Hossain, Chaperone therapy for Krabbe disease; Japanese late-onset mutations can be treated effectively by NOEV、第2回シャペロン療法研究会、2013.12

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 特許申請

特願 2011-101560( 発明の名称 : リソソーム病治療用医薬組成物 ) として 2011 年 4 月 28 日に出願



## 原著論文

衛藤義勝、井田博幸、大橋十也、小林博司

- Takenori D, Takeo I, Minami M, Masahiro E, Toya O, Yoshikatu E. : A practical fluorometric assay method to measure lysosomal acid lipase activity in dried blood spots for the screening of cholesteryl ester storage disease and Wolman disease. *Mol Genet Metab*. Available online 16 November 2013
- Sato Y, Fujiwara M, Kobayashi H, Ida H. Massive accumulation of glycosaminoglycans in the aortic valve of a patient with hunter syndrome during enzyme replacement therapy. *Pediatr Cardiol*. 2013 Dec;34(8):2077-9.
- Akiyama K, Shimada Y, Higuchi T, Ohtsu M, Nakauchi H, Kobayashi H, Fukuda T, Ida H, Eto Y, Crawford BE, Brown JR, Ohashi T. Enzyme augmentation therapy enhances the therapeutic efficacy of bone marrow transplantation in mucopolysaccharidosis type II mice. *Mol Genet Metab*. 2013 Sep 21.
- Kawagoe S, Higuchi T, Otaka M, Shimada Y, Kobayashi H, Ida H, Ohashi T, Okano HJ, Nakanishi M, Eto Y. Morphological features of iPS cells generated from Fabry disease skin fibroblasts using Sendai virus vector (SeVdp). *Mol Genet Metab*. 2013 Aug;109(4):386-9.
- Sato T, Ikeda M, Yotsumoto S, Shimada Y, Higuchi T, Kobayashi H, Fukuda T, Ohashi T, Suda T, Ohteki T. Novel interferon-based pre-transplantation conditioning in the treatment of a congenital metabolic disorder. *Blood*. 2013 Apr 18;121(16):3267-73.
- J. Ito, T. Saito, C. Numakura, A. Iwaba, S. Sugahara, R. Ishii, C. Sato, H. Haga, K. Okumoto, Y. Nishise, H. Watanabe, H. Ida, K. Hayasaka, H. Togashi, S. Kawata, Y. Ueno: A Case of Adult Type I Gaucher Disease Complicated by Temporal Intestinal Hemorrhage. *Case Rep Gastroenterol* 2013;7:340-346
- Higuchi T, Shimizu H, Fukuda T, Kawagoe S, Matsumoto J, Shimada Y, Kobayashi H, Ida H, Ohashi T, Morimoto H, Hirato T, Nishino K, Eto Y. : Enzyme replacement therapy (ERT) procedure for mucopolysaccharidosis type II (MPS II) by intraventricular administration (IVA) in murine MPS II. *Mol Genet Metab*. 2012 Sep;107(1-2):122-8. Epub 2012 May 18.
- Kobayashi M, Ohashi T, Fukuda T, Yanagisawa T, Inomata T, Nagaoka T, et al. No accumulation of globotriaosylceramide in the heart of a patient with the E66Q mutation in the  $\alpha$ -Galactosidase A gene. *Mol Genet Metab*. 2012; 107: 711-715.
- Sato Y, Fujiwara M, Kobayashi H, Ida H. Massive Accumulation of glycosaminoglycans in the aortic valve of a patient with Hunter syndrome during enzyme replacement therapy. *Pediatric Cardiology* (in press)
- Ohashi T, Iizuka S, Shimada Y, Higuchi T, Eto Y, Ida H, et al. Administration of anti-CD3 antibodies modulates the immune response to an infusion of alpha-glucosidase in mice. *Mol Ther* 2012;20:1924-1931.
- Nishiyama Y, Shimada Y, Yokoi T, Kobayashi H, Higuchi T, Eto Y, (Ohashi T) et al. Akt inactivation induces endoplasmic reticulum stress-independent autophagy in fibroblasts from patients with Pompe disease. *Mol Genet Metab* 2012;107:490-495.
- Kawagoe S, Higuchi T, Meng XL, Shimada Y, Shimizu H, Hirayama R, Fukuda T, Chang H, Nakahata T, Fukada S, Ida H, Kobayashi H, Ohashi T, Eto Y. : Generation of induced pluripotent stem (iPS) cells derived from a murine model of Pompe disease and differentiation of Pompe-iPS cells into skeletal muscle cells. *Mol Genet Metab*. 2011 Sep-Oct; 104(123-8). Epub 2011 Jun 2.
- Yoko Kato ,Masaharu Akiyama ,Fumiyuki Itoh ,Hiroyuki Ida : A Study Investigating the Need and Impact

of Pediatric Palliative Care Education on Undergraduate Medical Students in Japan . Journal of Palliative Medicine 2011 ; 14(5) : 560-2

- Ohashi T, Iizuka S, Shimada Y, Eto Y, Ida H, Hachimura S, Kobayashi H. Oral administration of recombinant human acid  $\alpha$ -glucosidase reduces specific antibody formation against enzyme in mouse. Mol Genet Metab. 2011;103(1):98-100. .
- Yokoi T, Kobayashi H, Shimada Y, Eto Y, Ishige N, Kitagawa T, Otsu M, Nakauchi H, Ida H, Ohashi T. Minimum requirement of donor cells to reduce the glycolipid storage following bone marrow transplantation in a murine model of Fabry disease. J Gene Med. 2011;13(5):262-8.
- Shimada Y, Kobayashi H, Kawagoe S, Aoki K, Kaneshiro E, Shimizu H, Eto Y, Ida H, Ohashi T. Endoplasmic reticulum stress induces autophagy through activation of p38 MAPK in fibroblasts from Pompe disease patients carrying c.546 G> T mutation. Mol Genet Metab. 2011;104(4):566-73.
- Shimada Y, Nishida H, Nishiyama Y, Kobayashi H, Higuchi T, Eto Y, Ida H, Ohashi T. Proteasome inhibitors improve the function of mutant lysosomal alpha-glucosidase in fibroblasts from Pompe disease patient carrying c.546G>T mutation. Biochem. Biophys. Res. Commun., 2011;415(2):274-8.
- Kobayashi H, Shimada Y, Ikegami M, Kawai T, Sakurai K, Urashima T, Ijima M, Fujiwara M, Kaneshiro E, Ohashi T, Eto Y, Ishigaki K, Osawa M, Kyosen SO, Ida H. Pathology of the first autopsy case diagnosed as mucopolysaccharidosis type III  $\alpha$ /beta suggesting autophagic dysfunction . Mol Genet Metab. 2011;102(2):170-5
- Eto Y. : Single gene disorder: recent advances of research. Nippon Rinsho. 2010 Aug; 68 Suppl 8:117-28. Japanese.
- Xing-Li Meng, Jin-Song Shen, Shiho Kawagoe, Toya Ohashi, Roscoe O Brady, Yoshikatu Eto : Induced pluripotent stem cells derived from mouse models of lysosomal storage disorders. PNAS 2010 vol.17(17):7886-7891.
- Tajima A, Ohashi T, Hamano S, Higurashi N, Ida H. Gaucher Disease Patient With Myoclonus Epilepsy and a Novel Mutation Pediatr Neurol 2010;42:65-68
- Kobayashi H, Shimada Y, Ikegami M, Kawai T, Sakurai K, Urashima T, Ijima M, Fujiwara M, Kaneshiro E, Ohashi T, Eto Y, Ishigaki K, Osawa M, Kyosen SO, Ida H. Prognostic factors for the late onset Pompe disease with enzyme replacement therapy: from our experience of 4 cases including an autopsy case. Mol Genet Metab. 2010; 100(1):14-9.
- Kobayashi H, Shimada Y, Ikegami M, Kawai T, Sakurai K, Urashima T, Ijima M, Fujiwara M, Kaneshiro E, Ohashi T, Eto Y, Ishigaki K, Osawa M, Kyosen SO, Ida H. Pathology of the first autopsy case diagnosed as mucopolysaccharidosis type III  $\alpha$ /beta suggesting autophagic dysfunction . Mol Genet Metab. 2011;102(2):170-5

#### 田中あけみ

- Hwu WL, Okuyama T, But WM, Estrada S, Gu X, Hui J, Kosuga M, Lin SP, Ngu LH, Shi H, Tanaka A, Thong MK, Wattanasirichaigoon D, Wasant P, McGill J, Current diagnosis and management of mucopolysaccharidosis VI in the Asia-Pacific region. Mol. Genet. Metab. 107: 136-44, 2012
- Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Takakura H, Sawada T, Tanaka T, Otomo T, Ohashi T,

Ishige-Wada M, Yabe H, Ohura T, Suzuki N, Kato K, Adachi S, Kobayashi R, Mugishima H, Kato S, Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: A nationwide survey in Japan. *Mol. Genet. Metab.* 107:513-20, 2012

島田 隆

- Sugano, H., Matsumoto, T., Miyake, K., Watanabe, A., Iijima, O., Migita, M., Narisawa, S., Millán, J.L., Fukunaga, Y., Shimada, T. (2012) Successful gene therapy *in utero* for lethal murine hypophosphatasia. *Hum. Gene Ther.* 23:399-406
- Tamai, H., Miyake, K., Yamaguchi, H., Takatori, M., Dan, K., Inokuchi, K., Shimada, T. (2012) AAV-8 vector expressing IL-24 efficiently suppresses tumor growth mediated by specific mechanisms in MLL/AF4-positive ALL model mice. *Blood* 119:64-71
- Takeichi, N., Midorikawa, S., Watanabe, A., Naing, B.T., Tamura, H., Kano, T., Sugihara, H., Nissato, S., Saito, Y., Aita, Y., Ishii, K., Igarashi, T., Kawakami, Y., Hara, H., Ikeda, T., Shimizu, K., Suzuki, S., Shimano, H., Kawamoto, M., Shimada, T., Watanabe, T., Oikawa, S., Takekoshi, K. (2012) Identical germline mutations in the *TMEM127* gene in 2 unrelated Japanese patients with bilateral pheochromocytoma. *Clini Endocrinol.* 77:707-714
- Masuno, M., Watanabe, A., Naing, B.T., Shimada, T., Fujimoto, W., Ninomiya, S., Ueda, Y., Kondo, E., Yamanouchi, Y., Ouchi, K., Kuroki, Y. (2012) Ehlers-Danlos Syndrome, Vascular Type: A Novel Missense Mutation in *COL3A1* Gene. *Congenit Anom.* 52:207-210
- Miyake, K., Miyake, N., Yamazaki, Y., Shimada, T., Hirai, Y. (2012) Serotype-independent method of recombinant adeno-associated virus (AAV) vector production and purification. *J Nippon Med Sch.* 79:394-402
- Yamamoto, S., Orimo, H., Matsumoto, T., Iijima, O., Narisawa, S., Maeda, T., Millán, J., Shimada, T. (2011) Prolonged survival and phenotypic correction of *Akp2*<sup>-/-</sup> hypophosphatasia mice by lentiviral gene therapy. *J. Bone Miner. Res.* 26:135-142
- Kato, S., Kobayashi, K., Inoue, K., Kuramochi, M., Okada, T., Yaginuma, H., Morimoto, K., Shimada, T., Takada, M., Kobayashi, K. (2011) A lentiviral strategy for highly efficient retrograde gene transfer by pseudotyping with fusion envelope glycoprotein. *Hum. Gene Ther.* 22:197-206
- Kubodera, T., Yamada, H., Anzai, M., Ohira, S., Yokota, S., Hirai, Y., Mochizuki, H., Shimada, T., Mitani, T., Mizusawa, H., Yokota, T. (2011) *In Vivo* Application of an RNAi Strategy for the Selective Suppression of a Mutant Allele. *Hum. Gene Ther.* 22:27-34
- Watanabe A, Karasugi T, Sawai H, Banyar Tang Naing, Ikegawa S, Orimo H, Shimada S. (2011) Prevalence of c.1559delT in ALPL, a common mutation resulting in the perinatal (lethal) form of hypophosphatasia in Japanese and effects of the mutation on heterozygous carriers. *J Hum Genet* 56:166-168
- Mayra, A., Tomimitsu, H., Kubodera, T., Kobayashi, M., Piao, W., Sunaga, F., Hirai, Y., Shimada, T., Mizusawa, H., Yokota, T. (2011) Intraperitoneal AAV9-shRNA inhibits target expression in neonatal skeletal and cardiac muscles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 405:204-209



- Naing, B.T., Watanabe, A., Shimada, T. (2011) A novel mutation screening system for Ehlers-Danlos Syndrome, vascular type by high-resolution melting curve analysis in combination with small amplicon genotyping using genomic DNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 405:368-372
- Yasuda, T., Hayakawa, H., Nihira, T., Ren, Y.R., Nakata, Y., Nagai, M., Hattori, N., Miyake, K. Takada, M. Shimada, T., Mizuno, Y., Mochizuki, H. (2011) Parkin-Mediated Protection of Dopaminergic Neurons in a Chronic MPTP-Minipump Mouse Model of Parkinson Disease. *J Neuropathol Exp Neurol.* 70:686-697
- ○Miyake, N., Miyake, K., Yamamoto, M., Hirai, Y., Shimada, T. (2011) Global gene transfer into the CNS across the BBB after neonatal systemic delivery of single-stranded AAV vectors. *Brain Res.* 1389:19-26
- Matsumoto, T., Miyake, K., Yamamoto, S., Orimo, H., Miyake, N., Odagaki, Y., Adachi, K., Iijima, O., Narisawa, S., Millán, J.L., Fukunaga, Y., Shimada, T. (2011) Rescue of Severe Infantile Hypophosphatasia Mice by AAV Mediated Sustained Expression of Soluble Alkaline Phosphatase. *Hum. Gene Ther.* 22:1355-1364
- Isotani, M., Miyake, K., Miyake, N., Hirai, Y., Shimada, T. (2011) Direct comparison of four adeno-associated virus serotypes in mediating the production of anti-angiogenic proteins in mouse muscle. *Cancer Invest.* 29:353-359
- Kato, S., Kuramochi, M., Takasumi, K., Kobayashi, K., Inoue, K., Takahara, D., Hitoshi, S., Takenaka, K., Shimada, T., Takada, M., Kobayashi, K. (2011) Neuron-Specific Gene Transfer through Retrograde Transport of Lentiviral Vector Pseudotyped with a Novel Type of Fusion Envelope Glycoprotein. *Hum. Gene Ther.* 22:1511-1523
- Nihira, T., Yasuda, T., Hirai, Y., Shimada, T., Mizuno, Y., Mochizuki, H. (2011) Adeno-associated viral vector-mediated gene transduction in mesencephalic slice culture. *J Neurosci Methods.* 201:55-60
- Tamai, H., Miyake, K., Takatori, M., Miyake, N., Yamaguchi, H., Dan, K., Shimada, T., Inokuchi, K. (2011) Activated K-Ras protein accelerates human MLL/AF4-induced leukemo-lymphomogenicity in a transgenic mouse model. *Leukemia* 25:888-891
- Tamai, H., Miyake, K., Yamaguchi, H., Inokuchi, K., Dan, K., Shimada, T. (2011) T. Resistance of MLL/AF4-positive acute lymphoblastic leukemia to tumor necrosis factor-alpha is mediated by S100A6 up-regulation. *Blood Cancer J.* 1:e38
- Takasu, K., Sakai, A., Hanawa, H., Shimada, T., Suzuki, H. (2011) Overexpression of GDNF in the Uninjured DRG Exerts Analgesic Effects on Neuropathic Pain Following Segmental Spinal Nerve Ligation in Mice. *J. Pain* 12:1130-1139
- Fujita, A., Migita, M., Ueda, T., Ogawa, R., Fukunaga, Y., Shimada, T. (2010) Hematopoiesis in regenerated bone marrow within hydroxyapatite scaffold. *Pediatr. Res.* 68:35-40
- Igarashi, T., Miyake, K., Masuda, I., Takahashi, H., Shimada, T. (2010) Adeno-associated vector (type 8)-mediated expression of soluble Flt-1 efficiently inhibits neovascularization in a murine choroidal neovascularization model. *Hum. Gene Ther.* 21:631-637
- ○Miyake, N., Miyake, K., Karlsson, S., Shimada, T. (2010) Successful treatment of metachromatic leukodystrophy using bone marrow transplantation of HoxB4 overexpressing cells. *Mol. Ther.* 18:1373-1378

- Yasuniwa, Y., Izumi, H., Wang, K-Y., Shimajiri, S., Sasaguri, Y., Kawai, K., Kasai, H., Shimada, T., Miyake, K., Kashiwagi, E., Hirano, G., Kidani, A., Akiyama, M., Han, B., Wu, Y., Ieiri, I., Higuchi, S., Kohno, K. (2010) Circadian disruption accelerates tumor growth and angio/stromagenesis through a Wnt signaling pathway. *PLoS ONE* 5:e15330

#### 酒井規夫

- Hara M, Inokuchi T, Taniwaki T, Otomo T, Sakai N, Matsuishi T, Yoshino M., An adult patient with mucopolysaccharidosis III alpha/beta presenting with parkinsonism., *Brain Dev.* 35(5):462-5, 2013
- Tokushige SI, Sonoo T, Maekawa R, Shiota Y, Hanajima R, Terao Y, Matsumoto H, Hossain MA, Sakai N, Shiio Y., Isolated pyramidal tract impairment in the central nervous system of adult-onset Krabbe disease with novel mutations in the GALC gene., *Brain Dev.* 35(6):579-81, 2013
- Chang B, Gorbea C, Lezin G, Li L, Shan L, Sakai N, Kogaki S, Otomo T, Okinaga T, Hamaoka A, Yu X, Hata Y, Nishida N, Yost HJ, Bowles NE, Brunelli L, Ichida F., 14-3-3ε Gene variants in a Japanese patient with left ventricular noncompaction and hypoplasia of the corpus callosum., *Gene.* 515(1):173-80, 2013
- Kardas F, Uzak AS, Hossain A, Sakai N, Canpolat M, Yikilmaz A., A novel homozygous GALC mutation: Very early onset and rapidly progressive Krabbe disease., *Gene.* 517(1):125-7, 2013
- Eto K, Sakai N, Shimada S, Shioda M, Ishigaki K, Hamada Y, Shinpo M, Azuma J, Tominaga K, Shimojima K, Ozono K, Osawa M, Yamamoto T., Microdeletions of 3p21.31 characterized by developmental delay, distinctive features, elevated serum creatine kinase levels, and white matter involvement., *Am J Med Genet A.* 2013 Dec;161(12):3049-56.
- Hossain MA, Otomo T, Saito S, Ohno K, Sakuraba H, Hamada Y, Ozono K, Sakai N., Late-onset Krabbe disease is predominant in Japan and its mutant precursor protein undergoes more effective processing than the infantile-onset form., *Gene.* 2013 Nov 16. doi:pii: S0378-1119(13)01515-1. 10.1016/j.gene.2013.11.003.
- Akagi M, Mohri I, Iwatani Y, Kagitani-Shimono K, Okinaga T, Sakai N, Ozono K, Taniike M., Clinicogenetical features of a Japanese patient with giant axonal neuropathy., *Brain Dev.* 34(2): 156-62, 2012
- Otomo T, Hossain MA, Ozono K, Sakai N., Genistein reduces heparan sulfate accumulation in human mucopolysaccharidosis II skin fibroblasts., *Mol Genet Metab.* 105(2): 266-9, 2012
- Lee T, Takeshima Y, Okizuka Y, Hamahira K, Kusunoki N, Awano H, Yagi M, Sakai N, Matsuo M, Iijima K., A Japanese child with geleophysic dysplasia caused by a novel mutation of FBN1. *Gene.* 2012 Nov 2. pii: S0378-1119(12)01341-8. [Epub ahead of print]
- Otomo T, Higaki K, Nanba E, Ozono K, Sakai N., Lysosomal storage causes cellular dysfunction in mucopolysaccharidosis II skin fibroblasts., *J Biol Chem.* 286(40): 35283-90, 2011
- Hashimoto N, Kagitani-Shimono K, Sakai N, Otomo T, Tominaga K, Nabatame S, Mogami Y, Takahashi Y, Imai K, Yanagihara K, Okinaga T, Nagai T, Taniike M and Ozono K, SLC2A1 gene analysis of Japanese patients with glucose transporter 1 deficiency syndrome, *J Hum Genet* 56(12): 846-51, 2011
- Miyoshi Y, Sakai N, Hamada Y, Tachibana M, Hasegawa Y, Kiyohara Y, Yamada H, Murakami M, Kondou H, Kimura-Ohba S, Mine J, Sato T, Kamio N, Ueda H, Suzuki Y, Shiomi M, Ohta H, Shimozawa

N, Ozono K., Clinical aspects and adrenal functions in eleven Japanese children with X-linked adrenoleukodystrophy., *Endocr J.* 57(11): 965-72, 2010

- Terao M, Sakai N, Higashiyama S, Kotobuki Y, Tanemura A, Wataya-Kaneda M, Yutsudo M, Ozono K, Katayama I., Cutaneous symptoms in a patient with cardiofaciocutaneous syndrome and increased ERK phosphorylation in skin fibroblasts., *Br J Dermatol.* 2010 Oct;163(4):881-4.

#### 高橋 勉

- Takamura A, Sakai N, Shinpoo M, Noguchi A, Takahashi T, Matsuda S, Yamamoto M, Narita A, Ohno K, Ohashi T, Ida H, Eto Y: The useful preliminary diagnosis of Niemann-Pick disease type C by filipin test in blood smear. *Mol Genet metab* 111: 401-404, 2013
- Sato, Y., Ishida-Nakajima, W., Kawamura, M., Miura, S., Oguma, R., Arai, H., Takahashi, T. Hypoxia-ischemia induces hypo-phosphorylation of collapsing response mediator protein 2 in a neonatal rat model of periventricular leukomalacia(2011) *Brain Res*, 1386, 165-174.

#### 高柳正樹

- Wakiya T, Sanada Y, Urahashi T, Ihara Y, Yamada N, Okada N, Ushijima K, Otomo S, Sakamoto K, Murayama K, Takayanagi M, Hakamada K, Yasuda Y, Mizuta K. Impact of enzyme activity assay on indication in liver transplantation for ornithine transcarbamylase deficiency. *Mol Genet Metab.* 2012 Mar;105(3):404-7. Epub 2012 Jan 4
- Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamada K, Takahashi T, Takayanagi M, Fukao T, Fukuda S, Yamaguchi S. Intracellular in vitro probe acylcarnitine assay for identifying deficiencies of carnitine transporter and carnitine palmitoyltransferase-1. *Anal Bioanal Chem.* 2012
- 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 Inherit Metab Dis.* 2011
- Sanayama Y, Nagasaka H, Takayanagi M, Ohura T, Sakamoto O, Ito T, Ishige-Wada M, Usui H, Yoshino M, Ohtake A, Yorifuji T, Tsukahara H, Hirayama S, Miida T, Fukui M, Okano Y. Experimental evidence that phenylalanine is strongly associated to oxidative stress in adolescents and adults with phenylketonuria. *Mol Genet Metab.* 103:220-5, 2011 Epub 2011 Mar 29.
- Hori T, Fukao T, Kobayashi H, Teramoto T, et al. Carnitine palmitoyltransferase 2 deficiency: the time-course of blood and urinary acylcarnitine levels during initial L-carnitine supplementation. *Tohoku J Exp Med.* 2010;221(3):191-5.
- Fukao T, Horikawa R, Naiki Y, et al. A novel mutation in an exonic splicing enhancer results in exon 10 skipping in the human mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase gene. *Mol Genet Metab.* 2010 Aug;100(4):339-44.
- Kimura A, Kage M, Nagata I, et al. Histological findings in the livers of patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency. *Hepatol Res.* 2010 Mar 1;40(3):295-303.
- Fukao T, Ishii T, Amano N, Kursula P, et al. A neonatal-onset succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT)-deficient patient with T435N and c.658-666dupAACGTGATT p.N220\_I222dup mutations in the OXCT1 gene. *J Inherit Metab Dis.* 2010

#### 大野耕策、成田 綾

- ○Suzuki Y, Ichinomiya S, Kurosawa M, Matsuda J, Ogawa S, Iida M, Kubo T, Tabe M, Itoh M, Higaki K, Nanba E, Ohno K. Therapeutic chaperone effect of N-octyl 4-epi- $\beta$ -valienamine on murine G(M1)-gangliosidosis. *Mol Genet Metab.* 106(1):92-8, 2012
- ○Aguilar-Moncayo M, Takai T, Higaki K, Mena-Barragán T, Hirano Y, Yura K, Li L, Yu Y, Ninomiya H, García-Moreno MI, Ishii S, Sakakibara Y, Ohno K, Nanba E, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Suzuki Y. Tuning glycosidase inhibition through aglycone interactions: pharmacological chaperones for Fabry disease and GM1 gangliosidosis. *Chem Commun (Camb).* 48(52):6514-6,2012
- ○Luan Z, Li L, Higaki K, Nanba E, Suzuki Y, Ohno K. The chaperone activity and toxicity of ambroxol on Gaucher cells and normal mice. *Brain Dev*35: 317-322, 2013
- ○Castilla J, Rísquez R, Cruz D, Higaki K, Nanba E, Ohno K, Suzuki Y, Díaz Y, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Castellón S. Conformationally-Locked N-Glycosides with Selective  $\beta$ -Glucosidase Inhibitory Activity: Identification of a New Non-Iminosugar-Type Pharmacological Chaperone for Gaucher Disease. *J Med Chem.* 55(15):6857-65,2012
- ○Takamura A, Higaki K, Ninomiya H, Takai T, Matsuda J, Iida M, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E. Lysosomal accumulation of Trk protein in brain of G(M1) -gangliosidosis mouse and its restoration by chemical chaperone. *J Neurochem.* 118(3):399-406, 2011
- ○Higaki K, Li L, Udin Bahrudin, Okuzawa S, Takamura A, Yamamoto K, Adachi K, Rubigilda C. Paraguison, Takai T, Ikehata H, Tominaga L, Hisatome I, Iida M, Ogawa S, Matsuda J, Ninomiya H, Sakakibara Y, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E. Chemical chaperone therapy: chaperone effect on mutant enzyme and cellular pathophysiology in  $\beta$ -galactosidase deficiency. *Human Mutation.* 32(7):843-52,2011
- ○Ohno K. Kunihiko Suzuki and sphingolipidoses. *J Biochem* 150(6):597-605,2011
- ○Luan Z, Ninomiya H, Ohno K, Ogawa S, Kubo T, Iida M, Suzuki Y. The effect of N-octyl- $\beta$ -valienamine on  $\beta$ -glucosidase activity in tissues of normal mice. *Brain Dev* 32(10):805-9,2010
- ○Luan Z, Higaki K, Aguilar-Moncayo M, Li L, Ninomiya H, Nanba E, Ohno K, Garcia-Moreno M, Mellet CO, Fernandez JMG, Suzuki Y. A fluorescent SP2-iminosugar with pharmacological chaperone activity for Gaucher disease: Cellular uptake and intracellular distribution studies. *ChemBioChem* 11(17):2453-64,2010
- ○Li L, Higaki K, Ninomiya H, Luan Z, Iida M, Ogawa S, Suzuki Y, Nanba E, Ohno K. Chemical chaperone therapy: Luciferase assay for screening of  $\beta$ -galactosidase mutations. *Mol Genet Metab* 101(4) : 364-369,2010

## 辻 省二

- Matsukawa T, Asheuer M, Takahashi Y, Goto J, Suzuki Y, Shimosawa N, Takano H, Onodera O, Nishizawa M, Aubourg P and Tsuji S. Identification of novel SNPs of ABCD1, ABCD2, ABCD3 and ABCD4 genes in patients with X-linked adrenoleukodystrophy (ALD) based on comprehensive resequencing and association studies with ALD phenotypes. *Neurogenetics* 12: 41-50, 2011

## 難波栄二

- X Luan Z, Li L, Higaki K, Nanba E, Suzuki Y, Ohno K, The chaperone activity and toxicity of ambroxol on GD cells and normal mice. *Brain Dev*, 2013 35: 317-322.
- ○Takai T, Higaki K, Aguilar-Moncayo M, Mena-Barragán T, Hirano Y, Yura K, Yu L, Ninomiya H,

García-Moreno I, Sakakibara Y, Ohno K, Nanba E, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Suzuki Y, A bicyclic 1-deoxygalactonojirimycin derivative as a novel pharmacological chaperone for GM<sub>1</sub> gangliosidosis. *Mol Ther*, 2013 21: 526-532.

- Xiong H, Higaki K, Wei C, Bao CW, Zhanf YH, Fu N, Qui J, Adachi K, Kumura Y, Ninomiya H, Nanba E, Wu XR. Genotype/phenotype of 6 Chinese cases with Niemann-Pick disease type C. *Gene*, 498, 332-335, 2012
- ○Suzuki Y, Ichinomiya S, Kurosawa M, Matsuda J, Ogawa S, Iida M, Kubo T, Tabe M, Itoh M, Higaki K, Nanba E, Ohno K: Therapeutic chaperone effect of *N*-octyl 4-epi-β-valienamine on murine GM<sub>1</sub>-gangliosidosis. *Mol Genet Metab* 106: 92-8, 2012.
- ○Aguilar-Moncayo M, Takai T, Higaki K, Mena-Barragán T, Hirano Y, Yura K, Li L, Yu Y, Ninomiya H, García-Moreno I, Ishii S, Sakakibara Y, Ohno K, Nanba E, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Suzuki Y: Tuning glycosidase inhibition through aglycone interactions: Pharmacological chaperones for Fabry disease and GM<sub>1</sub> gangliosidosis, *Chem Commun* 48: 6514-6, 2012.
- Castilla J, Riquez R, Cruz D, Higaki K, Nanba E, Ohno K, Suzuki Y, Diaz Y, Ortiz Mellet C, Garcia Fernandez JM, Castillon S: Conformationally-locked N-glycosides with selective β-glucosidase inhibitory activity: Identification of a new non-iminosugar-type pharmacological chaperone for Gaucher disease. *J Med Chem* 55:6857-65, 2012.
- ○Higaki K, Li L, Bahrudin U, Okuzawa S, Takamura A, Yamamoto K, Adachi K, Paraguison RC, Takai T, Ikehata H, Tominaga L, Hisatome I, Iida M, Ogawa S, Matsuda J, Ninomiya H, Sakakibara Y, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E. Chemical chaperone therapy: chaperone effect on mutant enzyme and cellular pathophysiology in β-galactosidase deficiency. *Hum Mutat*, 32, 843-852, 2011
- ○Takamura A, Higaki K, Ninomiya H, Takai T, Matsuda J, Iida M, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E. Lysosomal accumulation of Trk protein in brain of GM<sub>1</sub>-gangliosidosis mouse and its restoration by chemical chaperone. *J Neurochem*, 118, 399-406, 2011
- ○Li L, Higaki K, Ninomiya H, Luan Z, Iida M, Ogawa S, Suzuki Y, Ohno K, Nanba E. Chemical chaperone therapy: Luciferase assay for screening of β-galactosidase mutations. *Mol Genet Metab*, 101, 354-369, 2010
- Luan Z, Higaki K, Aquilar-Moncayo M, Li L, Ninomiya H, Nanba E, Ohno K, García-Moreno MI, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Suzuki Y, A fluorescent sp<sup>2</sup>-iminosugar with pharmacological chaperone activity for Gaucher disease: Synthesis and intracellular distribution studies. *ChemBioChem*, 11, 2453-2463, 2010

#### 鈴木康之

- Yasuda E, Suzuki Y, Tomatsu S et al. Pathogenesis of Morquio A syndrome: an autopsied case reveals systemic storage disorder. *Mol Genet Metab*. 2013 ;109:301-11
- Pravin Patel, Yasuyuki Suzuki<sup>2</sup>, Miho Maeda, Eriko Yasuda, Tsutomu Shimada, Kenji E. Orii , Tadao Orii, Shunji Tomatsu. Growth charts for patients with Hunter Syndrome. *Molecular Genetics and Metabolism* (in press)
- Tomatsu S, Montaña AM, Oikawa H, Giugliani R, Harmatz P, Smith M, Suzuki Y, and Orii T. Impairment

of Body Growth in Mucopolysaccharidoses. Preedy VR ed. Handbook of Growth and Growth Monitoring in Health and Disease. Springer, 2012

- Tomatsu S, Mackenzie WG, Theroux MC, Mason RW, Thacker MM, Shaffer TH, Montaña AM, Rowan D, Sly W, Alméciga-Díaz CJ, Barrera LA, Chinen Y, Yasuda E, Ruhnke K, Suzuki Y, Orii T. Current and emerging treatments and surgical interventions for Morquio A syndrome: a review. *Research and Reports in Endocrine Disorders* 2012; 265-77
- Hintze JP, Tomatsu S, Fujii T, Montaña AM, Yamaguchi S, Suzuki Y, Fukushi M, Ishimaru T, Orii T. Comparison of liquid chromatography-tandem mass spectrometry and sandwich ELISA for determination of keratan sulfate in plasma and urine. *Biomark Insights*. 2011;6:69-78.
- Muenzer J, Beck M, Giugliani R, Suzuki Y, Tytki-Szymanska A, Valayannopoulos V, Vellodi A, Wraith JE. Idursulfase treatment of Hunter syndrome in children younger than 6 years: results from the Hunter Outcome Survey. *Genet Med*. 2011 Feb;13(2):102-9.
- Tomatsu S, Montaña AM, Oikawa H, Smith M, Barrera L, Chinen Y, Thacker MM, Mackenzie WG, Suzuki Y, Orii T. Mucopolysaccharidosis type IVA (Morquio A disease): clinical review and current treatment. *Curr Pharm Biotechnol*. 2011 Jun;12(6):931-45.
- Morita M, Shimozawa N, Kashiwayama Y, Suzuki Y, Imanaka T. ABC subfamily D proteins and very long chain fatty acid metabolism as novel targets in adrenoleukodystrophy. *Curr Drug Targets*. 2011 May;12(5):694-706.
- Tomatsu S, Montaña AM, Oguma T, Dung VC, Oikawa H, Gutiérrez ML, Yamaguchi S, Suzuki Y, Fukushi M, Barrera L, Orii T. Validation of disaccharide composition derived from dermatan sulfate and heparan sulfate in mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses II and III by tandem mass spectrometry. *Molecular Genetics and Metabolism* 2010;99:124-131
- Tomatsu S, Montaña AM, Oguma T, DunG VC, Oikawa H, Carvalho TG, Gutiérrez MG, Yamaguchi S, Suzuki Y, Fukushi M, Kida K, Kubota M, Kida K, Kubota M, Orii T. Validation of keratan sulfate level in Mucopolysaccharidosis IVA by liquid tandem mass spectrometry method. *J Inherit Metab Dis* (Epub 2010).
- Tomatsu S, Montaña AM, Oguma T, Dung VC, Oikawa H, de Carvalho TG, Gutiérrez ML, Yamaguchi S, Suzuki Y, Fukushi M, Sakura N, Barrera L, Kida K, Kubota M, Orii T. Dermatan sulfate and heparan sulfate as a biomarker for mucopolysaccharidosis I. *J Inherit Metab Dis*. 2010; 33:141-150

#### 櫻庭 均

- Nakano S, Morizane Y, Makisaka N, et al : Development of a highly sensitive immuno-PCR assay for the measurement of  $\alpha$ -galactosidase A protein levels in serum and plasma. *PLoS ONE* 8: e78588, 2013
- Sakuraba H : High risk screening for Fabry disease. Asian Congress for Lysosomal Storage Disease Screening, Kumamoto, Japan, May. 2013
- Sakuraba H : E66Q: Biochemical, pathological and structural studies. 3rd Update on Fabry Nephropathy: Biomarkers, Progression and Treatment Opportunities, Hong Kong, China, Jun. 2013
- Sakuraba H : Genotype/Phenotype correlation in Fabry disease. The 15th Annual Asia LSD

Symposium, Chiba, Japan, Nov. 2013

- Kawashima I, Mitobe S, Kodama T, Tsukimura T, Togawa T, Sakuraba H: Development of enzyme replacement therapy with a modified enzyme and an activator for Fabry disease. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- Shibasaki F, Nakano S, Togawa T, Tsukimura T, Kawashima I, Sakuraba H.: Development of a highly sensitive immuno-PCR measurement of  $\alpha$ -galactosidase A protein levels in serum and plasma. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- Nakano S, Togawa T, Tsukimura T, Kawashima I, Sakuraba H, Futoshi S.: Rapid Immunochromatographic measurement of anti- $\alpha$ -galactosidase A antibodies in Fabry patients Treated with enzyme replacement therapy. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- Togawa T, Tsukimura T, Katayama M, Mitobe S, Sakuraba H.: Fabry patients exhibiting no elevation in plasma globotriaosylsphingosine level. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- Tsukimura T, Takada M, Aizawa Y, Suzuki T, Katayama M, Sakuraba H, Togawa T.: Comparative study on the content of mannose 6-phosphate residues of recombinant lysosomal enzymes. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- Itoh K, Tsuji D, Namba K, Yamaguchi S, Imataki I, Ishimaru N, Sakuraba H.: Establishment of human neural cell culture systems induced from ips cells derived from Tay-Sachs disease patient for drug discovery. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- Kitakaze K, Kawano K, Tsuji D, Asanuma D, Kamiya M, Urano Y, Sakuraba H, Itoh K.: Imaging of enzyme replacement with a novel fluorescent probe and purified lysosomal  $\beta$ -hexosaminidase carrying M6P-type glycans. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- Tsukimura T, Kawashima I, Togawa T, et al: Efficient uptake of recombinant  $\alpha$ -galactosidase A produced with a gene-manipulated yeast by Fabry mice kidneys. *Mol Med* 18: 76-82, 2012
- Togawa T, Tsukimura T, Kodama T, et al: Fabry disease: Biochemical, pathological and structural studies of the  $\alpha$ -galactosidase A with E66Q amino acid substitution. *Mol Genet Metab* 105: 615-620, 2012
- Doi K, Noiri E, Ishizu T, et al: High-throughput screening identified disease-causing mutants and functional variants of  $\alpha$ -galactosidase A gene in Japanese male hemodialysis patients. *J Hum Genet* 57:

575-579, 2012

- Mitobe S, Togawa T, Tsukimura T, et al: Mutant  $\alpha$ -galactosidase A with M296I does not cause elevation of the plasma globotriaosylsphingosine level. *Mol Genet Metab* 107: 623-626, 2012
- Maita N, Taniguchi H, Sakuraba H: Crystallization, X-ray diffraction analysis and SIRAS phasing of human  $\alpha$ -L-iduronidase. *Acta Cryst F*68: 1363-1366, 2012
- Mawatari K, Yasuoka H, Oba T, et al: Screening for Fabry disease in patients with left ventricular hypertrophy. *Int J Cardiol*, in press
- Ogawa Y, Tanaka M, Tanabe M, et al: Impaired neural differentiation of induced pluripotent stem cells generated from a mouse model of Sandhoff disease. *PLoS ONE*, in press

芳野 信、渡邊順子

- Ihara K, Yoshino M, Watanabe Y, et al. : Coagulopathy in patients with late-onset ornithine transcarbamylase deficiency in remission state: a previously unrecognized complication. *Pediatrics*. 2013 Jan;131(1):e327-30.
- Miyake N, Yano S,, Watanabe Y, et al. : Mitochondrial complex III deficiency caused by a homozygous UQCRC2 mutation presenting with neonatal-onset recurrent metabolic decompensation. *Hum Mutat*. 2013 Mar;34(3):446-52.
- Okano Y, Yoshino M, Watanabe Y, et al. : Fatigue and quality of life in citrin deficiency during adaptation and compensation stage. *Mol Genet Metab*. 2013 May;109(1):9-13.
- Hara M, Matsuishi T, Yoshino M, et al. : An adult patient with mucopolipidosis III alpha/beta presenting with parkinsonism. *Brain Dev*. 2013 May;35(5):462-5.
- Miyake N, Watanabe Y, Yoshino M, et al. : MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013 Sep;161(9):2234-43.
- Higashimoto K, Watanabe Y, Soejima H, et al. : Homozygous deletion of DIS3L2 exon 9 due to non-allelic homologous recombination between LINE-1s in a Japanese patient with Perlman syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2013 Nov;21(11):1316-9.
- Nakashima S, Watanabe Y, Ogata T, et al. : Critical role of Yp inversion in PRKX/PRKY-mediated Xp;Yp translocation in a patient with 45,X testicular disorder of sex development. *Endocr J*. 2013 Oct 3. [Epub ahead of print]
- Yatsuki H, Higashimoto K, Jozaki K, Koide K, Okada J, Watanabe Y, Okamoto N, Tsuno Y, Yoshida Y, Ueda K, Shimizu K, Ohashi H, Mukai T, Soejima H. Novel mutations of CDKN1C in Japanese patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Genes Genom* (2013) 35:141–147
- Higashimoto K, Watanabe Y, Soejima H, et al. : Aberrant methylation of H19-DMR acquired after implantation was dissimilar in soma versus placenta of patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Am J Med Genet A*. 2012 May 10. *Am J Med Genet A*. 2012 Part A 9999:1-6
- Mitobe S, Yoshino M, Sakuraba H, et al. : Mutant  $\alpha$ -galactosidase A with M296I does not cause elevation of the plasma globotriaosylsphingosine level. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2012 Jul 14. [Epub ahead of print]
- Okada J, Matsuishi T, Iwata O, et al. : Levothyroxine replacement therapy and refractory hypotension out of transitional period in preterm infants. *Clin Endocrinol* 2011; 74: 354-364. (doi:



10.1111/j.1365-2265.2010.03927.x.)

- Sanayama Y, Yoshino M, Okano Y, et al. : Experimental evidence that phenylalanine is strongly associated to oxidative stress in adolescents and adults with phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 2011; 103: 220-225.
- Harada H, Yoshino M, Ikeda H, et al. : Laronidase replacement therapy improves myocardial function in mucopolysaccharidosis I. *Mol Genet Metab* 2011; 103: 215-219.
- Watanabe Y, Yano S, Yoshino M, et al. : A familial case of LEOPARD syndrome associated with a high-functioning autism spectrum disorder. *Brain Dev* 2011; 33: 576-57
- Segawa Y, Watanabe Y, Yoshino M, et al. : A long-term survival case of arginase deficiency with severe multicystic white matter and compound mutations. *Brain Dev* 2011; 33: 45-48.
- Yano S, Bagheri A, Watanabe Y, et al. : Familial Simpson-Golabi-Behmel syndrome: Studies of X-chromosome inactivation and clinical phenotypes in two female individuals with GPC3 mutations. *Clin Genet.* 2011 Nov;80(5):466-71.
- Shimizu N, Yoshino M, Aoki T, et al : Effects of long-term zinc treatment in Japanese patients with Wilson disease: efficacy, stability, and copper metabolism. *Transl Res* 2010; 156: 350-357.
- Fujii C, Umehashi H, Yoshino M, et al. : Attitude to extended use and long-term storage of newborn screening blood spots in Japan. *Pediatr Int* 2010; 52: 393-397.
- Pinner JR, Kirk EP, Yoshino M, et al. : Female heterozygotes for the hypomorphic R40H mutation can have ornithine transcarbamylase deficiency and present in early adolescence: a case report and review of the literature. *J Med Case Reports* 2010; 4: 361.
- Narumi S, Watanabe Y, Hasegawa T, et al. : Various types of LRP5 mutations in four patients with osteoporosis-pseudoglioma syndrome: identification of a 7.2-kb microdeletion by oligonucleotide tiling microarray. *Am J Med Genet A.* 2010 Jan;152A(1):133-40.
- Komatsuzaki S, Watanabe Y, Matsubara Y, et al. : Mutation analysis of the SHOC2 gene in Noonan-like syndrome and in hematologic malignancies. *J Hum Genet.* 2010 Dec;55(12):801-9.

#### 北川照男

- T. Kitagawa. Newborn Screening for Inborn Errors of Metabolism in Japan -A History of the Department of Newborn Screening-. *Pediatric Endocrinology Reviews*, 10; Suppl 1; 8-25, 2012.
- Teruo Kitagawa. Hepatorenal tyrosinemia. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B*, Vol.88, 192-200, 2012. Togawa T, Kodama T, Kitagawa T, et al. Plasma globotriaosylsphingosine as a biomarker of Fabry disease. *Mol Genet Metab* 100; 257-261, 2010.

#### 奥山虎之

- T Tajima G, Sakura N, Kosuga M et al. Effects of idursulfase enzyme replacement therapy for Mucopolysaccharidosis type II when started in early infancy: comparison in two siblings. *Mol Genet Metab.* 2013;108:172-7.
- Sasaki T, Niizeki H, Shimizu A, Shiohama A, Hirakiyama A, Okuyama T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Ishiko A, Tanese K, Miyakawa SI, Sakabe JI, Kuwahara M, Amagai M, Okano H, Suematsu M, Kudoh J. Identification of mutations in the prostaglandin transporter gene SLCO2A1 and its phenotype-genotype

correlation in Japanese patients with pachydermoperiostosis. *J Dermatol Sci.* 2012;68:36-44.

- Hwu WL, Okuyama T, But WM, Estrada S, Gu X, Hui J, Kosuga M, Lin SP, Ngu LH, Shi H, Tanaka A, Thong MK, Wattanasirichaigoon D, Wasant P, McGill J. Current diagnosis and management of mucopolysaccharidosis VI in the Asia-Pacific region. *Mol Genet Metab.*2012;107:136-144.
- D'Aco K, Underhill L, Rangachari L, Arn P, Cox GF, Giugliani R, Okuyama T, Wijburg F, Kaplan P. Diagnosis and treatment trends in mucopolysaccharidosis I: findings from the MPS I Registry. *Eur J Pediatr.*2012;171:911-919
- Furujo M, Kubo T, Kosuga M, Okuyama T. Enzyme replacement therapy attenuates disease progression in two Japanese siblings with mucopolysaccharidosis type VI. *Mol Genet Metab* 2011;104:597-602.
- Oda E, Tanaka T, Migita O, Kosuga M, Fukushi M, Okumiya T, Osawa M, Okuyama T. Newborn Screening for Pompe disease in Japan. *Mol Genet Metab.*2011;104:560-565.
- Furukawa Y, Hamaguchi A, Nozaki I, Iizuka T, Sasagawa T, Shima Y, Demura S, Murakami H, Kawahara N, Okuyama T, Iwasa K, Yamada M. Cervical pachymeningeal hypertrophy as the initial and cardinal manifestation of mucopolysaccharidosis type I in monozygotic twins with a novel mutation in the alpha-l-iduronidase gene. *J Neurol Sci.* 2011;15:121-125.
- Hayashi S, Imoto I, Aizu Y, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Okamoto N, Honda S, Araki S, Mizutani S, Numabe H, Saitoh S, Kosho T, Fukushima Y, Mitsubuchi H, Endo F, Chinen Y, Kosaki R, Okuyama T, Ohki H, Yoshihashi H, Ono M, Takada F, Ono H, Yagi M, Matsumoto H, Makita Y, Hata A, Inazawa J. Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies. *J Hum Genet.* 2011;56:110-124.
- Kondoh T, Kanno A, Itoh H, Nakashima M, Honda R, Kojima M, Noguchi M, Nakane H, Nozaki H, Sasaki H, Nagai T, Kosaki R, Kakee N, Okuyama T, Fukuda M, Ikeda M, Shibata Y, Moriuchi H. Donepezil significantly improves abilities in daily lives of female Down syndrome patients with severe cognitive impairment: a 24-week randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Psychiatry Med.* 2011;41:71-89.
- Okuyama T, Tanaka A, Suzuki Y, Ida H, Tanaka T, Cox GF, Eto Y, Orii T. Japan Elaprase((R)) Treatment (JET) study: Idursulfase enzyme replacement therapy in adult patients with attenuated Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis II, MPS II). *Mol Genet Metab.* 2010;99:18-25.

#### 坪井一哉

- Tsuboi, K., S. Suzuki, et al. "Descriptive Epidemiology of Fabry Disease Among Beneficiaries of the Specified Disease Treatment Research Program in Japan." *Journal of Epidemiology* 22(4): 370-374.2012
- Tsuboi, K. and H. Yamamoto (2012). "Clinical observation of patients with Fabry disease after switching from agalsidase beta (Fabrazyme) to agalsidase alfa (Replagal)." *Genetics in Medicine advance online publication* (in press).
- Yamamoto, H. and K. Tsuboi (2012). "Age-influence upon Auditory Dysfunction in Patients with Fabry Disease." *Journal of Transportation Medicine* 64(3,4): 25-29.

#### 松田純子

- Murakami, I, Mitsutake, S, Kobayashi, N, Matsuda, J, Suzuki, A, Shigyo, T, Igarashi, Y.: Improved

high-fat diet-induced glucose intolerance by an oral administration of phytosphingosine. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 77, 194-197. 2013.

- ○ Hisaki H, Matsuda J, Tadano-Aritomi K, Uchida S, Okinaga H, Miyagawa M, Tamamori- Adachi M, Iizuka M, Okazaki T. Primary polydipsia, but not accumulated ceramide, causes lethal renal damage in saposin D-deficient mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* (2012) 303:F1049-1059.
- ○ Hojo H, Tanaka H, Hagiwara M, Asahina Y, Ueki A, Katayama H, Nakahara Y, Yoneshige A, Matsuda J, Ito Y, Nakahara Y. Chemoenzymatic synthesis of hydrophobic glycoprotein: synthesis of saposin C carrying complex-type carbohydrate. *J. Org. Chem.* (2012) 77:9437-9446.
- ○ Toyofuku T, Nojima S, Ishikawa T, Takamatsu H, Tsujimura T, Uemura A, Matsuda J, Seki T, Kumanogoh A. Endosomal sorting by Semaphorin 4A in retinal pigment epithelium supports photoreceptor survival. *Genes Dev.* (2012) 26:816-829.
- Suzuki A, Miyazaki M, Matsuda J, Yoneshige A. High-performance thin-layer chromatography/mass spectrometry for the analysis of neutral glycosphingolipids. *Biochimica et Biophysica Acta. (Molecular and Cell Biology of Lipids)* (2011) 1811:861-874.
- ○ Hojo H, Katayama H, Tano C, Nakahara Y, Yoneshige A, Matsuda J, Sohma Y, Kiso Y, Nakahara Y. Synthesis of the sphingolipid activator protein, saposin C, using an azido-protected O-acyl isopeptide as an aggregation-disrupting element. *Tetrahedron Lett.* (2011) 52:635-639.
- ○ Yoneshige A, Suzuki K, Suzuki K, Matsuda J. A Mutation in the Saposin C Domain of the Sphingolipid Activator Protein (Prosaposin) Gene Causes Neurodegenerative Disease in Mice. *J. Neurosci. Res.* (2010) 88: 2118-2134.
- Yoneshige A, Sasaki A, Miyazaki M, Kojima N, Suzuki A, Matsuda J. Developmental changes in glycolipids and synchronized expression of nutrient transporters in the mouse small intestine. *J. Nutr. Biochem.*

#### 遠藤 文夫

- 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)
- 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)
- 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)
- 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)
- 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)

- 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)
- 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)
- 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 Inherit Metab Dis.* (2012)35:777-785.
- 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(2011)406-409
- Nakano S, Ozasa S, Yoshioka K, Fujii I, Mitsui K, Nomura K, Kosuge H, Endo F, Matsukura M, Kimura S. Checking exon-skipping events in candidates for clinical trials of morpholino. *Pediatr Int.* 2011 Feb 22.
- ○Shigeto S, Katafuchi T, Okada Y, Nakamura K, Endo F, Okuyama T, Takeuchi H, Kroos MA, Verheijen FW, Reuser AJJ, Okumiya T.; Improved assay for differential diagnosis between Pompe disease and acid alpha-glucosidase pseudodeficiency on dried blood spots. *Mol. Genet. Metab.* 103(2011) 12-17
- Nakamura K, Hattori K, Endo F.: Newborn Screening for lysosomal disorders. *Am J Med Genet.* 157(2011) 63-71
- Kato I, Umeda K, Awaya T, Yui Y, Niwa A, Fujino H, Matsubara H, Watanabe K, Heike T, Adachi N, Endo F, Mizukami T, Nunoi H, Nakahata T, Adachi S. Successful treatment of refractory donor lymphocyte infusion-induced immune-mediated pancytopenia with rituximab. *Pediatr Blood Cancer.* 2010 Feb;54(2):329-31
- Hayashi S, Imoto I, Aizu Y, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Okamoto N, Honda S, Araki S, Mizutani S, Numabe H, Saitoh S, Kosho T, Fukushima Y, Mitsubuchi H, Endo F, Chinen Y, Kosaki R, Okuyama T, Ohki H, Yoshihashi H, Ono M, Takada F, Ono H, Yagi M, Matsumoto H, Makita Y, Hata A, Inazawa J. Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies. *J Hum Genet.* 2011 Feb;56(2):110-24.
- ○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(2010) 259-261
- Numata S, Koda Y, Ihara K, Sawada T, Okano Y, Matsuura T, Endo F, Yoo HW, Arranz JA, Rubio V, Wermath B, Mew NA, Tuchman M, Pinner JR, Kirk EP, Yoshino M.: Mutant alleles associated with late-onset ornithine transcarbamylase deficiency in male patients have recurrently arisen and have been retained in some populations. *J Hum Genet.* 55(2010) 18-22

下澤伸行

- Vu Chi Dung, Nobuyuki Shimozawa, Nguyen Ngoc Khanh, et al. Mutations of ABCD1 gene

and phenotype of Vietnamese patients with X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD). *International Journal of Pediatric Endocrinology Suppl 1*: 127, 2013.

- Ohba C, Osaka H, Shimozawa N, et al. Diagnostic utility of whole exome sequencing in patients showing cerebellar and/or vermis atrophy in childhood. *Neurogenetics* 14: 225-32, 2013.
- Hama K, Nagai T, Shimozawa N, et al. Molecular Species of Phospholipids with Very Long Chain Fatty Acids in Skin Fibroblasts of Zellweger Syndrome. *Lipids* 48: 1253-1267, 2013.
- Shuji Matsui, Masuko Funahashia, Nobuyuki Shimozawa, et al. Newly identified milder phenotype of peroxisome biogenesis disorder caused by mutated PEX3 gene. *Brain Dev*; 35: 842-8, 2013.
- Yumi Mizuno, Yuichi Ninomiya, Nobuyuki Shimozawa, et al. Tysnd1 deficiency in mice interferes with the peroxisomal localization of PTS2 enzymes, causing lipid metabolic abnormalities and male infertility. *PLOS Genetics* 9 :e1003286, 2013.
- Masashi Morita, Junpei Kobayashi, Nobuyuki Shimozawa, et al. A novel double mutation in the ABCD1 gene in a patient with X-linked adrenoleukodystrophy: Analysis of the stability and function of the mutant ABCD1 protein. *J Inher Metab Dis, Rep* 10: 95-102, 2013.
- Iwasa M, Yamagata T, Shimozawa N et al. Contiguous ABCD1 DXS1357E deletion syndrome: Report of an autopsy case. *Neuropathology* 33: 292-8, 2013.
- Noriyuki Kanzawa, Nobuyuki Shimozawa, Ronald J.A. Wanders, Kazutaka Ikeda, Yoshiko Murakami, Hans R. Waterham, Satoru Mukai, Morihisa Fujita, Yusuke Maeda, Ryo Taguchi, Yukio Fujiki, and Taroh Kinoshita. Defective lipid remodeling of GPI anchors in peroxisomal disorders, Zellweger syndrome and rhizomelic chondrodysplasia punctata. *J Lipid Res* 53: 653-63, 2012
- Mizumoto H, Akashi R, Hikita N, Kumakura A, Yoshida Y, Honda A, Shimozawa N, Hata D. Mild case of D-bifunctional protein deficiency associated with novel gene mutations. *Pediatr Int* 54(2): 303-4, 2012.
- Nobuyuki Shimozawa, Ayako Honda, Naomi Kajiwara, Sachi Kozawa, Tomoko Nagase, Yasuhiko Takemoto, Yasuyuki Suzuki X-linked adrenoleukodystrophy: Diagnostic and follow-up system in Japan *J Hum Genet* 56 (2): 106-109, 2011
- Nobuyuki Shimozawa. Molecular and clinical findings and diagnostic flowchart of peroxisomal diseases *Brain Dev* 33: 770-776, 2011
- Kozawa S, Honda A, Kajiwara N, Takemoto Y, Nagase T, Nikami H, Okano Y, Nakashima S, Shimozawa N. Induction of peroxisomal lipid metabolism in mice fed a high-fat diet. *Mol Med Report* 4: 1157-1162, 2011
- Shaheen R, Al-Dirbashi OY, Al-Hassnan ZN, Al-Owain M, Makhshed N, Basheeri F, Seidahmed MZ, Salih MAM, Faqih E, Zaidan H, Al-Sayed M, Rahbeeni Z, Al-Sheddi T, Hashem M, Kurdi W, Shimozawa N, Alkuraya FS. Clinical, biochemical and molecular characterization of peroxisomal diseases in Arabs. *Clin Genet* 79 (1): 60-70, 2011
- Matsukawa T, Asheuer M, Takahashi Y, Goto J, Suzuki Y, Shimozawa N, Takano H, Onodera O, Nishizawa M, Aubourg P, Tsuji S. Identification of novel SNPs of ABCD1, ABCD2, ABCD3, and ABCD4

genes in patients with X-linked adrenoleukodystrophy (ALD) based on comprehensive resequencing and association studies with ALD phenotypes. *Neurogenetics*. 12 (1) :41-50, 2011.

- Masashi Morita, Nobuyuki Shimosawa, Yoshinori Kashiwayama, Yasuyuki Suzuki, Tsune Imanaka ABC subfamily D proteins and very long chain fatty acid metabolism as novel targets in adrenoleukodystrophy *Current Drug Targets* 12 (5): 694-706, 2011.
- Miyoshi Y, Sakai N, Hamada Y, Tachibana M, Hasegawa Y, Kiyohara Y, Yamada H, urakami M, Kondou H, Kimura-Ohba S, Mine J, Sato T, Kamio N, Ueda H, Suzuki Y, Shiomi M, Ohta H, Shimosawa N, Ozono K. linical aspects and adrenal functions in eleven Japanese children with X-linked adrenoleukodystrophy. *Endocr J*.57 (11): 965-972, 2010

#### 今中常雄

- Morita M, Kobayashi J, Yamazaki K, et al.: A novel double mutation in the ABCD1 gene in a patient with X-linked adrenoleukodystrophy: Analysis of the stability and function of the mutant ABCD1 protein. *J Inherit Metab Dis Rep* 10: 95-102, 2013
- Hama K, Nagai T, Nishizawa C, *et al.*: Molecular species of phospholipids with very long chain fatty acids in skin fibroblasts of Zellweger syndrome. **Lipids** 48: 1253-1267, 2013
- Morita M., Imanaka T.: Peroxisomal ABC transporters: Structure, function and role in disease. *Biochem. Biophys. Acta* 1822, 1387-1396, 2012. (review)
- Morita M., Shinbo S., Asahi A., Imanaka T.: Very long chain fatty acid  $\beta$ -oxidation in astrocytes: Contribution of the ABCD1-dependent and -independent pathways. *Biol. Pharm. Bull.* 35, 1972-1979, 2012.

#### 加我牧子

- Yasumira A, Kokubo N, Kaga M, et al : Neurobehavioral and hemodynamic evaluation of Stroop and reverse Stroop interference in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Brain & Development*. (in press).
- Tsujimoto S, Yasumura A, Kaga M et al. Increased prefrontal oxygenation related to distractor-resistant working memory. *Child Psychiatry Hum Development* 44:678-688, 2013.
- Inoue Y, Ito K, Kaga M, et al, Psychometric properties of Japanese version of the Swanson, Nolan, and Pelham, version-IV Scale-Teacher Form: A study of school children in community samples. *Brain & Development*. (in press)
- Kokubo N, Inagaki M, Gunji A, Kobayashi T, Ohta H, Kajimoto O, Kaga M: Developmental change of visuo-spatial working memory in children: Quantitative evaluation through and Advanced Trail Making Test. *Brain Dev* 34: 799-805, 2012.
- Inoue Y, Sakihara K, Gunji A, Ozawa H, Kimiya S, Shinoda S, Kaga M, Inagaki M: Reduced prefrontal hemodynamic response in children with AD/HD during the Go/NoGo task: A NIRS study. *Neuroreport* 23: 55-60, 2012.
- Yatabe K, Goto T, Watanabe K, Kaga M, Inagaki M: Reading and Writing Achievement Tests for Assessing Orthographical and Phonological Impairments of Japanese Children with Developmental

Disorders. In W. Sittiprapaporn (Ed.), *Learning Disabilities*. Rijeka, Croatia: InTech Publishing. ISBN 978-953-51-0269-4. pp. 69-86, 2012.

- Kita Y, Gunji A, Inoue Y, Goto T, Sakihara K, Kaga M, Inagaki M, Hosokawa T: Self-face recognition in children with autism spectrum disorders: A near-infrared spectroscopy study. *Brain Dev.* 33: 494-503, 2011.

#### 横山和明

- Hama K, Nagai T, Nishizawa C, et al. Molecular Species of Phospholipids with Very Long Chain Fatty Acids in Skin Fibroblasts of Zellweger Syndrome. *Lipids* 48, 1253–1267 (2013).

#### 大澤真木子、石垣景子

- Ishigaki K, Yoshikawa Y, Kuwatsuru R, Oda E, Murakami T, Sato T, Saito T, Umezu R, Osawa M. High-density CT of muscle and liver may allow early diagnosis of childhood-onset Pompe disease., *Brain Dev.* 2012 Feb;34(2):103-6.
- Ishigaki K, Murakami T, Nakanishi T, Oda E, Sato T, Osawa M., Close monitoring of initial enzyme replacement therapy in a patient with childhood-onset Pompe disease., *Brain Dev.* 2012 Feb;34(2):98-102.
- Eri Oda , Toju Tanaka , Ohsuke Migita , Motomichi Kosuga , Masaru Fukushi , Toshika Okumiya , Makiko Osawa , Torayuki Okuyama, Newborn screening for Pompe disease in Japan, *Molecular Genetics and Metabolism* 104 (2011) 560–565,
- Hiroi A, Yamamoto T, Shibata N, Osawa M, Kobayashi M., Roles of Fukutin, the Gene responsible for Fukuyama-type congenital muscular dystrophy, in neurons: possible involvement in Synaptic function and neuronal migration., *Acta Histochem Cytochem* 2011;44(2):91-101
- Ito Y, Shibata N, Saito K, Kobayashi M, Osawa M., New insights into the pathogenesis of spinal muscular atrophy., *Brain Dev* 2011;33:321-31.
- Ito Y, Oguni H, Ito S, Oguni M, Osawa M., A modified Atkins diet is promising as a treatment for glucose transporter type 1 deficiency syndrom., *Developmental Medicine and Child Neurology* 2011;(53)7:658-63
- Tsuruta T, Aihara Y, Kanno H, Kiyotani C, Maebayashi K, Sakauchi M, Osawa M, Fujii H, Kubo O, Okada Y., High-dose chemotherapy followed by autologous and allogeneic peripheral blood stem cell transplantation for recurrent disseminated trilateral retinoblastoma., *Chil Nerv Syst* 2011;27:1019-24
- Tsuruta T, Aihara Y, Kanno H, Funase M, Murayama T, Osawa M, Fujii H, Kubo O, Okada Y., Shared molecular targets in pediatric gliomas and Ependymomas., *Pediatr Blood Cancer* 2011;57:1117-23.
- ○Shioda M , Hayashi M, Takanashi J, Osawa M, Lesions in the central tegmental tract in autopsy cases of developmental brain disorders, *Brain & Development* (2010)
- ○Ishigaki K, Mitsuhashi S, Kuwatsuru R, Murakami T, Shishikura K, Suzuki H, Hirayama Y, Nonaka I, Osawa M., High-density areas on muscle CT in childhood-onset Pompe disease are caused by excess calcium accumulation., *Acta Neuropathol.* 2010 Oct;120(4):537-43.
- Kobayashi H, Shimada Y, Ikegami M, Kawai T, Sakurai K, Urashima T, Ijima M, Fujiwara M, Kneshiro E, Ohashi T, Eto Y, Ishigaki K, Osawa M, Kyosen SO, Ida H., Prognostic factors for the late onset Pompe disease with enzyme replacement therapy: From our experience of 4 cases including an autopsy case. *Mol Genet Metab* 2010;100:14-9.

- Yamamoto T, Shibata N, Saito Y, Osawa M, Kobayashi M., Functions of Fukutin, a gene responsible for Fukuyama type congenital muscular dystrophy, in neuromuscular system and other somatic organs. Cent Nerv Syst Agent Med Chem, 2010 ; 10(2) : 169-79.
- Shimizu R, Saito R, Hoshino K, Ogawa K, Negishi T, Nishimura J, Mitsui N, Osawa M, Ohashi H, Severe Peters Plus syndrome-like phenotype with anterior eye staphyloma and hypoplastic left heart syndrome: Proposal of a new syndrome., Congenital Anomalies 2010;50:197-9.

高村歩美

- Ohba C, Osaka H, Takamura A et al: Diagnostic utility of whole exome sequencing in patients showing cerebellar and/or vermis atrophy in childhood. Neurogenetics. 2013 Nov;14(3-4):225-32
- Takamura A, Sakai N, Eto Y et al: The useful preliminary diagnosis of Niemann-Pick disease type C by filipin test in blood smear. Mol Genet Metab. 2013 Nov;110(3):401-4.

●

## 和論文・総説・書籍

衛藤義勝

- 衛藤義勝:最先端医療の進歩 - 臓器移植・再生医療・遺伝子治療, 小児科診療. 診断と治療社, 2012(75)1, p.9
- 衛藤義勝:ライソゾーム病の歴史、ライソゾーム病の機能と取り組み機序 『ライソゾーム病 - 最新の病態, 診断, 治療の進歩 - 』 2-9, 診断と治療社, 2011.
- 衛藤義勝:治療の概説 『ライソゾーム病 - 最新の病態, 診断, 治療の進歩 - 』 83-84, 診断と治療社, 2011.
- 衛藤義勝:ポンペ病 『ライソゾーム病 - 最新の病態, 診断, 治療の進歩 - 』 239-249, 診断と治療社, 2011.
- 衛藤義勝:拡大する酵素補充療法の適応疾患, 日本医師会雑誌第140巻第6号1272-1274, 2011.9.
- 衛藤義勝:先天代謝異常症におけるiPS細胞技術の応用, 医学のあゆみ, 2011(239)14, 1359-1363.
- 衛藤義勝:マルチプルスルファターゼ欠損症, ムコ多糖症UPDATE, E・N MEDIX, 154-158, 2011.
- 衛藤義勝:所謂ムコリピドーシスの鑑別, ムコ多糖症UPDATE, E・N MEDIX, 182-183, 2011.
- 衛藤義勝: 『遺伝子診療学(第2版)』 -遺伝子診断の進歩とゲノム治療の展望-, 日本臨床68巻 増刊号8別刷, 2010.
- 衛藤義勝: 『肝臓・胆道系症候群(第2版)』 -その他の肝・胆道系疾患を含めて-, 別冊日本臨床新領域別症候群シリーズ No.13別刷, 2010.
- 衛藤義勝: 『小児医療従事者の人材確保 第6回日本小児医療政策研究会を開催して 』 (ア)ニキュ・メイト Vol.28:3~4, アトムメディカル株式会社, 2010.
- 衛藤義勝: 『Fabry病の治療 酵素補充療法を中心に 』 神経内科73(2):179~185, 科学評論社, 2010.
- 衛藤義勝: 『ファブリー病に関する調査研究 特に神経症状と治療効果に関して 』 神経:94~98, 中外医学社, 2010
- 衛藤義勝: 『糖原病II型(ポンペ病, ライソゾーム病)』 検査と技術 38(8):588~594, 医学書院, 2010.
- 衛藤義勝: 『ライソゾーム病 - 治療最前線』 医学のあゆみ 234(11):1055~1056, 医歯薬出版株



式会社，2010．

#### 田中あけみ

- 藤川研人、鈴木 健、穴澤 昭、田中あけみ、大橋十也、衛藤義勝、大和田操、北川照男。乾燥濾紙血を用いた糖原病II型の酵素学的スクリーニング法の研究：免疫捕捉酵素活性測定法と競合酵素阻害法の比較。日本マス・スクリーニング学会誌 21： 233-241， 2011
- 田中あけみ，鈴木 健，奥山虎之，藤川研人，坂口知子，小田絵里，藤 直子，斎藤三佳，澤田 智，北川照男。ライソゾーム病のマス・スクリーニングとこれに関わる遺伝カウンセリング。日本マス・スクリーニング学会誌 21： 15-19， 2011
- 岡田志緒子、稲荷場ひろみ、崔 吉永、河野仁美、寺柿政和、岡村幹夫、吉本 充、田中あけみ、根来伸夫、葎山 稔。ファブリー病透析患者における酵素補充療法の治療効果とアガルシダーゼアルファの体内動態について。日本透析学会雑誌 43： 945-951， 2010

#### 高柳正樹

- 井田博幸，衛藤義勝，高柳正樹 他。薬剤の臨床 日本人Gaucher病(I型、II型およびIII型)患者に対するセラザイムの8年間の製造販売後調査結果による有効性と安全性の検討。小児科診療76： 1325-1334、2013
- 菅沼広樹，鈴木光幸，高柳正樹 他。劇症肝不全として発症したミトコンドリアDNA枯渇症候群の新生児例。日本小児科学会雑誌115巻： 1067-107、2011

#### 高橋 勉

- 高橋 勉：Niemann-Pick病、新領域別症候群シリーズNo.23、血液症候群（第2版） その他の血液疾患を含めて、日本臨床、日本臨床社、491-75、2013.
- 小山千嘉子、高橋 勉：ニーマンピック病A、B型、新領域別症候群シリーズNo.20、先天代謝異常症候群（第2版）下 病因・病態研究、診断治療の進歩、日本臨床、日本臨床社、472-75、2012.

#### 大野耕作、成田 綾

- 成田綾、大野耕作：ミオクローヌス What 's myoclonus ? ライソゾーム病. Clinical Neuroscience 30(7):822-825, 2012
- 成田綾、大野耕作：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
- 大野耕作 「ライソゾーム膜蛋白質と機能異常」p28-31、「ニーマンピック病C型(NPC)」p250-254 ライソゾーム病 - 最新の病態，診断，治療の進歩 - 衛藤義勝 責任編集 診断と治療社 東京 2011
- 大野耕作 遺伝性神経疾患の神経変性機構の解明と治療法の開発 - Niemann-Pick病C型について - 脳と発達 42： 92-102,2010
- 大野耕作 ライソゾーム病の治療 シャペロン療法 血液フロンティア 20（4）： 69-77， 2010

#### 鈴木康之

- 鈴木康之．副腎白質ジストロフィー．大生定義編、すべての内科医が知っておきたい神経疾患の診かた、考え方とその対応．265-266、羊土社、東京、2012
- 鈴木康之．モルキオ症候群．VIII代謝<ムコ多糖症>、内科増大号：知っておきたい内科症候群2012； 109:1361-2
- 鈴木康之．ムコ多糖症III型．日本臨床 新領域別症候群シリーズNo20、2012;539-542

- 鈴木康之．ムコ多糖症の治療とケア．難病と在宅ケア、2012；18：20-23
- 鈴木康之．ムコ多糖症．Brain Medical 2012；24:247-254
- 鈴木康之．ALDの造血幹細胞移植療法．Clinical Neuroscience 2011；29:958-959.
- 鈴木康之．ハーラー/シャイエ症候群．症候群ハンドブックp387中山書店、東京2011
- 鈴木康之．ムコ多糖症（MPS）III型．ライソゾーム病－最新の病態、診断、治療の進歩．診断と治療社、東京、197-200、2011
- 鈴木康之．ライソゾームのムコ多糖症代謝．ライソゾーム病－最新の病態、診断、治療の進歩．診断と治療社、東京、19-21、2011
- 鈴木康之．ムコ多糖症の疫学．ムコ多糖症UPDATE、E-N MEDIX、東京、7-8、2011
- 鈴木康之、升野光雄．ムコ多糖症IX型の酵素と酵素欠損、遺伝子異常の機構．ムコ多糖症UPDATE、E-N MEDIX、東京、97、2011
- 鈴木康之．ムコ多糖症II型（Hunter病）．ムコ多糖症UPDATE、E-N MEDIX、東京、106-110、2011
- 戸松俊治、鈴木康之．ムコ多糖症IVA型．ムコ多糖症UPDATE、E-N MEDIX、東京、119-130、2011
- 鈴木康之．ムコ多糖症IX型．ムコ多糖症UPDATE、E-N MEDIX、東京、146-147、2011
- 戸松俊治、鈴木康之．ムコ多糖症に対する対症療法、欧米における治療法開発の現状．ムコ多糖症UPDATE、E-N MEDIX、東京、198-201、2011
- 鈴木康之．ムコ多糖症のADLとQOL．ムコ多糖症UPDATE、E-N MEDIX、東京、202-204、2011
- 鈴木康之．酵素補充療法（ムコ多糖症II型）まとめ．ムコ多糖症UPDATE、E-N MEDIX、東京、235-236、2011
- 鈴木康之．ムコ多糖症の関連医療機関、酵素活性・遺伝子検査実施施設、関連学会一覧．ムコ多糖症UPDATE、E-N MEDIX、東京、319-323、2011
- 鈴木康之．副腎白質ジストロフィー．先天代謝異常症 Diagnose at a Glance．診断と治療社、東京、149-151、2011

#### 桜庭 均

- 桜庭 均：ファブリー病の最前線、秋津めーる、81:13、2010
- 桜庭 均：ファブリー病：その早期診断法と分子設計による新規治療薬の開発、ファルマシア、46：750-754、2010
- 桜庭 均：ファブリー病と酵素補充療法、明薬会誌、193：13-14、2010
- 桜庭 均：ファブリー病～診断と治療の最前線～、横須賀市医師会報、302：23、2012
- 桜庭 均：高機能複合型新規リソソーム病治療薬の開発、大阪医薬品協会会報、2012
- 桜庭 均、菅原佳奈子：ライソゾーム病に対する治療の進歩とそのムコ多糖症治療法開発への応用、ムコ多糖症UPDATE、折居忠夫監修、イーエスメディックス、東京、pp. 261-265、2011
- 桜庭 均、菅原佳奈子：ガラクトシアリドーシス、ムコ多糖症UPDATE、折居忠夫監修、イーエスメディックス、東京、pp. 170-171、2011
- 桜庭 均：ゴーシェ病．今日の小児治療指針、編集 大関武彦、古川 漸、横田俊一郎、水口 雅、医学書院、第15版、東京、p. 211、2012
- 桜庭 均：病態生理学、ファブリー病Up Date、監修 衛藤義勝、編集 井田博幸、遠藤文夫、大橋十也、奥山虎之、桜庭 均、辻 省次、鄭 忠和、成田一衛、湯澤由紀夫、診断と治療社、東京、pp. 18-24、2012

- 櫻庭 均：分子生物学的病態生理学、ファブリー病Up Date、 監修 衛藤義勝，編集 井田博幸，遠藤文夫，大橋十也，奥山虎之，櫻庭 均，辻 省次，鄭 忠和，成田一衛，湯澤由紀夫、診断と治療社、東京、pp. 25-50、2012

芳野 信、渡邊順子

- 渡邊順子：治療法の実態と現状 -糖質代謝異常症の食事療法- 小児科診療特集 診断と治療社（東京） 2013； 1:123-128. 総頁165
- 渡邊順子：IX. ビタミン代謝異常. 3 .遺伝性コバラミン転送異常、コバラミン代謝異常（1）トランスコバラミンII（TC II）欠損症（別名：トランスコバラミン欠損症：TC欠損症）. 先天代謝異常症候群（第2版）下、別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.20, 286-290 . 2012
- 渡邊順子：IX. ビタミン代謝異常. 3 .遺伝性コバラミン転送異常、コバラミン代謝異常（2）遺伝性コバラミン代謝異常症先天代謝異常症候群（第2版）下、別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.20, ; 291-294 . 2012
- 渡邊順子：XII. ライソゾーム病. 18 .コバラミン代謝異常症F型（cbIF）先天代謝異常症候群（第2版）下、別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.20, ; 611-613 . 総頁数911 . 2012
- 芳野 信：モリブデン補因子欠損症 金属代謝異常症、先天代謝異常症候群（第2版）下、別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.20, 252-255, 2012.
- 芳野 信：亜硫酸酸化酵素単独欠損症 金属代謝異常症、先天代謝異常症候群（第2版）下、別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.20, 256-258, 2012.
- 芳野 信、小須賀基通：6 .ハーラー症候群 内科 増大号 「知っておきたい内科症候群」109（6）1353-1354 , 2012.
- 芳野 信：原発性高シュウ酸尿症 型（L-グリセリン酸血症）有機酸代謝異常ガイドブック . 山口清次 編集 . 診断と治療社（東京）2011 ; 88-89 . 総頁数195 .
- 芳野 信： ケトアジピン酸血症 有機酸代謝異常ガイドブック . 山口清次 編集 . 診断と治療社（東京）2011 ; 90-91 . 総頁数195 .
- 芳野 信：オルニチントランスカルバミラーゼ（OTC）欠損症 有機酸代謝異常ガイドブック . 山口清次 編集 . 診断と治療社（東京）2011 ; 94-95 . 総頁数195 .
- 芳野 信：ライソゾーム病の病態におけるサイトカインなど生物活性物質の役割 ライソゾーム病 - 最新の病態、診断、治療の進歩 - . 衛藤義勝 責任編集 . 診断と治療社（東京）2011 ; 35-37 . 総頁数274 .
- 渡邊順子：コバラミン代謝異常症F型 ライソゾーム病 - 最新の病態、診断、治療の進歩 - . 衛藤義勝 責任編集 . 診断と治療社（東京）2011 ; 235-236 . 総頁数274 .
- 芳野 信、西村 裕、佐倉伸夫：尿素サイクル異常症 症例43アルギノコハク酸尿症 . 先天代謝異常症 . 日本先天代謝異常学会編集 . 診断と治療社（東京）2011 ; 127-128 . 総頁数172 .
- 芳野 信：遺伝病の告知とインフォームドコンセント（出生前診断を含む） 小児医療とインフォームドコンセント . 白幡 聡、藤野昭宏 編集 . 医薬ジャーナル社（大阪）2010 ; 119-134 . 総頁数374 .
- 大平智子、渡邊順子、岡田純一郎、芳野 信：肝型糖原病 . 遺伝性肝疾患 . 向坂彰太郎、孝田雅彦 編集 . 中外医学社（東京）2010 ; 58-65 . 総頁数216 .

- 芳野 信：高アンモニア血症．小児科臨床ピクシス23 見逃せない先天代謝異常．五十嵐 隆 総編集．高柳正樹 専門編集．中山書店（東京）2010；8-10．総頁数282．
- 芳野 信：アンモニア．小児科臨床ピクシス23 見逃せない先天代謝異常．五十嵐 隆 総編集．高柳正樹 専門編集．中山書店（東京）2010；86-87．総頁数282．
- 芳野 信：高アンモニア血症を示すとき．小児科臨床ピクシス23 見逃せない先天代謝異常．五十嵐 隆 総編集．高柳正樹 専門編集．中山書店（東京）2010；150-153．総頁数282．
- 芳野 信：新生児期に緊急処置を要する先天代謝異常症．小児科診療増刊号 小児の治療指針 2010；73：886-889．

#### 北川照男

- 北川照男．続・PKUの予後を向上させた人々．日本マス・スクリーニング学会誌，23；(1)：10 5-107，2013
- 北川照男，鈴木 健，石毛信之：G. 予防、スクリーニング；スクリーニングの方法．編集 衛藤義勝，井田博幸，遠藤文夫，他：ファブリー病Update．診断と治療社，東京、p248-254，2013．
- 北川照男．タンデムマスによる新生児マススクリーニングにより発見される疾患の概要について．東京産婦人科医会誌，44；41-45，2012
- 北川照男，松田一郎，青木菊麿他．タンデムマスによる新生児マススクリーニング検査で発見された症例の診断と治療．特殊ミルク情報，48；50-64，2012．
- 大和田操，青木菊麿，北川照男他．「わかりやすい肝型糖尿病食事療法」の見通しについての検討．特殊ミルク情報，48；65-67，2012
- 北川照男，松田一郎，青木菊麿他．フェニルケトン尿症（高フェニルアラニン血症の一部を含む）治療指針の第二次改定の経緯と改定勧告治療指針（平成24年度）について．特殊ミルク情報，48；82-84，2012
- 北川照男，石毛美夏，大和田操他．東京でのタンデムマス・スクリーニングへの取り組みとその成績 厚生労働科学研究による試験的 newborn スクリーニングでの経験からー 特殊ミルク情報，48；100-108，2012．
- 石毛信之，藤川研人，北川照男，他：乾燥濾紙血中アシルカルニチンの保存期間と保存温度による安定性の検討．日本マス・スクリーニング学会誌，22，3，31-40，2011．
- 北川照男，松田一郎，大和田操，他：タンデムマス・マススクリーニングで異常が発見された時の対応．特殊ミルク情報，47，40-48，2011
- 藤川研人，鈴木 健，北川照男，他：乾燥濾紙血液を用いた糖原病II型の酵素学的スクリーニング法の研究；免疫捕捉酵素活性測定法と競合酵素阻害法の比較．日本マス・スクリーニング学会誌，21，3，33 (233)-41(241)，2011．
- 石毛信之，藤川研人，北川照男，他：VLCAD欠損症の診断に血清アシルカルニチン測定が有効であった一例．日本マス・スクリーニング学会誌，21，1，59-66，2011．
- 島 悠子，杉原茂孝，大和田操，他：東京都における先天性甲状腺機能低下症のスクリーニングのカットオフ値の検討．日本マス・スクリーニング学会誌，21，(1)，29-35，2011．
- 北川照男，鈴木 健：E. ライソゾーム病のスクリーニング；3. ライソゾーム病のハイリスクスクリーニング．編集 衛藤義勝，井田博幸，遠藤文夫，他：ライソゾーム病 最新の病態、診

断、治療の進歩 . 診断と治療社, 東京, p134-137, 2011.

- 北川照男: 特殊ミルク共同安全開発委員会の30年を回顧して. 特殊ミルク情報, 46, 1-7, 2010.
- 北川照男, 松田一郎, 大和田操, 他: タンデムマス法による新生児マススクリーニングで見つかる有機酸・脂肪酸代謝異常症の理解のために. 特殊ミルク情報, 46, 34-43, 2010.
- 碓井ひろみ, 阿部紀子, 大和田操, 他: 食事療法下のPKUにおける血清アミノ酸パターンの研究. 日本マス・スクリーニング学会誌, 20, (3), 37(229)-42(234), 2010.

#### 松田純子

- 松田純子: シアリドーシス. 先天代謝異常ハンドブック. 中山書店. p.212-213, 2013.
- 松田純子: サポシン欠損と神経機能障害. 脳21「特集;糖鎖と神経疾患 糖脂質」金芳堂. 14:55-60, 2011.
- 松田純子, 米重あづさ: サポシンA欠損症. 先天代謝異常症候群 第2番(下) 病因・病態研究、診断・治療の進歩 - . 日本臨牀 別冊. 2012年12月20日発行 p.508-512 .
- 松田純子, 米重あづさ: サポシンB欠損症. 先天代謝異常症候群 第2版(下) - 病因・病態研究、診断・治療の進歩 - . 日本臨牀 別冊. 2012年12月20日発行 p.513-517 .
- 松田純子, 米重あづさ: サポシンC欠損症. 先天代謝異常症候群 第2版(下) - 病因・病態研究、診断・治療の進歩 - . 日本臨牀 別冊. 2012年12月20日発行 p.518-522 .
- 松田純子: シアリドーシス. 先天代謝異常症候群 第2版(下) - 病因・病態研究、診断・治療の進歩 - . 日本臨牀 別冊. 2012年12月20日発行 p.580-583 .
- 松田純子: シアリドーシス. 先天代謝異常ハンドブック. 中山書店. 2013年3月発行予定 .
- 松田純子: サポシン欠損症. ライソゾーム病 最新の病態、診断、治療の進歩. 診断と治療社 . P. 180-183, 2011.
- 松田純子: シアリドーシス. ライソゾーム病 最新の病態、診断、治療の進歩. 診断と治療社 . P. 223-225, 2011.

#### 下澤伸行

- 下澤伸行 ペルオキシソーム病ハンドブック2013 -全てのペルオキシソーム病患者の診断治療を目指して- 日本臨床社 大阪 2013年6月
- 下澤伸行 監修、副腎白質ジストロフィー診療ハンドブック2013作成委員会: 編集 副腎白質ジストロフィー診療ハンドブック2013-ALD患者を支えている関係者の皆様へ- 協力: 日本先天代謝異常学会, 厚生労働省難治性疾患克服事業「ライソゾーム病(ファブリ病を含む)に関する調査研究」 西濃印刷 岐阜 2013年9月
- 下澤伸行 Zellweger spectrum 先天代謝異常ハンドブック pp248-249. 中山書店. 東京. 2013年
- 下澤伸行 rhizomelic chondrodysplasia punctate (RCDP) type 1 先天代謝異常ハンドブック p p250-251. 中山書店. 東京. 2013年
- 下澤伸行 副腎白質ジストロフィー 先天代謝異常ハンドブック pp252-253. 中山書店. 東京. 2013年
- 下澤伸行 ペルオキシソーム 酸化酵素欠損症 先天代謝異常ハンドブック pp254-256. 中山書店. 東京. 2013年

- 下澤伸行 Refsum病、rhizomelic chondrodysplasia punctate (RCDP) type 2・3 先天代謝異常ハンドブック pp257-259. 中山書店. 東京. 2013年
- 塩田睦記、舟塚 真、下澤伸行、他 極長鎖脂肪酸の反復検査で診断し得たD-bifunctional protein欠損症の1例 東京女子医科大学雑誌 83: E103-106, 2013
- 下澤伸行 ペルオキシソーム病 小児科診療 76(1) 35-43. 2013年1月
- 下澤伸行 ペルオキシソーム代謝異常症 内分泌・糖尿病・代謝内科 34(3) 198-203. 2012年3月
- 下澤伸行 ペルオキシソーム病 Brain Medical 24(3) 261-270. 2012年9月
- 下澤伸行 副腎白質ジストロフィーの診療アップデート 小児内科 44 (10) 1667-1672. 2012年10月
- 下澤伸行 ペルオキシソーム病 (Zellweger症候群, 原発性高シュウ酸尿症 1型) 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No17 腎臓症候群 (第2版) 369-373. 日本臨床社. 東京. 2012年1月
- 鈴木康之、下澤伸行 副腎白質ジストロフィーの造血幹細胞移植法 Annual Review 神経 2012. 241-245. 中外医学社. 東京. 2012年1月
- 下澤伸行 副腎白質ジストロフィー 今日の小児治療指針 第15版 大関武彦、古川 漸、横田俊一郎、水口 雅編. pp212-213 医学書院、東京、2012年2月.
- 下澤伸行 ペルオキシソーム病 (副腎白質ジストロフィー) 最新ガイドライン準拠 小児科 診断・治療指針 pp299-302. 中山書店、東京、2012年9月
- 下澤伸行 ペルオキシソーム病: 概論 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下 pp389-397. 日本臨床社. 東京. 2012年12月
- 下澤伸行 ツェルウェガー (Zellweger) 症候群 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下 pp398-404. 日本臨床社. 東京. 2012年12月
- 下澤伸行 新生児型副腎白質ジストロフィー 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下 pp405-408. 日本臨床社. 東京. 2012年12月
- 下澤伸行 乳児型レフサム病 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下 pp409-413. 日本臨床社. 東京. 2012年12月
- 下澤伸行 Rhizomelic chondrodysplasia punctata (RCDP) type 1 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下 pp414-417. 日本臨床社. 東京. 2012年12月
- 下澤伸行 副腎白質ジストロフィー 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下 pp418-427. 日本臨床社. 東京. 2012年12月
- 下澤伸行 アシルCoAオキシダーゼ (AOX) 欠損症 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下 pp428-432. 日本臨床社. 東京. 2012年12月
- 下澤伸行 二頭酵素 (D-bifunctional protein: DBP) 欠損症 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下 pp433-438. 日本臨床社. 東京. 2012年12月
- 下澤伸行 Rhizomelic chondrodysplasia punctata (RCDP) type 2, RCDP type 3別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下 pp439-442. 日本臨床社. 東京. 2012年12月
- 下澤伸行 レフサム病 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下 pp443-446. 日本臨床社. 東京. 2012年12月
- 下澤伸行 アカタラセミア 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群

(第2版)下 pp447-449. 日本臨床社. 東京. 2012年12月

- 下澤伸行 新たに分類されたペルオキシソーム病 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No20 先天代謝異常症候群(第2版)下 pp454-455. 日本臨床社. 東京. 2012年12月
- 下澤伸行 脳肝腎症候群(ツェルウェーガー症候群)症候群ハンドブックpp126-127 中山書店. 東京. 2011年5月
- 下澤伸行 Zellweger症候群 先天代謝異常症Diagnosis at a Glance 日本先天代謝異常学会編. Pp146-148. 診断と治療社. 東京. 2011年7月
- 鈴木康之、小関道夫、下澤伸行 副腎白質ジストロフィー 先天代謝異常症Diagnosis at a Glance日本先天代謝異常学会編. pp149-151. 診断と治療社. 東京. 2011年7月
- 下澤伸行 RCDP type1先天代謝異常症Diagnosis at a Glance 日本先天代謝異常学会編. Pp152-153. 診断と治療社. 東京. 2011年7月
- 三善陽子、酒井規夫、池田佳世、長谷川泰浩、橘真紀子、清原由起、山田寛之、近藤宏樹、濱田悠介、木村志保子、里 龍晴、峰 淳史、神尾範子。鈴木保宏、塩見正司、太田秀明、下澤伸行、大園恵一 副腎白質ジストロフィーの日本人男児11例に置ける副腎機能解析 日本内分秘学会雑誌 87 suppl 83-85. 2011年6月
- 下澤伸行 ペルオキシソーム病(副腎白質ジストロフィー、Zellweger症候群)小児科診療2010年増刊号、小児の治療指針 515-517, 2010.4.
- 下澤伸行 ペルオキシソーム病を見逃していませんか? 小児内科42 (7) 1167-1173, 2010.
- 鈴木康之、下澤伸行 日本先天代謝異常学会学会賞受賞論文「ペルオキシソーム病との30年:二人三脚の旅」日本先天代謝異常学会雑誌 26 (1) 2-12, 2010.7.
- 下澤伸行 ペルオキシソーム形成異常症 -Zellweger症候群- 別冊日本臨床新領域別症候群シリーズ No13 肝・胆道系症候群(第2版)515-518. 日本臨床社. 東京. 2010年9月
- 下澤伸行 極長鎖脂肪酸測定 小児科臨床ピクシス 23 見逃せない先天代謝異常 pp112-115 中山書店. 東京. 2010年12月
- 下澤伸行 ペルオキシソーム病 小児科臨床ピクシス 23 見逃せない先天代謝異常 pp214-217 中山書店. 東京. 2010年12月

今中常雄

- 川口甲介, 今中常雄: ペルオキシソームの多様性と動態からみた微生物の生存戦略. 生化学 84, 21-25, 2012. (review)

小林博司

- 小林博司: 心筋症, 小児内科 42(7):1130- ,2010
- 小林博司 E治療 2-h 酵素補充療法の副作用とその治療 ファブリー病up date p 206-211、診断と治療社 2013
- 小林博司 6章 ライソゾーム病 GM1/GM2ガングリオシドーシス 先天代謝異常ハンドブック p216-219 中山書店 2013
- 小林博司: E治療 2酵素補充概要 h酵素補充療法の副作用とその治療. Fabry病Up Date. 診断と治療社. 2012
- 小林博司: 筋型糖原病 小児疾患の診断基準. 改定4版 小児内科44巻増刊. 2012; 156-157

- 小林博司：E治療 5遺伝子治療．Fabry病Up Date．診断と治療社．2012
- 小林博司：1ムコ多糖症．先天代謝異常症 Daiagnosis at a Glance 編集 日本先天代謝異常学会 編集委員 遠藤文夫，山口清次，高柳正樹，深尾敏幸，酒井規夫．2011;7月25日 2-4．診断と治療社
- 小林博司：対症療法(薬物，その他)，衛藤義勝責任編集，井田博幸，遠藤文夫，大橋十也，奥山虎之，櫻庭均，鈴木康之編．ライソゾーム病 - 最新の病態、診断、治療の進歩 - ．診断と治療社．2011：85-8
- 小林博司：GM1ガングリオシドーシス，モルキオ症候群B型( -ガラクトシドーシス)，衛藤義勝責任編集，井田博幸，遠藤文夫，大橋十也，奥山虎之，櫻庭均，鈴木康之編．ライソゾーム病 - 最新の病態、診断、治療の進歩 - ．診断と治療社．2011：161-4
- 小林博司：GM2ガングリオシドーシス，衛藤義勝責任編集，井田博幸，遠藤文夫，大橋十也，奥山虎之，櫻庭均，鈴木康之編．ライソゾーム病 - 最新の病態、診断、治療の進歩 - ．診断と治療社．2011：165-168
- 小林博司：11-5-1 大動脈弁狭窄を有するムコ多糖症 型に対する酵素補充療法の経験．ムコ多糖 UPDATE総監修 折井忠夫．編集，井田博幸，衛藤義勝，奥山虎之，鈴木康之，鈴木康之，田中あけみ．2011:12月1日 219-20．イーエヌメディックス
- 小林博司：心筋症，特集 先天代謝異常を見逃さない 小児内科 2010；42(7)：1130

#### 加我牧子

- 加我牧子：副腎白質ジストロフィー．技術情報協会編：希少疾患／難病の診断・治療と製品開発．(株)技術情報協会，pp．953-959，2012．
- 加我牧子：脳のレベルの聴覚障害．チャイルドヘルス15：741-744，2012．
- 加我牧子，軍司敦子，稲垣真澄：発達障害における認知機能障害と神経生理学的所見．医学のあゆみ239：609-613，2011．
- 加我牧子：小児聴覚失認の診療．音声言語医学52：316-321，2011．
- 加我牧子：発達障害の認知機能評価．認知神経科学13：29-33，2011．
- 加我牧子：副腎白質ジストロフィー症の話題．東京小児科医会報，100：47 - 53，2011．

#### 横山和明

- 横山和明，西澤千穂，池田和貴，永井徹，守田雅志，原田史子，佐藤典子，唐沢健，今中常雄，下澤伸行，田口良，井上圭三，ペルオキシソーム病の繊維芽細胞に蓄積する極長鎖脂肪酸含有脂質、脂質生化学研究、(2010)、52、28-28

#### 大澤真木子、石垣景子

- 石垣景子ら．小児の呼吸管理9 「神経・筋疾患」．小児科．2013:54(2):213-221
- Eri ODA, Keiko ISHIGAKI, Takashi SAITO, Terumi MURAKAMI, Takatoshi SATO, Sachiko KAJINO, Yoko YOSHIKAWA, Makiko OSAWA, Different responses to enzyme replacement therapy in two patients with childhood-onset Pompe disease 東京女子医大雑誌 第83巻 第E1号 受理(平成25年1月31日発行予定)
- 塩田 睦記)、舟塚 真)、小田 絵理)、白戸 由理、竹下 暁子)、石垣 景子、齋藤 加代子、下



澤 伸行)、大澤 真木子：極長鎖脂肪酸の反復検査で診断し得たD-bifunctional protein欠損症の1例 東京女子医大雑誌 第83巻 第E1号 受理(平成25年1月31日発行予定)

- 田良島美佳子、中野和俊、小野由子、大澤真木子、脳MRI所見の経年的変化を基にしたLeigh症候群の亜型分類 東京女子医大雑誌 第83巻 第E1号 受理(平成25年1月31日発行予定)
- 白戸由理、中野和俊、大澤真木子、ミトコンドリア細胞の嫌気培養における生存とTCA回路の酵素に関する解析 東京女子医大雑誌 第83巻 第E1号 受理(平成25年1月31日発行予定)
- 西村 敏、永木茂、大澤真木子、I-cell病(ムコリピドーシスII型)の一例 東京女子医大雑誌 第83巻 第E1号 受理(平成25年1月31日発行予定)
- 伊藤 進 大澤真木子、片側性の脳室上衣下嚢胞と脳室内隔壁を呈したピルビン酸脱水素酵素複合体欠損症の一女兒例 東京女子医大雑誌 第83巻 第E1号 受理(平成25年1月31日発行予定)
- 兼子 直、大澤真木子、新島新一、笹川睦男、渡邊央美、女性のでんかん患者に対する薬物治療戦略—女性のライフサイクルやQOLの観点から—(2010.10.2 Roundtable discussion) Pharma Medica 2011;29(2):157-62.
- 山本智子、廣井敦子、柴田亮行、大澤真木子、小林楨雄。福山型先天性筋ジストロフィーの中枢神経病変の解析および原因遺伝子fukutinの役割東女医大誌2011;81(臨増):E25-E36
- 大澤真木子、舟塚 真 先天性筋ジストロフィー(福山型を中心に) J Clin Rehab 2010;19(1):89-93.
- 山内俊雄、兼子 直、大澤真木子、田中正樹。妊娠女性および妊娠可能年齢女性に対する抗てんかん薬の使い方。臨床精神薬理 2010;13(4);853-64.
- 石垣景子、大澤真木子。ミニ特集 筋疾患の診断と治療Update 1. 先天性筋ジストロフィー 小児科臨床 2010;63(9):1879-89

#### 井田博幸

- 井田博幸：糖原病2・5・7型，今日の治療指針第15版，医学書院．2012：198-199
- 井田博幸：酵素欠損症の治療 - 神経系を中心に - ，Brain Medical．2012：61-68
- 井田博幸：ここまで治せるようになった先天代謝異常症 - 蓄積物質の合成を阻害する薬剤(基質合成抑制療法) - ，小児内科．2012；44：1645-1649
- 井田博幸：小児疾患の診断治療基準 - ゴーシェ病 - ，小児内科44増刊号．2012；44：158-159
- 井田博幸：ゴーシェ病，先天代謝異常症候群 - 病因・病態研究、診断・治療の進歩 - ，日本臨牀．2012；20：465-467
- 井田博幸：小児の成長，ナースの小児科学．中外医学社．2011：34-45改訂5版
- 井田博幸：マロトー・ラミー症候群，症候群ハンドブック．中山書店．2011：388-389
- 井田博幸：ライソゾーム病 - 最新の病態、診断、治療の進歩 - ，酵素補充療法．診断と治療社．2011：101-106
- 井田博幸：ライソゾーム病 - 最新の病態、診断、治療の進歩 - ，基質合成抑制療法．診断と治療社．2011：107-109
- 井田博幸：ライソゾーム病 - 最新の病態、診断、治療の進歩 - ，ゴーシェ病．診断と治療社．2011：144-148
- 井田博幸：巻頭言 - ライソゾーム病の診断と研究に従事して - ，東京小児科医会報．2011：1-2

- 竹内智一，林孝彰，長谷川行洋，井田博幸，常岡寛：原発性高カイロミクロン血症を伴う 型高脂血症による小児網膜脂血症．臨床眼科2010;64:1383-1388
- 井田博幸：小児神経・精神疾患臨床のトランジション， - 代謝遺伝性疾患のキャリアオーバー，日本臨床．2010：68：19-26
- 井田博幸：リソソーム病の診断と治療，小児科．2010：51：191-198
- 井田博幸：ライソゾーム病の臨床と病態，血液フロンティア．2010：20：35-45
- 井田博幸：小児の治療指針 - Gaucher病 - ，小児科診療増刊号．2010：503-504
- 井田博幸：ライソゾーム病の治療法の進歩，小児内科．2010：42：1187-1190
- 井田博幸：肝・胆道系症候群 - Gaucher病 - ，日本臨床領域別症候群シリーズNo.13．2010：505-508
- 井田博幸：小児難病を知る - リソゾーム病 - ，J Clinical Rehabilitation．2010：19：1096-1098

#### 大橋十也

- 大橋十也．特集 最先端医療の進歩-臓器移植・再生医療・遺伝子治療．医療の進歩．ライソゾーム蓄積症．小児科診療．2012；75：125-130.
- 大橋十也．腎臓症候群（第2版）上-その他の腎臓疾患を含めて- 尿細管輸送異常症．シスチン蓄積症．別冊 日本臨床 新領域別症候群シリーズ 17．2012；43：815-820.
- 大橋十也．特集 ここまで治せるようになった 先天代謝異常症 序 先天代謝異常症の治療の新展開．小児内科．2012；44:1580-1582.
- 大橋十也．先天代謝異常症候群（第2版）下-病因・病態研究，診断・治療の進歩- 膜輸送系の異常 ライソゾーム膜の異常 シスチン蓄積症．別冊 日本臨床 新領域別症候群シリーズ 20．2012；812-817.
- 大橋十也．先天代謝異常症候群（第2版）下-病因・病態研究，診断・治療の進歩-XIIライソゾーム病 ポンベ病．別冊 日本臨床 新領域別症候群シリーズ 20．2012；593-598.
- 佐藤洋平，大橋十也．先天代謝異常症候群（第2版）下-病因・病態研究，診断・治療の進歩-XIIIライソゾーム病 ムコ多糖症．別冊 日本臨床 新領域別症候群シリーズ 20．2012；558-560.
- 大橋十也：特集 最先端医療の進歩 臓器移植・再生医療・遺伝子治療 遺伝子治療の進歩 ライソゾーム蓄積症，小児診療．2012,1号(125 )125-9.
- 大橋十也：腎臓症候群（第2版）上 その他の腎臓疾患を含めて 尿細管輸送異常症 シスチン蓄積症 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.17 2012．815-20．
- 大橋十也：尿素サイクル異常症，小児内科．東京医学社．Vol.43 No.3，2011-3
- 大橋十也：臨床検査の意義と限界 - 乳酸，ピルビン酸 - ，小児内科．東京医学社．Vol.43 No.5，2011-5
- 大橋十也、有賀賢典：第 3章．内分泌・代謝 スライ症候群，症候群ハンドブック．中山書店．2011：309-310
- 大橋十也：ライフスパンからみた小児科診療 Fabry病，小児内科．東京医学社．Vol.43 No.9，2011-9

- 大橋十也：糖蛋白質の生合成とライソゾームにおける分解，ライソゾーム病 - 最新の病態、診断、治療の進歩 - . 診断と治療社 . 2011 : 22-27
- 大橋十也：遺伝子治療，ライソゾーム病 - 最新の病態、診断、治療の進歩 - . 診断と治療社 . 2011 : 123-126
- 大橋十也：先天代謝異常症 Diagnosis at a Glance 4脂質蓄積症 : 症例 8 . 編集 日本先天代謝異常学会 編集委員 遠藤文夫，山口清次，高柳正樹，深尾敏幸，酒井規夫 . 2011;7月25日22-3. 診断と治療社 .
- 大橋十也：新しい治療法の適応とガイドライン ファブリー病 . 日本先天代謝異常学会雑誌 . 2011; vol.27 No.1 13-9 .
- 大橋十也：特集・わが国のライソゾーム病の病因，病態，診断，治療 5. ライソゾーム病の治療 4)細胞・遺伝子治療 血液フロンティア 2010 ; 20 ( 4 ) 593-9 .
- 大橋十也：臨床検査の意義と限界 アミノ酸分画 . 小児科内科2010 ; 42 ( 3 ) 497-500 .
- 大橋十也：臨床検査の意義と限界 有機酸分析 . 小児科内科2010 ; 42 ( 5 ) 802-6 .
- 大橋十也：特集・臨床遺伝学の進歩と日常診療 「 遺伝性疾患の新しい治療と今後期待される研究」ライソゾーム蓄積症と酵素補充療法 日医雑誌2010 ; 139 ( 3 ) 621-4 .
- 大橋十也：特集・先天代謝異常症を見逃さない、序 決してまれではない先天代謝異常症 . 小児科内科2010 ; 42 ( 7 ) 1067-8 .
- 大橋十也：遺伝子診療学（第2版） 遺伝子診断の進歩とゲノム治療の展望 . 遺伝子治療と核酸治療 (Nucleic-Acid-Based Therapeutics) 現状と展望 B.各論 先天性遺伝疾患に対する遺伝子治療 リソゾーム蓄積症の遺伝子治療 . 日本臨床2010 68 : ( 8 ) 665-9 .

## 学会発表

### 国際学会

衛藤義勝

- M Fujisaki, J Matsumoto, A Takamura, T Higuchi, M Furujo, S Kawagoe, H Kobayashi, H Ida, Y Shimada, T Ohashi, T Dairaku, Y Eto Enzymatic Diagnosis of Maroteaux-Lamy disease (MP ) in dried Blood Spots on Filter Paper, The 54th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD), Gifu, Japan, 2012 November 15th – 17th
- M Fujisaki, A Takamura, T Dairaku, T Ohashi, H Ida, Y Eto : Enzymatic screening in dried blood spots and gene analysis of Mucopolysaccharidosis IVA (MPS I A) in Japanese, 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Barcelona, Spain, 2013 September 3rd – 6th
- M Fujisaki, A Takamura, T Dairaku, T Ohashi, H Ida, Y Eto : Enzymatic screening using dried blood spots and gene analysis of Mucopolysaccharidosis A (MPS I A) in Japanese The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD), Chib
- Eto Y :Immunity of inborn error of metabolism, Asian Society of Pediatric Research, Kuching, Malaysia, 2013.5.10
- Eto Y :Applications of iPS Cell Technology for the Pathogenesis and Possible Treatment of LSD, International Fabry disease symposium, Hong Kong, June 6, 2013

- Eto Y: Novel Strategies of the Treatment for Lysosomal Storage Diseases. International Conference on Rare Diseases and Orphan Drugs, 2012. 2.5, 東京
- Eto Y: Japanese Experiences in the Enzyme Replacement Therapy with, Leplagal for Fabry Disease , Russian Pediatric Society, Moscow, 2012.2.25, ロシア
- Eto Y: Novel Strategies of the Treatment for Genetic Diseases, Asian society of LSD & Asian Inherited Metabolic disease, 2012.4.3, 韓国
- Eto Y: Novel Strategies of the Treatment for Genetic Diseases, Asian society of pediatric research, 2012.5.18-20, 韓国
- Eto Y: Mucopolysaccharidosis a diagnostic challenge to pediatricians? The Center of Excellence Program for Mucopolysaccharidoses. 2012,6. 台湾
- 衛藤義勝: Approach to the child with suspected inborn error of metabolism, Asian-Pacific Congress of Pediatric, 2012.9.10-13, マレーシア
- Eto Y: Novel strategies of treatment of lysosomal storage diseases, 第4回国際ライソゾーム病フォーラム , 2012.10.4 , 東京
- Ariga M, Kobayahi H, Shimada Y, Fukuda T, Iizuka S, Kaneshiro E, Ida H, Eto Y, Ohashi T: Neonatal gene therapy of MPS VII mice by lentiviral vector, 第4回国際ライソゾーム病フォーラム, 2012.10.5 , 東京
- Sato Y, Saito R, Kobayashi H, Fujiwara M, Ohashi T, Ida H, Eto Y: Massive accumulation of glycosaminoglycans in the aortic valve of a patient with Hunter syndrome during enzyme replacement therapy, 第4回国際ライソゾーム病フォーラム, 2012.10.6 , 東京
- Kitagawa T, Suzuki K, Ishige N, Fujikawa K, Ohashi T, Eto Y: CKD severity staging in Fabry patients detected by high risk screening, 第4回国際ライソゾーム病フォーラム, 2012.10.6 , 東京
- Eto Y: Clinical Application of iPS technology for LSD research, European Society of Gene Therapy, Versailles, 2012.10.27-31, フランス

#### 鈴木義之

- Suzuki Y: Chemical chaperone therapy for neuronopathic lysosomal diseases. 4th International Conference on Drug Discovery & Therapy, Dubai, UAE, February 11-15, 2012.
- García-Moreno MI, Aguilar-Moncayo M, Mena-Barragán T, Takai T, Linjing L, Higaki K, Ohno K, Suzuki Y, Ortiz Mellet C, García Fernández JM: Anomeric selective pharmacological chaperones for LSDs based on non-glyconic interactions, International Carbohydrate Symposium, Madrid, Spain, July 22-27, 2012.
- Suzuki Y (Symposium): Chaperone therapy: its concept and research development. Joint Congress of 12th International Child Neurology Congress and the 11th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Brisbane, Australia, May 27-June 1, 2012.
- Suzuki Y (Symposium): Lysosomal diseases: pathogenesis and diagnosis. Joint Congress of 12th International Child Neurology Congress and 11th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Brisbane, Australia, May 27-June 1, 2012.
- Narita A, Zhuo L, Higaki K, Togawa M, Maegaki Y, Nanba E, Suzuki Y, Ohno K: Chemical chaperone therapy for neuronopathic Gaucher disease. Joint Congress of 12th International Child Neurology Congress and the 11th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Brisbane, Australia, May 27-June 1, 2012.

- Narita A, Kubota N, Takayama R, Takahashi Y, Numakura C, Kato M, Asakawa K, Ishikawa H, Maegaki Y, Suzuki Y, Ohno K: Abnormal pupillary reflex in patients with neuronopathic Gaucher disease. Joint Meeting of 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders and 17th Japanese Society of Lysosomal Storage Disorders, Tokyo, 2012. 10. 4-6.
- Yu Y, Higaki K, Takai T, Ortiz Mellet C, Garcia Fernandez JM, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E: Tuning glycosidase inhibition through aglycone interactions: pharmacological chaperones for Fabry disease and G<sub>M1</sub>-gangliosidosis. Joint Meeting of 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders and 17th Japanese Society of Lysosomal Storage Disorders, Tokyo, 2012. 10. 4-6.
- Takai T, Higaki K, Ortiz Mellet C, Garcia Fernandez JM, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E: A novel chaperone compound for G<sub>M1</sub>-gangliosidosis. Joint Meeting of 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders and 17th Japanese Society of Lysosomal Storage Disorders, Tokyo, 2012. 10. 4-6.
- Takai T, Higaki K, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E: A novel chaperone compound for G<sub>M1</sub>-gangliosidosis. 第17回日本ライソゾーム病研究会、東京、2012.10.5-6.
- Yu Y, Higaki K, Takai T, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E: Tuning glycosidase inhibition through aglycone interactions: pharmacological chaperones for Fabry disease and G<sub>M1</sub>-gangliosidosis. 第17回ライソゾーム病研究会、東京、2012.10.5-6.
- Narita A, Kubota N, Takayama R, Takahashi Y, Numakura C, Kato M, Asakawa K, Ishikawa H, Maegaki Y, Suzuki Y, Ohno K: Abnormal pupillary reflex in patients with neuronopathic Gaucher disease. 第17回日本ライソゾーム病研究会、東京、2012.10.5-6.
- Narita A, Itamura S, Shirai K, Kubota N, Takayama R, Takahashi Y, Asakawa K, Ishikawa H, Maegaki Y, Suzuki Y, Ohno K: Pharmacological chaperone therapy for neuronopathic Gaucher disease. 第17回日本ライソゾーム病研究会、東京、2012.10.5-6.
- Mena-Barragán T, Li L, Aguilar-Moncayo M, García-Moreno MI, Luan Z, Namba E, Ohno K, Ortiz Mellet C, Higaki K, Suzuki Y, García Fernández JM: sp<sup>2</sup>-Iminosugar-type (galacto)nojirimycin analogues with pharmacological chaperone activity for G<sub>M1</sub>-gangliosidosis and Fabry disease. 16th European Carbohydrate Symposium (EUROCARB) in Sorrento, Italy; July 3-7, 2011
- Tomoko Takai, Katsumi Higaki, Kousaku Ohno, Yoshiyuki Suzuki, Eiji Nanba: Chemical chaperone therapy: chaperone effect on mutant enzyme and cellular pathophysiology in β-galactosidase deficiency. Satellite Symposium of Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases 2011 Tokyo Meeting on Lysosomal Storage Disease Screening, Tokyo, 2011.8.4-6
- Yoshiyuki Suzuki: Chemical chaperone therapy for neuronopathic lysosomal diseases. International Conference of Medichem 2011, Beijing, 2011.8.9-11.
- Suzuki Y: Child neurology, ICNA, and scientific research (Frank Ford Memorial Lecture). 11th International Child Neurology Congress, Cairo, May 1-7, 2010.
- Suzuki Y: Chemical chaperone therapy (Symposium Neurogenetics II), 11th International Child Neurology Congress, Cairo, May 1-7, 2010.
- Suzuki Y: G<sub>M1</sub>-gangliosidosis and chaperone therapy. Yonago International Symposium: Chaperone Therapy Update, Yonago, July 29, 2010.

- Ortiz Mellet C, Aguilar-Moncayo M, García-Moreno MI, Luan Z, Ohno K, Higaki K, García Fernández JM, Suzuki Y: Synthesis of bicyclic sp<sup>2</sup>-iminosugars and evaluation of their chaperone activity for Gaucher and G<sub>M1</sub>-gangliosidosis mutations. 25th International Carbohydrate Symposium, Makuhari, Chiba, August 1-6, 2010.
- Ichinomiya S, Kurosawa M, Suzuki Y: Mouse Neurology: Assessment of chaperone effect in murine g<sub>m1</sub>-gangliosidosis. 39th Annual Meeting of the Child Neurology Society, Providence, RI, USA, October 13-16, 2010

#### 田中あけみ

- Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in Mucopolysaccharidosis Type II Patients. 12th International Symposium on MPS and Related Disease 28 Jun-1 Jul, 2012, The Netherland
- Tanaka A, Hamazaki T, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in the patients with Mucopolysaccharidosis Type II. SSIEM 2012, 4-7 Sep, 2012, England
- Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in Mucopolysaccharidosis Type II Patients. 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders & 17th Japanese Society of Lysosomal Storage Disorders, 4-6 Oct, 2012, Tokyo

#### 島田 隆

- Watanabe, A., Satoh, S., Fujita, A., Naing, BT, Orimo, H., Shimada, T. Perinatal (lethal) type of hypophosphatasia resulting from paternal isodisomy of chromosome 1. American College of Medical Genetics 2012 Annual Meeting. 2012.3. Charlotte, NC
- Shimada, T. Gene therapy for Hypophosphatasia. 6th International Alkaline Phosphatase and Hypophosphatasia Symposium. 2012.5. Huningue, France
- Watanabe, A., Satoh, S., Fujita, A., Naing, BT, Orimo, H., Shimada, T. Perinatal (lethal) type of hypophosphatasia resulting from paternal isodisomy of chromosome 1. 6th International Alkaline Phosphatase and Hypophosphatasia Symposium. 2012.5. Huningue, France
- Sugano, H., Miyake, K., Watanabe, A., Iijime, A., Narisawa, S., Millan, JL., Fukunaga, Y., Shimada, T. Successful gene therapy *in utero* for lethal murine hypophosphatasia. 6th International Alkaline Phosphatase and Hypophosphatasia Symposium. 2012.5. Huningue, France
- Iijima, O., Sugano, H., Watanabe, A., Miyake, K., Shimada, T. Ex vivo gene therapy of severe infantile hypo- phosphatasia model mice using lentiviral transduced bone marrow cells. 6th International Alkaline Phosphatase and Hypophosphatasia Symposium. 2012.5. Huningue, France
- Miyake, N., Miyake, K., Sakai, A., Yamamoto, M., Endo, A., Suzuki, H., Shimada, T. Gene therapy of adult MLD model mice by intrathecal administration of type 9 AAV vector. 15th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2012. 5. Philadelphia, Pennsylvania
- Watanabe, A., Naing, B.T., Shimada, T. A novel gene therapy strategy for vascular Ehlers-Danlos syndrome. 1st International symposium on Ehlers-Danlos syndrome. 2012.9. Ghent, Belgium

- Watanabe, A., Hatakeyama, M., Tsunoda, R., Matsumoto, K., Kawame, H., Shimada, T. Hypermobility Syndrome in Japan. 1st International symposium on Ehlers-Danlos syndrome. 2012.9. Ghent, Belgium
- Miyake, N., Miyake, K., Sakai, A., Yamamoto, M., Endo, A., Suzuki, H., Shimada, T. AAV9 mediated gene therapy of MLD model mice. 20th Annual Meeting of the European Society of Gene & Cell Therapy. 2012.10. Versailles, France
- Iijima, O., Miyake, K., Sugano, H., Igarashi, T., Kanokoda, C., Watanabe, A., Shimada, T. Rescue of lethal hypophosphatasia mice by neonatal ex vivo gene therapy using lentivirally transduced bone marrow cells. 54th American Society of Hematology Annual Meeting. 2012.12. Atlanta, GA
- Shimada, T. AAV Vector Mediated Gene Therapy for Lysosomal Storage Diseases. 第4回国際ライソゾーム病フォーラム・第17回日本ライソゾーム病研究会 2012.10. 東京
- Miyake, N., Miyake, K., Sakai, A., Yamamoto, M., Endo, A., Suzuki, H., Shimada, T. Gene therapy of adult MLD model mice by intrathecal administration of type 9 AAV vector. 第4回国際ライソゾーム病フォーラム・第17回日本ライソゾーム病研究会 2012.10. 東京
- Matsumoto, T., Miyake, K., Miyake, N., Orimo, H., Narisawa, S., Millán, J.L. Fukunaga, Y., Shimada, T. Successful Treatment of Hypophosphatasia Model Mice by a Single Intramuscular Injection of AAV Type 8 Vector Expressing Tissue-Nonspecific Alkaline Phosphatase. 14th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2011.5 Seattle, WA
- Sugano, H., Matsumoto, T., Miyake, K., Watanabe, A., Narisawa, S., Millán, J.L., Fukunaga, Y., Shimada, T. Fetal Gene Therapy for Lethal Murine Hypophosphatasia. 14th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2011.5 Seattle, WA
- Igarashi, T., Miyake, K., Asakawa, N., Shimada, T., Takahashi, H. Direct Comparison of Administration Routes for AAV 8 Mediated Ocular Gene Therapy. 14th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2011.5. Seattle, WA
- Miyake, N., Miyake, K., Sakai, A., Yamamoto, M., Endo, A., Suzuki, H., Shimada, T. Intrathecal Administration of Type 9 AAV Vector Expressing Arylsulfatase A Is Effective for Reduction of Sulfatide Storage but Not for Correction of Neurological Deficits in Adult Metachromatic Leukodystrophy Model Mice with Overt Neurological Symptoms. 14th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2011.5. Seattle, WA
- Tamai, H., Miyake, K., Yamaguchi, H., Inokuchi, K., Shimada, T., Dan, K. A single injection of AAV-8 vector expressing IL-24 efficiently suppresses tumor growth mediated by multiple anti-tumor mechanisms in MLL/AF4 positive ALL model mice. 2011 European Hematology Association Congress. 2011.6. London
- Miyake N, Miyake K, Asakawa N, Yamamoto M, Shimada T. Long term correction of biochemical and neurological abnormalities of MLD model mice by systemic neonatal injection of serotype 9. 13th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2010.5 Washington, DC
- Miyake N, Miyake K, Asakawa N, Okabe M, Yamamoto M, Shimada T. Global gene transfer in the CNS and phenotypic correction of MLD model mice by systemic neonatal injection of serotype 9 AAV vector. European Human Genetics Conference 2010. 2010.6 Gothenburg, Sweden
- Sugano H, Miyake N, Endo A, Miyake K, Shimada T. Systemic injection of AAV type 9 in utero

facilitates global gene expression in the CNS. 18th European Society of Gene and Cell Therapy Annual Congress. 2010.10 Milano, Italy

- Sugano H, Miyake N, Endo A, Miyake K, Shimada T. Systemic injection of AAV type 9 in utero facilitates global gene expression in the CNS. International workshop of lysosomal storage disease. 2010.12 Prague, Czech

#### 酒井規夫

- Norio Sakai, Potential effects and obstacles for NBS of metabolic leukodystrophy, including adrenoleukodystrophy, Krabbe and metachromatic leukodystrophy, Asian Congress for Lysosomal Storage Disease Screening, 2013.5
- Hossain MA, Higaki K, Nanba E, Suzuki Y, Ozono K, Sakai N, CHAPERONE THERAPY FOR KRABBE DISEASE; JAPANESE LATE-ONSET MUTATIONS CAN BE TREATED EFFECTIVELY BY NOEV, ICIEM 2013.9
- Hidehito Kondo, Michiko Shinpo, Mohammad Arif Hossain, Yusuke Hamada, Norio Sakai, Yoshihiro Asano, Takeshi Masaki, Tadayasu Togawa, Keichi Ozono, A case report of Fabry disease with chronic heart failure treated with amiodarone, ACIMD 2013.11
- Mohammad Arif Hossain, Katsumi Higaki, Eiji Nanba, Yoshiyuki Suzuki, Keiichi Ozono, Norio Sakai, NOEV treatment option for Japanese Krabbe disease, ACIMD 2013.11
- Mohammad Arif Hossain, Michiko Shinpo, Katsumi Higaki, Eiji Nanba, Yoshiyuki Suzuki, Keiichi Ozono, Norio Sakai, NOEV can stabilize  $\alpha$ -galactosidase in galactosialidosis patients' skin fibroblasts effectively and cause normalization of its activity, ACIMD 2013.11
- Michiko Shinpo, Sayaka Nakano, Yusuke Hamada, Kouji Tominaga, Shin Nabatame, Takeshi Okinaga, Yoshiko Hashii, Norio Sakai, Keichi Ozono, Outcomes of hematopoietic stem cell transplantation for three patients with metachromatic leukodystrophy, ACIMD 2013.11
- Yusuke Hamada, Hidehito Kondo, Michiko Shinpo, Yoshiro Wada, Norio Sakai, Yutaka Sumida, Keiichi Ozono, Different clinical course of propionic acidemia in two siblings, ACIMD 2013.11
- Motohiro Akagi, Mohammad Arif Hossain, Keiichi Ozono, Norio Sakai, Yoshinori Okumura, Clinicogenetical features of a Japanese patient with static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood ( SENDA ), ACIMD 2013.11
- N. Sakai, X.F. Gu, H. Ida on behalf of the EDGE investigators, O. Kawaguchi, Y. Xue, A phase 3 study evaluating once versus twice daily dosing of eliglustat in patients with Gaucher disease type 1 (GD1): Interim results from the lead in period, ACIMD 2013.11
- Otomo T, Higaki K, Nanba E, Ozono K, Sakai N, AUTOPHAGIC IMPAIRMENT IN MUCOLIPIDOSIS II AND III SKIN FIBROBLASTS, SSIEM, 2010.9
- Sakai N, Hossain A, Otomo T, Hamada Y, Okinaga T, Ohta H, Ozono K, Patients with Krabbe disease in Japan: phenotype and treatment, 10th International Symposium on Lysosomal Storage Diseases, Spain, 2011.4
- Sakai N, Respiratory impairment and NPPV treatment in patients with late-onset Pompe disease receiving enzyme replacement therapy, 5th European Symposium on Steps Forward in Pompe Disease, Hungary,



2011.12

- Shinpo M, Nakano S, Hamada Y, Mohammad AH, Sakai N, Clinical course of four Niemann-Pick type C patients and initiation of miglustat therapy, 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders, 2012.10
- Hamada Y, Shinpo M, Mohammad AH, Sakai N, Ozono K, Observation of lysosomes in lysosomal storage disorders with superresolution structured illumination microscopy, 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders, 2012.10

#### 辻 省次

- Matsukawa T, Yamamoto T, Seo S, Kumano K, Ichikawa M, Takahashi Y, Ishiura H, Mitsui J, Tanaka M, Goto J, Kurokawa M, Tsuji S. Hematopoietic stem cell transplantation for adolescent and adult onset cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. The 62<sup>nd</sup> Annual Meeting of American Society of Human Genetics. November 6-10, 2012, San Francisco.

#### 難波栄二

- Nanba E. Chaperone therapy for lysosomal storage diseases. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting for The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Nov. 2013
- Takai T, Higaki K, Suzuki Y, Nanba E. Comparison of two Chaperone candidates for treatment of GM1-gangliosidosis. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting for The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Nov. 2013
- Hossain MA, Higaki K, Nanba E, Suzuki Y, Ozono K, Sakai N. NOEV treatment option for Japanese late-onset Krabbe disease. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting for The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Nov. 2013
- Higaki K, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E. Chemical chaperone therapy for  $\beta$ -galactosidase deficiency. 12<sup>th</sup> International Congress of Human Genetics, Montreal, Canada, 2011,10

#### 鈴木康之

- Suzuki Y, Orii T, Tomatsu S, et al. Overgrowth in infants with Hunter disease: Implication for the early clinical detection. 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) / 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Interited Metabolic Diseases (JSIMD). Maihama, Nov. 2013
- Tomatsu S, Suzuki Y, Orii T, et al. Newborn screening and biomarkers for mucopolysaccharidoses. 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) / 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Interited Metabolic Diseases (JSIMD). Maihama, Nov. 2013
- Suzukin Y. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for X-linked Adrenoleukodystrophy. 2<sup>nd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Disease. 2012.4.1-4, Seoul
- Suzuki Y, Montaña A, Tomatsu S. Overgrowth of patients with Hunter disease during early childhood: possibility of early diagnosis. 4<sup>th</sup> International Forum for Lysosomal Storage Disorders. Oct 4-6, 2012, Tokyo
- Muenzer J, Beck M, Giugliani R, Suzuki Y, Tylki-Szymanska. Safety of idulsulfase in patients aged under 6

years in the Hunter Outcome Survey. ACMG Annual Clinical Genetics Meeting, Albuquerque, March 2010.

- Tomatsu S, Montano A, Oguma T, Dung VC, Oikawa H, Giacomet CT, Gutierrez ML, Yamaguchi S, Suzuki Y, Fukushi M, Barrera L, Orii T. Newborn screening for the mucopolysaccharidoses by using liquid tandem mass spectrometry method. 11<sup>th</sup> International Symposium on mucopolysaccharide and related diseases. 2010.6.23-26, Adelaide, Australia.
- Suzuki Y, Chinen Y, Tanaka A, Sawada T, Okuyama T, Tanaka T, Orii K.E., Orii T, Tomatsu S. genistein supplementation for mucopolysaccharidosis type II and mucopolipidosis: a preliminary report. 11<sup>th</sup> International Symposium on mucopolysaccharide and related diseases. 2010.6.23-26, Adelaide, Australia.
- Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Sawada T, Tanaka T, Takakura H, Ohashi T, Wada M, Yabe H, Ohura T, Suzuki N, Kato K, Adachi S, Mugishima H, Kato S. Efficacy of hematopoietic stem cell transplantation in patients with mucopolysaccharidosis type II: multicenter survey in Japan. 11<sup>th</sup> International Symposium on mucopolysaccharide and related diseases. 2010.6.23-26, Adelaide, Australia.
- Tomatsu S, Montano A, Oikawa H, Giugliani R, Harmatz P, Smith M, Suzuki Y, Orii T. Defects in growth of body in mucopolysaccharidoses. 11<sup>th</sup> International Symposium on mucopolysaccharide and related diseases. 2010.6.23-26, Adelaide, Australia.
- Beck M, Giugliani R, Tytki-Szymanska A, Suzuki Y, Muenzer J. The Hunter Outcome Survey: advancing the understanding of mucopolysaccharidosis type II. 11<sup>th</sup> International Symposium on mucopolysaccharide and related diseases. 2010.6.23-26, Adelaide, Australia.
- Orii T, Sukegawa K, Huang KC, Orii KO, Suzuki Y. Incidence of the mucopolysaccharidoses in Japan. 11<sup>th</sup> International Symposium on mucopolysaccharide and related diseases. 2010.6.23-26, Adelaide, Australia.
- Tomatsu S, Montano A, Oguma T, Dung VC, Oikawa H, Giacomet CT, Gutierrez ML, Yamaguchi S, Suzuki Y, Fukushi M, Sakura N, Barrera L, Kida K, Kubota M, Orii T. Dermatan sulfate and heparin sulfate as a biomarker for mucopolysaccharidosis I. 11<sup>th</sup> International Symposium on mucopolysaccharide and related diseases. 2010.6.23-26, Adelaide, Australia.
- Tomatsu S, Montano A, Oguma T, Dung VC, Oikawa H, Giacomet CT, Gutierrez ML, Yamaguchi S, Suzuki Y, Fukushi M, Barrera L, Kida K, Kubota M, Orii T. Validation of keratin sulfate level in mucopolysaccharidosis IVA by liquid tandem mass spectrometry method. 11<sup>th</sup> International Symposium on mucopolysaccharide and related diseases. 2010.6.23-26, Adelaide, Australia.
- Tomatsu S, Montano A, Oguma T, Dung VC, Oikawa H, Giacomet CT, Gutierrez ML, Yamaguchi S, Suzuki Y, Fukushi M, Barrera L, Orii T. Validation of disaccharide compositions derived from dermatan sulfate and heparin sulfate in mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses II and III by liquid tandem mass spectrometry. 11<sup>th</sup> International Symposium on mucopolysaccharide and related diseases. 2010.6.23-26, Adelaide, Australia.
- Suzuki Y, Chinen Y, Tomatsu S, Tanaka A, Okuyama T, Orii T. Efficacy of Genistein on Mucopolysaccharidosis Type III and Mucopolipidosis : A Preliminary Report. 1<sup>st</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. 2010.3.7-10, Fukuoka
- Tanaka T, Okuyama T, Suzuki Y, Sawada T, Tanaka T, Takakura H, Yabe K, Ohashi T, Ohura T, Suzuki N,

Kato G, Adachi S, Wada M, Mugishima H, Kato S. Efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on the patients with mucopolysaccharidosis type II. 1<sup>st</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. 2010.3.7-10, Fukuoka

桜庭 均

- Sakuraba H : High risk screening for Fabry disease. Asian Congress for Lysosomal Storage Disease Screening, Kumamoto, Japan, May. 2013
- Sakuraba H : E66Q: Biochemical, pathological and structural studies. 3rd Update on Fabry Nephropathy: Biomarkers, Progression and Treatment Opportunities, Hong Kong, China, Jun. 2013
- Sakuraba H : Genotype/Phenotype correlation in Fabry disease. The 15th Annual Asia LSD Symposium, Chiba, Japan, Nov. 2013
- Kawashima I, Mitobe S, Kodama T, Tsukimura T, Togawa T, Sakuraba H: Development of enzyme replacement therapy with a modified enzyme and an activator for Fabry disease. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- Shibasaki F, Nakano S, Togawa T, Tsukimura T, Kawashima I, Sakuraba H.: Development of a highly sensitive immuno-PCR measurement of  $\alpha$ -galactosidase A protein levels in serum and plasma. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- Nakano S, Togawa T, Tsukimura T, Kawashima I, Sakuraba H, Futoshi S.: Rapid Immunochromatographic measurement of anti- $\alpha$ -galactosidase A antibodies in Fabry patients Treated with enzyme replacement therapy. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- Togawa T, Tsukimura T, Katayama M, Mitobe S, Sakuraba H.: Fabry patients exhibiting no elevation in plasma globotriaosylsphingosine level. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- Tsukimura T, Takada M, Aizawa Y, Suzuki T, Katayama M, Sakuraba H, Togawa T.: Comparative study on the content of mannose 6-phosphate residues of recombinant lysosomal enzymes. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- Itoh K, Tsuji D, Namba K, Yamaguchi S, Imataki I, Ishimaru N, Sakuraba H.: Establishment of human neural cell culture systems induced from ips cells derived from Tay-Sachs disease patient for drug discovery. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- Kitakaze K, Kawano K, Tsuji D, Asanuma D, Kamiya M, Urano Y, Sakuraba H, Itoh K.: Imaging of enzyme replacement with a novel fluorescent probe and purified lysosomal  $\beta$ -hexosaminidase carrying M6P-type glycans. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013

- Sakuraba H: Lyso-glycosphingolipids as biomarkers of sphingolipidoses. The 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders & The 17th Japanese Society for Lysosomal Disorders, 2012/10, Tokyo, Japan
- Sakuraba H: Unraveling Fabry disease, improving care. The 2nd European Fabry Expert Lounge 2012, 2012/10, Munich, Germany
- Sakuraba H: Construction of a database and development of new enzyme replacement therapy for Fabry disease. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan
- Shibasaki F, Nakano S, Sakuraba H: Diagnostic values of modified immuno-PCR method (MUSTag) to detect  $\alpha$ -galactosidase A proteins in Fabry disease. The 4<sup>th</sup> International Forum for Lysosomal Storage Disorders & The 17<sup>th</sup> Japanese Society for Lysosomal Disorders, 2012/10, Tokyo, Japan
- Tsukimura T, Mitobe S, Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H: Construction of a high-throughput screening system for male patients with Fabry disease. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan
- Mitobe S, Togawa T, Tsukimura T, Kodama T, Tanaka T, Otsuka T, Suzuki T, Sakuraba H: Mutant  $\alpha$ -galactosidase A with M296I does not cause elevation of the plasma globotriaosylsphingosine level. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan
- Aizawa Y, Takada M, Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H: An improved method for determination of mannose 6-phosphate residues in acid  $\alpha$ -glucosidase by means of HPLC. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan
- Ishibashi Y, Nakajima Y, Takatsuji Y, Suzuki T, Sakuraba H: SPR analysis on molecular interaction between GLA/modified NAGA and antibodies against them. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan
- Fukano K, Ono Y, Kamikura A, Suzuki T, Sakuraba H: Ultrasensitive assay method for measurement of  $\alpha$ -galactosidase A protein in blood from Fabry patients. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan
- Yamamoto S, Sekiguchi M, Terauchi K, Suzuki T, Sakuraba H: Identification of miRNA associated with gefitinib resistance in lung cancer cell lines. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan.
- Ohyama M, Arai T, Ito K, Suzuki T, Sakuraba H. Arsenic trioxide can overcome cisplatin resistance in lung cancer cell lines. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan
- Takasawa K, Yamashita S, Mitobe S, Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H: New method for determination of globotriaosylceramide in plasma and urine from Fabry patients. The 3rd Medicinal Chemistry Seminar (2012) of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2012/12, Tokyo, Japan
- Sakuraba H: Development of diagnosis and therapy for lysosomal diseases. The 1st Medicinal Chemistry Seminar 2010 of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2011/1, Quezon City, Philippines
- Sakuraba H: High-risk screening, database and biomarkers of Fabry disease. The 13th Annual Asia LSD

Symposium, 2011/4, Hong Kong, China

- Sakuraba H: New treatment of Fabry disease. Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) Satellite Symposium 2011 Tokyo Meeting on Lysosomal Storage Disease Screening, 2011/8, Tokyo, Japan
  - Sakuraba H: Development of new enzyme replacement therapy for Fabry disease based on molecular designing. The 31st Naito Conference, Glycan Expression and Regulation [II]: Metabolites, Stress Response, Microdomains, and Beyond, 2011/9, Sapporo, Japan
  - Sakuraba H: Cardiac diagnosis and care. The 12th European Round Table on Fabry Disease, Fabry Expert Lounge 2011, 2011/10, Budapest, Hungary
  - Sakuraba H: Development of diagnosis and therapy for lysosomal diseases. The 1st Medicinal Chemistry Seminar 2010 of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2011/1, Quezon City, Philippines
  - Togawa T, Kodama T, Suzuki T, Sakuraba H: Globotriaosylsphingosine as a new biomarker of Fabry disease. The 1st Medicinal Chemistry Seminar 2010 of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2011/1, Quezon City, Philippines
  - Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H: MicroRNA expression profiling in drug resistant lung cancer cell lines. The 1st Medicinal Chemistry Seminar 2010 of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2011/1, Quezon City, Philippines
  - Tsukimura T, Togawa T, Sakuraba H: High-risk screening for Fabry disease in Japan. The 1st Medicinal Chemistry Seminar 2010 of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2011/1, Quezon City, Philippines
  - Togawa T, Kodama T, Tsukimura T, Suzuki T, Sakuraba H: Globotriaosylsphingosine as a biomarker of Fabry disease. The 10th International Symposium on Lysosomal Storage Diseases, 2011/4, Madrid, Spain
  - Tsukimura T, Kawashima I, Togawa T, Suzuki T, Chiba Y, Sakuraba H: Recombinant  $\alpha$ -galactosidase A produced in a mutant yeast is well incorporated into the kidneys of Fabry mice. The 13th Annual Asia LSD Symposium, 2011/4, Hong Kong, China
  - Tsukimura T, Tanaka T, Suzuki T, Togawa T, Sakuraba H: High-risk screening for male patients with Fabry disease in Japan. The Second Medicinal Chemistry Seminar of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2011/10, New Delhi, India
  - Togawa T, Kodama T, Tsukimura T, Suzuki T, Sakuraba H: Evaluation of globotriaosylsphingosine as a new biomarker of Fabry disease. The Second Medicinal Chemistry Seminar of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2011/10, New Delhi, India
  - Kodama T, Togawa T, Tsukimura T, Kawashima I, Ishida Y, Suzuki T, Sakuraba H: Lyso-GM2 ganglioside: A new biomarker of Tay-Sachs disease and Sandhoff disease. The Second Medicinal Chemistry Seminar of JSPS Asia-Africa Science Platform Program, 2011/10, New Delhi, India
  - Sakuraba H: Biomarkers. The 11th European Round Table on Fabry Disease, 2010/10, Istanbul, Turkey
- 芳野 信、渡邊順子
- Yano S, Miyake N, Watanabe Y, Bartley J, Abdenur JE, Wang RY, Chang R, Goto Y, Shiina M, Ogata K, Matsumoto N: Mitochondrial ubiquinol-cytochrome c reductase core protein II defects may affect multiple

metabolic pathways. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism 2013.9.3-9.6 (Barcelona)

- Yoshino M, Harada N, Watanabe Y, Soejima M, Koda Y, Okano Y, Nakamura H, Yorifuji T: Intragenic deletion in ornithine transcarbamylase gene associated with nonhomologous recombination between an AluSx and MER68 repetitive sequences. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism 2013.9.3-9.6 (Barcelona)
- Watanabe Y, Seki Y, Yanagi T, Mizuochi T, Iwamoto J, Yoshino M, Inokuchi T, Yano S, Watanabe S, Yoshiura K, Matsuishi T: An infantile case of hepatomegaly, lactic acidosis, hypoglycemia, ketosis, and hyperlipidemia of unknown etiology. Annual Symposium of the American Society of Human Genetics 2013.10.22-26 (Boston)
- Yoshino M, Harada N, Watanabe Y, Koda Y, Okano Y, Nakamura H, Yorifuji T. : Application of SNP-based haplotype analysis to prenatal monitoring in a pregnancy at risk for ornithine transcarbamylase deficiency. The 55th Annual Meeting of Jte Japanese Society for Inherited Metabolic Disease (JSIMD), The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) 2013.11.27-29 (Urayasu, Chiba)
- Harada N, Yoshida M, Watanabe Y, Soejima M, Koda Y, Okano Y, Nakamura H, Yorifuji T. : Intragenic deletion in OTC gene associated with nonhomologous recombination between an AluSx and MER68 repetitive sequences. The 55th Annual Meeting of Jte Japanese Society for Inherited Metabolic Disease (JSIMD), The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) 2013.11.27-29 (Urayasu, Chiba)
- Watanabe Y, Seki Y, Yanagi T, Mizuochi T, Takeuchi T, Iwamoto J, Yoshino M, Watanabe S, Inokuchi T, Yano S, Yoshiura K, Matsuishi T. : An infantile case of hepatomegaly, lactic acidosis, hypoglycemia, ketosis, and hyperlipidemia of unknown etiology. The 55th Annual Meeting of Jte Japanese Society for Inherited Metabolic Disease (JSIMD), The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) 2013.11.27-29 (Urayasu, Chiba)
- Okano Y, Kobayashi K, Ihara K, Ito T, Yoshino M, Watanabe Y, Kaji S, Ohura T, Nagao M, Noguchi A, Mushiaki S, Hohashi N, Hashimoto-Tamaoki T. :Fatigue and quality of life in citrin deficiency during adaptation and compensation stage. The 55th Annual Meeting of Jte Japanese Society for Inherited Metabolic Disease (JSIMD), The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) 2013.11.27-29 (Urayasu, Chiba)
- Yoriko Watanabe, Mina Furukawa, Kyoko Tashiro, Kumiko Aoki, Takahiro Inokuchi, Yoshitaka Seki, Tadahiro Yanagi, Tatsuki Mizuochi, Makoto Yoshino, Toyojiro Matsuishi.: Two cases of NICCD diagnosed by urine organic acids based newborn screening. 第54回日本先天代謝異常学会2012.11.15-17 (岐阜)
- Mitobe S, Togawa T, Tsukimura T, Doi K, Noiri E, Akai Y, Saitou Y, Yoshino M, Takenaka T, Sakuraba H. Mutant alpha-galactosidase A with M296I does not cause elevation of the plasma lyso-Gb3 level. The 54th Annual Meeting of Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. November 11-17, 2012, Gifu
- Fujisawa D, Mitsubuchi H, Matsumoto S, Kido J, Nakamura K, Endo F, Ohba T, Harada N, Yoshino M. Treatment plans and genetic counseling for late-onset ornithine transcarbamylase deficiency. The 54th Annual Meeting of Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. November 11-17, 2012, Gifu
- Watanabe Y, Tashiro K, Aoki K, Seki Y, Yanagi T, Okada J, Mizuochi T, Inokuchi T, Yoshino M,

Matsuishi T.: Two cases of neonatal onset type II citrullinemia diagnosed by urine organic acids based newborn screening. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism 2012.8.30-9.2 (Birmingham)

- Watanabe Y, Tashiro K, Aoki K, Inokuchi T, Seki Y, Yanagi T, Mizuochi T, Yoshino M, Matsuishi T.: Two cases of neonatal onset type II citrullinemia diagnosed by urine organic acids based newborn screening. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism 2012.11.6-10 (San Francisco)
- Yoshino M, Watanabe Y, Yabe H, Kato S, Otomo T, Sakai N, Gasa S, Hayasaka-Sukegawa K: Long-term survival and restoration of GLCNAC-1-phosphotransferase activity in peripheral lymphocytes of a patient with I-cell disease who received allogeneic bone marrow transplantation. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism 2011.8.30-9.2 (Geneva)
- Sanayama Y, Nagasaka H, Takayanagi M, Ohura T, Sakamoto O, Ito T, Ishige-Wada M, Usui H, Yoshino M, Ohtaka A, Yorifuji T, Tsukahara H, Hirayama S, Miida T, Fukui M, Okano Y: Experimental evidence that phenylalanine is strongly associated to oxidative stress in adolescents and adults with phenylketonuria. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism 2011.8.30-9.2 (Geneva)
- Watanabe Y, Okada J, Kimura K, Okamatsu Y, Oya T, Yoshino M, Yagi H, Sato M: Ehlers-Danlos syndrome and bilateral periventricular heterotopia due to the novel mutation of p.Gly132Val in the CHD1 in FLNA: An infantile case presented with congenital tracheobronchopulmonary disease. 61st Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, International Congress of Human Genetics 2011.10.11-15(Montreal)
- Watanabe Y, Ohya T, Ohira T, Okada J, Fukui T, Watanabe T, Inokuchi T, Yoshino M, Matsuishi T: Secondary biotin deficiency observed in two Japanese infants due to chronic use of hypoallergenic infant formula. Annual Symposium of the Society for the Study of inborn Errors of Metabolism 2010.8.31-9.3(Istanbul)

#### 北川照男

- T. Kitagawa, I. Matsuda, K. Aoki, et al. A History of the Development of Newborn Mass-screening (NBS) for Inborn Errors of Metabolism (IEM) in Japan. APHL, ISNS, CDC and GPHL Joint Meeting, Newborn Screening and Genetic Testing Symposium and the International Society for Neonatal Screening Atlanta, GA USA, p40, 2013.
- N. Ishige, K. Fujikawa, T. Kitagawa, et al. Newborn screening for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry on 200,000 babies in Tokyo, Japan. ACIMD/JSIMD Vol.29, 175, 2013
- K. Suzuki, A. Anazawa, T. Kitagawa, et al. A method by measuring tetrahydrobio-pterin in urine using HPLC for differential diagnosis of hyperphenylalaninemia in newborn mass-screening in Tokyo. ACIMD/JSIMD Vol.29, 133, 201
- Kitagawa T: Screening for Fabry disease(FD) in Patients Referred to Metabolic or Nephrologic clinics and Patients Referred to Dialysis Centers. The 2<sup>nd</sup> ACIMD/12<sup>th</sup> AEWIEM/12<sup>th</sup> KCIMD Joint Meeting, ISSN, Vol12 Supple.1 ,Symposium II, P42, 2012.
- Sawada T, Tanaka A, T Kitagawa, et al : Pseudodeficiency Alleles of Iduronate 2-Sulfatase Gene and the

Structural Modeling of the Enzyme Protein. The 2<sup>nd</sup> ACIMD/12<sup>th</sup> AEWIEM/12<sup>th</sup> KCIMD Joint Meeting, Vol.12 Suppl.1, P79, 2012.

- Suzuki K, Fujikawa K, Kitagawa T, et al : Study on Newborn Screening for Glycogen Storage Disease Type II, Mucopolysaccharidosis Type I and II by Using Dried Blood Spots. The 2<sup>nd</sup> ACIMD/12<sup>th</sup> AEWIEM/12<sup>th</sup> KCIMD Joint Meeting, ISSN, Vol.12 Suppl.1, P139, 2012.
- Kitagawa T : Early History of the Japanese Society for Inherited Metabolic Disease. 1<sup>st</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Disease, Vol. 26: Suppl., P73, 2010.

#### 奥山虎之

- Kosuga M, Fuji N, Kida K, Okuyama T. Newborn screening for infantile Pompe disease:Report of a pilot study in National Center for Child Health and Development, The American Society Of Human Genetics 62<sup>nd</sup> Annual Meeting,Nov.8 2012,San Francisco,USA.
- Kosuga M, Fuji N, Kida K, Okuyama T. Newborn Screening for infantile-onset Pompe disease in National Center for Child Health and Development. 4<sup>th</sup> International Forum for Lysosomal Storage Disorders, 17<sup>th</sup> Japanese Society of Lysosomal Storage Disorders Joint Meeting, October.4-6, 2012.Tokyo,Japan.
- Motomichi Kosuga, Okuyama T, Kosuga M, Kakee N, Hirakiyama A, Fuji N, Kida K., Kazuhiro Kida, Torayuki Okuyama. The Feasibility of Newborn Screening for Pompe Disease in Japanese Population. The 7<sup>th</sup> Congress of Asian Society for Pediatric Research Hosted with the pediatric Academic Societies' Annual meeting. Denver, USA. April 30, 2011.

#### 坪井一哉

- Yamamoto H, Tsuboi K, Togawa T. Componential analysis of the cerumen in patients with Fabry disease. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Disease and The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Disease; Chiba, Japan; 2013 Nov 27-29
- Yamamoto H, Goto H, Tsuboi K. Histopathological findings of the nasal mucosa in 2 cosanguineous patients with Fabry disease. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, Spain; 2013 September 3rd - 6th.
- Tsuboi K, Yamamoto H, Goto H. Clinical course and safety in 13 Fabry Disease patients who switched from agalsidase-beta to agalsidase-aifa. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, Spain; 2013 September 3rd - 6<sup>th</sup>
- Tsuboi K, Yamamoto H, Goto H. Switch from agalsidase beta to agalsidase alfa in 13 Fabry disease (FD) patients: Clinical course and safety. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Disease and The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Disease; Chiba, Japan; 2013 Nov 27-29
- Tsuboi K. Wish with a silver wing. 15th Asia LSD Symposium Chiba, Japan; 2013 November 26th
- Goto H, Tsuboi K, Yamamoto H. Abnormal heart rate variability and left ventricular hypertrophy in patients with Fabry disease. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism; 2013 September 3rd - 6th
- Goto H, Tsuboi K, Yamamoto H. Cardiac manifestations and enzyme replacement therapy of Fabry disease. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism Barcelona, Spain; 2013 September 3rd - 6<sup>th</sup>



- Tsuboi, K. and H. Yamamoto (2012). 3-year follow up data on Japanese Fabry disease patients switching from agalsidase beta to agalsidase alfa. 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders, 17th Japanese Society of Lysosomal Storage Disorders Joint Meeting, Tokyo, Japan.

松田純子

- Matsuda J, Ono K, Muto M, Yoneshige A, Yoshimura S.: Overexpression of prosaposin causes severe retinal degeneration in mouse. 第55回日本先天代謝異常学会2013年11月27-29日 舞浜 .
- Yoneshige A., Hojo H., Mutou M., Matsuda J. The activity of chemically synthesized saposin C on glucosylceramide- $\beta$ -glucosidase 第4回国際ライソゾーム病フォーラム 第17回日本ライソゾーム病研究会2012年10月4-6日 東京 .
- Matsuda J, Watanabe T, Yoneshige A, Koike A, Mutou M, Suzuki A. Role of hydroxylation at sphinganine C-4 of glycosphingolipids in the mouse. The 26<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2012), P583, July, 22-17, 2012, Madrid, Spain.
- Mutou M, Yoneshige A, Watanabe T, Matsuda J. Role of prosaposin in the embryogenesis of mouse. The 26<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2012), P238, July, 22-17, 2012, Madrid, Spain.
- Yoneshige A, Mutou M, Watanabe T, Tano C, Hojo H, Matsuda J. The effects of chemically synthesized saposin C on glucosylceramide- $\beta$ -glucosidase. The 26<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2012), P611, July, 22-17, 2012, Madrid, Spain.
- Yoneshige A, Muto M, Matsuda J. Prosaposin during the embryogenesis of mouse. The 31<sup>st</sup> Naito conference: Glycan Expression and Regulation [II]: Metabolites, Stress Response, Microdomains, and Beyond. September, 2011.
- Matsuda J, Watanabe T Yoneshige A, Hama H. Sphingolipid compositions in the gastrointestinal tract of fatty acid 2-hydroxylase (*Fa2h*)-deficient mouse. The 31<sup>st</sup> Naito conference: Glycan Expression and Regulation [II]: Metabolites, Stress Response, Microdomains, and Beyond. September, 2011.
- Yoneshige A, Matsuda J: Deficiency of saposin C in the mouse model of Krabbe disease showed neurodegeneration with accumulation of lactosylceramide. The 25<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2010), August, 2010, Makuhari, Japan.
- Watanabe T, Yoneshige A, Suzuki A, Matsuda J: The differential ceramide structures of glycosphingolipids and their regulations in the mouse gastrointestinal tract The 25<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2010), August, 2010, Makuhari, Japan.
- Mutou M, Yoneshige A, Matsuda J: Lack of prosaposin in mice causes embryonic lethal phenotype and placental dysgenesis. The 25<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2010), August, 2010, Makuhari, Japan.
- Matsuda J, Yoneshige A: The role of sphingolipid activator protein, saposins A-D in the nervous system: lessons learnt from mouse models of specific saposin deficiencies. Naito conference: Glycan Expression and Regulation [I]: Functions and Disease mechanisms. August, 2010, Kanagawa, Japan.
- Yoneshige A, Watanabe T, Suzuki A, Matsuda J: The differential ceramide structures of glycosphingolipids and their regulations in the mouse gastrointestinal tract. Naito conference: Glycan Expression and Regulation [I]: Functions and Disease mechanisms. August, 2010

#### 下澤伸行

- Shimozawa N: Peroxisomal disorder 12th Asian and Oceanian Congress on Child Neurology. Riyadh. September 2013.
- Shimozawa N: Diagnosis and treatment of Peroxisomal diseases 3rd ACIMD & 55<sup>th</sup> JSIMD. Maihama. November 2013.
- Shimozawa N: Clinical findings and diagnostic flowchart of peroxisomal disease Plenary Lecture. International Symposium on Epilepsy in Neurometabolic Diseases. Taipei. March 2010.

#### 今中常雄

- Morita M, Kostsin DG, Yamazaki K, Arimura K, Shimozawa N, Imanaka T: Screening of chemical compounds that stabilize ABCD1 protein with missense mutation. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. Tokyo, Nov. 2013
- Yokoyama K, Hama K, Nagai T, Nishizawa C, Ikeda K, Morita M, Nakanishi, H, Imanaka, T, Shimozawa N, Taguchi R, and Inoue K, Inoue K. Molecular species of phospholipids with very long chain fatty acids in skin fibroblasts of Zellweger syndrome. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. Tokyo, Nov. 2013.
- Kostsin D. G., Lee A., Yamazaki K., Kawaguchi K., Morita M., and Imanaka T. Establishment of screening system to discover candidates of chemical chaperone that stabilize mutant ABCD1 responsible for adrenoleukodystrophy. The 4th EMBO Meeting. 2012, 9, 22-25, Nice, France.

#### 小林博司

- Kobayashi H., Izuka S., Ariga M, et al. Gene therapy for mouse model of Krabbe disease. 16th annual meeting of American Society of Gene and Cell Therapy (ASGCT) 2013. May Saltlakecity, UT.
- Gene Therapy for KrabbeDisease. Hiroshi Kobayashi, Yota Shimada, Takeo Iwamoto, Tkakahiro Fukuda, Masamichi Ariga, Yohei Sato, Taichi Wakabayashi, Sayoko Izuka, Yoshikatsu Eto, Hiroyuki Ida, Toya Ohashi. (P-101) The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Disease (ACIMD) and The 55th Annual Meeting for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD) joint meeting 2013. Nov., Chiba, Japan.
- Kobayashi H., Izuka S., Ariga M, et al. Lentivirus mediated neonatal gene therapy for Krabbe disease. 14<sup>th</sup> annual meeting of American Society of Gene and Cell Therapy (ASGCT) 2011. May Seattle, WA.
- Lentiviral Vector Mediated Neonatal Gene Therapy of KrabbeDisease Model Mice. Kobayashi H, Shimada Y, Izuka S, Higuchi T, Ariga M, Iwamoto T, Fukuda T, Ida H, Eto Y, Ohashi T. (O-18) The 2<sup>nd</sup> Asian Congress for Inherited Metabolic Disease 2012. April, Soul.

#### 加我牧子

- Kaga M : Verbal sound discrimination in Landau-Kleffner syndrome : a neurophysiological study. 12th International Child Neurology Congress and the 11th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Brisbane, Australia, May 30, 2012

#### 大澤真木子、石垣景子

- Ishigaki K Osawa M, Country presentation on LOPD experience, JAPAN “1<sup>st</sup> Asian-Pacific Pompe Experts Meeting” 2012/06/24 Taipei, Taiwan
- Ishigaki K, Murakami T, Saito T, Sato T, Kajino S, Osawa M Skeletal muscle images in childhood-onset Pompe disease patients receiving enzyme replacement therapy (ERT) “9th Japanese-French Symposium for

"muscular dystrophy" 2012/09/07 Tokyo

- Ishigaki K, Saito T, Kuwatsuru R, Murakami T, Sato T, Onai S, Nonaka I, Osawa M Longitudinal study of skeletal muscle images in childhood-onset Pompe disease patients receiving enzyme replacement therapy(ERT) ”16th International Congress of the World Muscle Society”2011/10/18 Algarve, Portugal
- Oda E, tanaka T, Migita O, Kosuga M, Osawa M, Okuyama T, Newborn screening for Pompe disease in Japan, SSIEM(society for the study of inborn errors of metabolism) 2010.8.31-9.3 in Istanbul (Turkey)

高村歩美

- Takamura A, Fujisaki M, Ida H, Ohashi T, Eto Y. Abnormal Intracellular Membrane Traffic in Juvenile Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, Novel CLN1 Mutated Cases. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, Nov. 2013
- Fujisaki M, Takamura A, Diraku T, Ohashi T, Ida H, Eto Y. Enzymatic screening using dried blood spots and gene analysis of Mucopolysaccharidosis IVA (MPS IVA) in Japanese. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD) / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, Nov. 2013
- Takamura A, Sakai N, Shinpo M, Yamamoto M, Narita A, Ohno K, Ohashi T, Ida H, Eto Y. The useful preliminary diagnosis of Niemann-Pick disease type C by filipin test in blood smear. The 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism (ICIEM). Spain, Sep. 2013
- Fujisaki M, Takamura A, Diraku T, Ohashi T, Ida H, Eto Y. Enzymatic screening in dried blood spots and gene analysis of mucopolysaccharidosis IVA (MPS IVA) in Japanese. The 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism (ICIEM). Spain, Sep. 2013

井田博幸

- Ida H: Clinical characteristics of Gaucher disease in Japan, Investigator Meeting for HGT-GCB-087, Tokyo. 2012.1
- Ida H: Lysosomal Storage Diseases(LSDs) in Japan –Past, present and future-, International Conference of Rare Diseases, Tokyo. 2012.2
- Ida H: Pompe disease –Current status and future directions-, International Myogenic Disorders, Kyoto, 2012.6
- Ida H: Gaucher disease in Japan, Gaucher Advisory Meeting, Tokyo. 2012.10
- Ida H: Eliglustat treatment for Gaucher disease, International Forum for Lysosomal Storage Disorders, Tokyo. 2012.10
- Ida H: Genetic and clinical heterogeneity of neuropathic Gaucher disease, The 14<sup>th</sup> Asia LSD Meeting, Beijing. 2012.10
- Ida H: Clinical heterogeneity of LSD, Pediatric Endocrine & Inherited Metabolic Academic Conference. Yantai. China. 2011.10
- Ida H: Neurological Aspects of Lysosomal Storage Diseases, ISEND. Taipei. 2010.3
- Ida H: Gaucher Disease in Japan, GENZ kick off meeting. Tokyo. 2010.7

大橋十也

- Ohashi T: Introduction to Fabry Disease ten · Epidemiology, Pathophysiology, Genetics. · Clinical Spectrum of

- Disease. Case Samples. 5<sup>th</sup> Annual Physician Training Pompe-Fabry. Taipei, Taiwan, June 22-24, 2012.
- Ohashi T: Immunological aspect of enzyme replacement therapy for lysosomal storage diseases, 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders & 17<sup>th</sup> Japan Society of lysosomal storage Disorders. Tokyo. 2012. Oct. 4-6.
  - Ohashi T, Iizuka S, Shimada Y, Eto Y, Ida H, Kobayashi H: Anti-CD3 antibody reduces antibody formation and prevents lethal hypersensitivity reaction in enzyme replacement therapy for murine lysosomal storage diseases. 11th International Symposium on Lysosomal Storage Diseases, Madrid, April 1-2, 2011
  - Kobayashi H, Ariga M, Shimada Y, Iizuka A, Yokoi T, Fukuda T, Iwamoto T, Eto Y, Ida H, Ohashi T. Lentiviral Mediated Neonatal Gene Therapy for Krabbe Disease Model Mouse. American Society of Gene & Cell Therapy 14th Annual Meeting. Seattle, May 18-21, 2011
  - Yokoi T, Kobayashi H, Shimada Y, Eto Y, Ishige N, Kitagawa T, Otsu M, Nakauchi H, Ida H, Ohashi T. Chimerism of bone marrow reduces the glycolipid storage in Fabry disease mice. American Society of Gene & Cell Therapy 14th Annual Meeting. Seattle, May 18-21, 2011
  - Ohashi T, Iizuka S, Shimada Y, Ida H, Eto Y, Kobayashi H. Anti-CD3 antibody reduces antibody formation and prevents lethal hypersensitivity reaction in enzyme replacement therapy for Pompe disease in mouse. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. Geneva, Switzerland, 30 August-2 September 2011
  - Nishiyama Y, Shimada Y, Yokoi T, Kobayashi H, Eto Y, Ida H, Ohashi T. Involvement of akt signaling pathway in autophagy induction in fibroblasts from infantile-onset Pompe disease patient. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. Geneva, Switzerland, 30 August-2 September 2011
  - Shimada Y, Fukuda T, Nishiyama Y, Kobayashi H, Eto Y, Ida H, Ohashi T. Characterization of ubiquitin-protein conjugates as a blood biomarker for detection of autophagic buildup in Pompe disease mouse. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. Geneva, Switzerland, 30 August-2 September 2011
  - Ariga M, Kobayashi H, Shimada Y, Iizuka S, Kaneshiro E, Shimizu H, Eto Y, Ida H, Ohashi T. Evaluation of autophagy using expression of LC3 protein in neonatal gene therapy of MPS mice by lentiviral vector. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. Geneva, Switzerland, 30 August-2 September 2011
  - Toya Ohashi: Limitation of ERT and BMT for Lysosomal Storage Disease. 2011 Korean Lysosomal Storage Disease, Seoul, 2011-July-8
  - Ohashi T, Iizuka S, Shimada Y, Ida H, Kobayashi H: Anti-CD3 antibody reduces antibody formation and prevents lethal hypersensitivity reaction in enzyme replacement therapy for murine lysosomal storage diseases. 11<sup>th</sup> European round table on FABRY DISEASE. Istanbul, Turkey, Oct. 15-16, 2010.

## 国内学会

衛藤義勝、井田博幸、大橋十也、小林博司

- 衛藤義勝：ファブリ病の最近の進歩、ファブリ病患者会、大阪 2013, 2, 18
- 衛藤義勝、Niemann-Pick C 病の診断、治療に関して、NPC病シンポジウム、東京、2013.4.27

- 衛藤義勝：ライソゾーム酸性リパーゼ欠損症 日本小児科学会講演, 広島 2013. 4.18
- 小林博司、飯塚佐代子ほか レンチウイルスベクターを用いたクラッペ病に対する遺伝子治療 第19回日本遺伝子治療学会 岡山、2013年7月
- 衛藤義勝：ニーマンピックC病の診断と治療に関して、第55回日本小児神経学会 大分 2013.5.31
- 衛藤義勝 ファブリ病最新の進歩、ファブリ病研究会、札幌、2013.10.5
- 衛藤義勝；先天性ムコ多糖症の進歩、 久留米小児科医会、2013.1011
- 衛藤義勝：ゴーシェ病最近の進歩、中国小児内分泌代謝学会アモイ市、福建省 2013.10.23-24
- 衛藤義勝：Lysosomal acid lipase deficiency, アジア小児肝臓消化器学会一ツ橋会館, 東京, 2013.11.1
- 衛藤義勝：ファブリ病Update, 東北ファブリ病患者会 仙台, 2013.11.3
- 衛藤義勝：遺伝病治療最近の進歩-特に中枢神経系の治療を目指して、久留米大学小児科芳野教授 退任記念講演、2012.3.24, 福岡
- Yoshikatsu Eto, Toya Ohashi : The fabry Outcome Survey (FOS) : Overview of the current status and future developments , 第54回日本先天代謝異常学会 , 2012.11.15 , 岐阜
- 衛藤 義勝、大樂 武範、若林 太一、井田 博幸、萩野谷和裕、山本 真也、成田 綾、大野 耕策：若手型ニーマンピックC病 (NPC1) 3例に対するMiglustatの治療効果, 第54回日本先天代謝異常学会, 2012.11.16, 岐阜
- 樋口 孝、河越 しほ、大津 真、加藤 総夫、南沢 享、松本 朱里、井田 博幸、大橋 十也、中内 啓光、衛藤 義勝：ゴーシェ病及びポンペ病患者皮膚細胞由来iPS 様細胞の樹立, 2012.11.16, 岐阜
- 河越 しほ、樋口 孝、大高真奈美、嶋田 洋太、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、岡野 ジェイムス洋尚、中西 真人、衛藤 義勝：センダイウイルスを用いたヒトファブリ - 病由来iPS 様細胞の樹立, 2012.11.16, 岐阜
- 藤崎 美和、松本 朱里、高村 歩美、樋口 孝、古城真秀子、河越 しほ、小林 博司、嶋田 洋太、大橋 十也、大樂 武範、衛藤 義勝：乾燥濾紙血を用いたマルトー・ラミー症候群 (MPSVI) の診断法の検討, 2012.11.16, 岐阜
- 大樂 武範、ハミルトン ジョン、マーチン ダナ、衛藤 義勝：濾紙血を用いたリソゾーム酸性リパーゼ欠損症 (LAL) の診断法の検討, 2012.11.16, 岐阜
- 井田博幸：基礎医学が臨床医学にもたらしたもの, 葛飾区医師会小児科集談会500回記念講演, 東京 . 2012.2
- 井田博幸：治療可能な遺伝性疾患 (リソゾーム病) の診断 - 臨床上注意すべき症状 - , 世田谷区医師会講演, 東京 . 2012.2
- 井田博幸：リソゾーム病の臨床と研究の進歩, 神戸大学小児科カンファレンス, 神戸 . 2012.6
- 井田博幸：実地臨床からみたリソゾーム病の診断, 宮崎大学小児科講演会, 宮崎 . 2012.6
- 井田博幸：リソゾーム病の治療 - 現状と将来展望 - , 神奈川酵素補充療法研究会, 横浜 . 2012.7
- 井田博幸：ライソゾーム病の酵素補充療法の実際, 日本先天代謝異常学会セミナー, 横浜 . 2012.7
- 井田博幸：小児科Subspecialty専門医の今後の動向, 小児科専門医制度全体検討会議, 東京 . 201

## 2.10

- 井田博幸：人材（専門医）育成 - 日本小児科学会と専門医機構の基本的考え方 - ，第54回日本先天代謝異常学会，岐阜．2012.11
- 井田博幸：先天代謝異常症に対するスクリーニングの最近の進歩，調布市医師会講演会，調布．2012.11
- 小林正久、大橋十也、衛藤義勝、井田博幸：日本人Fabry病家系の遺伝子変異についての研究 - 特にde novo変異の発症率について．第57回日本人類遺伝学会．東京．2012.10.24-27
- 小林正久、大橋十也、衛藤義勝、井田博幸：日本人Fabry病家系のde novo変異の発症率および臨床病型と遺伝子変異の相関についての研究．第54回日本先天代謝異常学会．岐阜．2012.11.15-17
- 佐藤洋平、小林博司、大橋十也、井田博幸：Mucopolipidosis 型剖検例におけるオートファジー機能不全との関連性．第54回日本先天代謝異常学会．岐阜．2012.11.15-17
- 小林正久、大橋十也、衛藤義勝、井田博幸：Fabry病の遺伝子解析 - そのピットフォール．第26回日本小児脂質研究会．川越．2012.11.30-12.1
- 櫻井 謙、池本 智、齋藤亮太、安藤達也、富田和江、齋藤義弘、井田博幸：多形紅斑に心筋症を併発し、極長鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症が疑われている5歳例，第115回日本小児科学会学術集会．福岡．2012.4.20-22
- 大橋十也：ファブリー病の診断方法．第6回ファブリー病シンポジウム．東京．2012.3.3．
- 大橋十也：ライソゾーム病の細胞・遺伝子治療法の開発．(シンポジウム) 第22回日本産婦人科・新生児血液学会．津．2012.6.29
- 大橋十也：ライソゾーム病の早期診断と治療．第9回九州先天代謝異常研究会．博多．2012.7.21.
- 大橋十也：ファブリー病診断治療ハンドブック 2012の紹介.第8回日本ファブリー病フォーラム．東京．2012.7.22.
- 大橋十也：ライソゾーム病の新たな治療法．第8回日本先天代謝異常学会セミナー．東京．2012.7.29.
- 大橋十也：ファブリー病の診断と治療．東京ファブリー病セミナー．東京．2012.9.25
- 大橋十也：ファブリー病の診断と治療．(ランチョンセミナー) 第76回日本皮膚科学会東部支部学術集会．札幌．2012.9.29．
- 大橋十也：ファブリー病の診断と治療(案) ~早期治療にrつなげるために~．希少疾患学術講演会．横浜．2012.11.12．
- 大橋十也：ファブリー病の概要．(教育セミナー) 第54回日本先天代謝異常学会総会，第11回アジア先天代謝異常症シンポジウム．岐阜．2012.11.17．
- 大橋十也：「ファブリー病の診断と治療」 早期治療にrつなげるために.学術講演会．千葉．2012.12.5．
- 横井貴之、横井健太郎、秋山和政、樋口 孝、嶋田洋太、小林博司、佐藤 卓、大津 真、中内啓光、西川伸一、衛藤義勝、井田博幸、大橋十也：ACK2(抗c-kit抗体)を用いたハンター病に対する細胞治療 / 遺伝子治療における前処置の開発．第57回日本人類遺伝学会．東京．2012.10.24-27
- 横井貴之、樋口 孝、嶋田洋太、小林博司、大津 真、中内啓光、西川伸一、衛藤義勝、井田博

幸、大橋十也：ACK(抗c-kit抗体)を用いたハンター病に対する細胞治療 / 遺伝子治療における前処置の開発．第54回日本先天代謝異常学会．岐阜．2012.11.15-17

- 西山由梨佳、嶋田洋太、小林博司、衛藤義勝、井田博幸、大橋十也：インスリンを用いたポンペ病細胞における酵素補充療法抵抗性改善の試み．第54回日本先天代謝異常学会．岐阜．2012.11.15-17
- 秋山和政、飯塚佐代子、嶋田洋太、樋口 孝、福田隆浩、小林博司、井田博幸、衛藤義勝、大橋十也：ムコ多糖症 型(MPS )マウスにおける酵素補充療法と骨髄移植療法の比較検討．第54回日本先天代謝異常学会．岐阜．2012.11.15-17
- 嶋田洋太、西山由梨佳、小林博司、樋口 孝、衛藤義勝、井田博幸、大橋十也：ポンペ病におけるプロテアソーム阻害剤応答性酸性 グルコシダーゼ変異の探索：第54回日本先天代謝異常学会．岐阜．2012.11.15-17
- Lentivirus Mediated Gene Therapy For Krabbe Disease. Hiroshi Kobayashi, Sayoko Izuka, Takahiro Fukuda, Takeo Iwamoto, Asako Morita, Masamichi Ariga, Yota Shimada, Takayuki Yokoi, Hiroyuki Ida, Yoshikatsu Eto, Toya Ohashi. 第18回 日本遺伝子治療学会 J S G C T 2012年6月、熊本
- レンチウイルスベクターを用いたクラッベ病モデルマウスに対する新生児遺伝子治療 小林博司、有賀賢典、飯塚佐代子、岩本武夫、嶋田洋太、福田隆浩、衛藤義勝、大橋十也．第57回日本人類遺伝学会 2012年10月、東京
- 河越 しほ、樋口 孝、河合 利尚、孟 興麗、嶋田 洋太、清水 寛美、福田 隆浩、張 璽、中畑 龍俊、深田 宗一郎、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、衛藤 義勝：Pompe病モデルマウス由来iPS細胞から分化誘導した骨格筋細胞の形態学的解析，第16回日本ライソゾーム病研究会，2011.9.30，東京
- 樋口 孝、清水 寛美、福田 隆浩、河越 しほ、松本 朱里、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、衛藤 義勝：ハンター病モデルマウスにおける脳室内酵素補充療法の治療研究，第16回日本ライソゾーム病研究会，2011.9.30，東京
- 河越 しほ、樋口 孝、嶋田 洋太、清水 寛美、福田 隆浩、張 璽、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、衛藤 義勝：Pompe病モデルマウス由来iPS細胞を用いた骨格筋細胞への分化と細胞移植療開発に向けての試み，第53回日本先天代謝異常学会 2011.11，千葉
- 樋口 孝、清水 寛美、福田 隆浩、河越 しほ、松本 朱里、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、衛藤 義勝：脳室内酵素補充療法によるハンター病モデルマウスの治療，第53回日本先天代謝異常学会 2011.11，千葉
- 河越 しほ、樋口 孝、河合 利尚、孟 興麗、嶋田 洋太、清水 寛美、平山 怜美、福田隆浩、張 璽、中畑 龍俊、深田宗一郎、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、衛藤 義勝：Pompe病モデルマウス由来iPS細胞の樹立及び骨格筋細胞への分化誘導，第56回日本人類遺伝学会，2011.11.10，千葉 ポスター
- 樋口 孝、清水 寛美、福田 隆浩、河越 しほ、松本 朱里、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、衛藤 義勝：ハンター病の新規治療法の開発～脳室内酵素補充療法によるハンター病モデルマウスの治療効果～，第56回日本人類遺伝学会，2011.11.11，千葉 ポスター
- 井田博幸：リソゾーム病 - 治療法の進歩と今後の課題 - ，神奈川県小児科医会．横浜．2011.3

- 井田博幸：リソソーム病の診断と治療 - ゴーシェ病とポンペ病を中心に - , 日本小児神経学会 . 横浜 . 2011.5
- 井田博幸：基質合成抑制療法 - その基礎と臨床 - , 日本ライソゾーム病研究会 . 東京 . 2011.9
- 井田博幸：リソソーム病の診断と治療 - 実地臨床からのアプローチと最近の進歩 - , 佐賀大学小児科臨床懇話会 . 佐賀 . 2011.10
- 井田博幸：日常診療に役立つリソソーム病の知識 , 秦野・伊勢原医師会学術講演会 . 秦野 . 2011.10
- Hiroyuki Ida : Clinical heterogeneity of LSD , Pediatric Endocrine & Inherited Metabolic Academic Conference . Yantai . China . 2011.10
- 井田博幸：小児神経科医に必要なリソソーム病の知識 , 日本小児神経学会北海道地方会 . 札幌 . 2011.10
- 井田博幸：リソソーム病の診断と治療 - 現状と今後の課題 - , 横須賀・三浦小児科医会学術講演会 . 横須賀 . 2011.11
- 井田博幸：リソソーム病の臨床と研究の進歩 , 日本小児科学会東北地方会 . 仙台 . 2011.11
- 井田博幸：リソソーム病の臨床的異質性 - 遺伝子変異と治療との関連 - , 北陸臨床遺伝研究会 . 金沢 . 2011.11
- 井田博幸：症例から学ぶリソソーム病 - ゴーシェ病 - , 日本先天代謝異常学会 . 幕張 . 2011.11
- 井田博幸：リソソーム病に対する酵素補充療法 - その効果と問題点 - , 日本小児科学会岩手地方会 . 盛岡 . 2011.12
- 西山由梨佳, 嶋田 洋太, 小林 博司, 大橋 十也, 衛藤 義勝, 井田 博幸：ポンペ病細胞で生じるオートファジー活性化へのAktシグナル経路の関与 , 第16回日本ライソゾーム病研究会 , 2011.9.30 , 東京
- 小林 正久, 大橋 十也, 柳澤 智義, 猪又 孝元, 北川 照男, 衛藤 義勝, 井田 博幸, 草野 英二： -Galactosidase AにE 66Q変異を持つ男性透析患者の心臓病理所見についての検討 , 第53回日本先天代謝異常学会 2011.11 , 千葉
- 若林太一, 田嶋朝子, 小林正久, 小林博司, 大橋十也, 井田博幸：日本人におけるGaucher病2型42例の臨床的特徴遺伝子異常 . 第53回日本小児神経学会 . 横浜 . 2011.5.26-28
- 佐藤洋平, 井上隆志, 中村美沙子, 保科宙生, 平田佑子, 日馬由貴, 南波広行, 大坪主税, 高畠典子, 和田靖之, 久保政勝：急激に十二指腸潰瘍穿孔をきたしたロタウイルス胃腸炎の1歳女児例 . 第190回日本小児科学会千葉地方会 . 千葉 . 2011.7
- 佐藤洋平, 斉藤亮太, 齋藤千徳, 飯島正紀, 河内貞貴, 浦島 崇, 藤原優子, 小林博司, 井田博幸, 宇野吉雅, 森田紀代造：酵素補充療法中に大動脈弁置換術を施行したHunter症候群の1例 . 第47回日本小児循環器学会 . 福岡 . 2011.8
- 若林太一, 田嶋朝子, 小林正久, 小林博司, 大橋十也, 井田博幸：日本人におけるGaucher病2型42例の臨床的特徴遺伝子異常 . 第114回日本小児科学会 . 東京 . 2011.8.12-14
- 大橋十也：ファブリー病重症度スコアDS3-MAINZスコアの紹介 . 第7回日本ファブリー病フォーラム . 東京 . 2011.7.10
- 大橋十也：小児科医が臨床で注意すべき疾患 ファブリー病 . 第21回日本外来小児科学会 . 神戸 . 2011.8.28



- 大橋十也：ライソゾーム病酵素補充療法における酵素製剤に対する免疫応答．第16回日本ライソゾーム病研究会．東京．2011.9.29-30
- 大橋十也：新しい治療法の適応とガイドライン ファブリー病．第53回日本先天代謝異常学会．幕張．2011.11.24-26
- 大橋十也：ファブリー病の診断方法．第6回ファブリー病シンポジウム．東京．2012.3.3．
- 嶋田洋太、福田隆裕、西山由梨佳、小林博司、衛藤義勝、井田博幸、大橋十也：ポンペ病骨格筋におけるオートファジー異常検出のための血中バイオマーカーとしてのユビキチン化タンパク質の特徴付け．第16回日本ライソゾーム病研究会．東京．2011.9.29-30
- 大橋十也、飯塚佐代子、嶋田洋太、樋口 孝、井田博幸、衛藤義勝、小林博司：ライソゾーム病酵素補充療法における酵素製剤に対する免疫反応に関する研究．第53回日本先天代謝異常学会．幕張．2011.11.24-26
- 有賀賢典、小林博司、嶋田洋太、飯塚佐代子、金城栄子、衛藤義勝、井田博幸、大橋十也：レンチウイルスベクターによる遺伝子治療を施行した新生児MPS マウスの脳内LC3蛋白発現の検討．第53回日本先天代謝異常学会．幕張．2011.11.24-26
- 西山由梨佳、嶋田洋太、小林博司、衛藤義勝、井田博幸、大橋十也：ポンペ病細胞における小胞体ストレス非依存的オートファジー活性化機構の解析．第53回日本先天代謝異常学会．幕張．2011.11.24-26
- 嶋田洋太、西田ひかる、長尾 陸、西山由梨佳、小林博司、衛藤義勝、井田博幸、大橋十也：プロテアソーム阻害剤を用いたポンペ病に対する新規シャペロン療法の開発．第53回日本先天代謝異常学会．幕張．2011.11.24-26
- 小林博司、有賀賢典、嶋田洋太、飯塚佐代子、福田隆裕、岩本武夫、衛藤義勝、井田博幸、大橋十也：レンチウイルスを用いたクラッペ病の遺伝子治療．第53回日本先天代謝異常学会．幕張．2011.11.24-26
- 樋口 孝、清水 寛美、河越 しほ、福田 隆浩、小林 博司、井田 博幸、大橋 十也、平戸 徹、西野 勝哉、衛藤 義勝：MPSII 型Knockout マウスでの脳室内酵素治療に関する研究 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
- 河越 しほ、孟 興麗、嶋田 洋太、樋口 孝、清水 寛美、福田 隆浩、井田 博幸、小林 博司、大橋 十也、衛藤 義勝：Pompe病モデルマウスからのiPS 細胞の樹立と骨格筋細胞への分化誘導 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
- 小林 正久、大橋 十也、井田 博幸、衛藤 義勝：日本人Fabry 病家系の遺伝子変異についての研究 遺伝子変異と臨床病型について 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
- 清水 寛美、嶋田 洋太、若林 太一、小林 博司、大橋 十也、井田 博幸、川井 充、衛藤 義勝：濾紙血を用いたPompe 病スクリーニング法の有用性と問題点 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
- 井田博幸：ライソゾーム病 - 診断のアプローチと治療の進歩 , 順天堂大学小児科新春特別講演会 . 東京 . 2010.1
- 井田博幸：ファブリー病に対する酵素補充療法の効果 , 慈恵ファブリー病の会 . 東京 . 2010.1
- 井田博幸：ベビーシッターに必要な感染症の知識 , ビジョン保育士教育講演 . 東京 . 2010.3
- 井田博幸：酵素補充療法 - 現状と課題 - , 日本小児科学会 . 盛岡 . 2010.4

- 井田博幸：ファブリー病の酵素補充療法の最近の知見，ファブリー病患者会．東京．2010.5
- 井田博幸：リソソーム病の診断と治療，徳島県小児科医会．徳島．2010.6
- 井田博幸：実地臨床におけるリソソーム病の知識，愛媛大学小児科臨床懇話会．松山．2010.7
- 井田博幸：良医を育成するための慈恵医大の取り組み，横浜市東部小児科医会．横浜．2010.7
- 井田博幸：リソソーム病の診断と治療 - 実地臨床からのアプローチ - ，北海道先天代謝異常症研究会．札幌．2010.8
- 井田博幸：リソソーム病の診断と治療 - 一般小児科医に必要な知識 - ，藤田保健衛生大学小児科臨床懇話会．名古屋．2010.10
- 井田博幸：新生児科医に必要な代謝異常症の知識 - マスクリーニングとライソソーム病 - ，日本新生児未熟児学会．神戸．2010.11
- 井田博幸：保育に必要なアレルギーの知識，ピジョンハーツ講演会．東京．2010.11
- 井田博幸：小児科医に必要なリソソーム病の知識，日本小児科学会群馬県地方会．高崎．2010.11
- 井田博幸：アレルギーと保育，ピジョンハーツ講演会．大阪．2010.12
- 井田博幸：酵素補充療法の今後の課題，第15回日本ライソソーム病研究会．東京．2010.12.10-11
- 有賀 賢典、小林 博司、飯塚 佐代子、金城 栄子、清水 寛美、衛藤 義勝、大橋 十也、井田 博幸：新生児MPS VII マウスへの遺伝子治療におけるレンチウイルスベクターの長期発現 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
- 横井 貴之、小林 博司、衛藤 義勝、石毛 信之、北川 照男、大津 真、中内 啓光、大橋 十也、井田 博幸：ファブリー病モデルマウスに対する骨髄移植におけるキメリズムの決定 日本先天代謝異常学会総会 2010.10 大阪
- 有賀賢典、小林博司、飯塚佐代子、金城栄子、清水寛美、衛藤義勝、大橋十也、井田博幸：新生児MPS マウスへの遺伝子治療におけるレンチウイルスベクターの長期発現． 第52回日本先天代謝異常学会 大阪 2010.10.21-23
- 有賀賢典、小林博司、金城栄子、清水寛美、飯塚佐代子、大橋十也、衛藤義勝、井田博幸：レンチウイルスベクターの長期発現について - Sly病モデルマウスの遺伝治療 第55回日本人類遺伝学会．大宮．2010.10.27-30
- 小林正久、大橋十也、衛藤義勝、井田博幸：日本人Fabry病家系の遺伝子変異についての研究 遺伝子変異と臨床病型について 第52回日本先天代謝異常学会 大阪 2010.10.21-23
- 佐藤洋平、小林正久、井田博幸：出生体重1500 g 未満の新生児における一過性高17-0HP血症の臨床的意義に関する検討 第52回日本先天代謝異常学会 大阪 2010.10.21-23
- 小林正久、井田博幸：当科で診断した周産期致死性ゴーシェ病6例の臨床経過についての検討 第55回日本未熟児新生児学会 神戸 2010.11.5-7
- 横井貴之、小林博司、衛藤義勝、大橋十也、井田博幸：ファブリー病に対する骨髄移植に対するキメリズムの決定 第52回日本先天代謝異常学会．大阪．2010.10.21-23
- 横井貴之、小林博司、衛藤義勝、大橋十也、井田博幸：ファブリー病に対する骨髄移植に対するキメリズムの決定 第55回日本人類遺伝学会．大宮．2010.10.27-30
- 西山由梨佳、横井貴之、小林博司、大橋十也、井田博幸：妊娠中に酵素補充療法を施行したFabry病の2例 第15回日本ライソソーム病研究会 東京 2010.12.10-11
- 大橋十也：新しい治療法の適応とガイドライン .(シンポジウム) 第52回日本先天代謝異常学会

総会 . 大阪 . 2010.10.21-23

- 大橋十也 : ライソゾーム蓄積症の診断と治療 . 第55回大会日本人類遺伝学会 . 大宮 . 2010.10.27-30
- 大橋十也 : ライソゾーム病の酵素補充療法における抗体産生 , 第15回日本ライソゾーム病研究会 . 東京 . 2010.12.10-11
- Yohta Shimada, Hiroshi Kobayashi, Yoshikatsu Eto, Hiroyuki Ida, Toya Ohashi. Induction mechanism of autophagy in fibroblasts from Pompe disease patients. 第1回アジア先天代謝異常学会 福岡 2010. 3.7-10
- 大橋十也, 飯塚佐代子, 衛藤義勝, 嶋田洋太, 井田博幸, 小林博司 : 抗CD3抗体によるポンペ病酵素補充療法での酵素製剤に対する免疫寛容導入 . 第52回日本先天代謝異常学会総会 .大阪, 10.21-23, 2010 .
- 嶋田洋太, 西山由梨佳, 小林博司, 衛藤義勝, 井田博幸, 大橋十也 : ポンペ病細胞におけるオートファジー活性化の分子機序 第52回日本先天代謝異常学会 . 大阪 . 2010, 10.21-23
- 嶋田洋太, 西山由梨佳, 若林太一, 横井貴之, 小林博司, 衛藤義勝, 井田博幸, 大橋十也 : スプライン変異を持つ遅発型ポンペ病細胞に対するケミカルシャペロンの効果 第55回日本人類遺伝学会 . 大宮 . 2010, 10.28-30
- Kobayashi H, Ariga M, Shimada Y, Iizuka S, Yokoi T, Iwamoto T, Fukuda T, Ida H, Eto Y, Ohashi T: Neonatal Gene Therapy for The Mouse Model of Krabbe Disease. 第16回日本遺伝子治療学会 宇都宮 2010.7.1-3
- 小林博司, 飯塚佐代子, 有賀賢典, 嶋田洋太, 井田博幸, 衛藤義勝, 大橋十也 : レンチウイルスベクターシステムを用いたクラッペ病の遺伝子治療 . 第113回日本小児科学会 盛岡 2010.4.23-25
- 小林博司, 飯塚佐代子, 福田隆裕, 岩本武夫, 有賀賢典, 嶋田洋太, 衛藤義勝, 井田博幸, 大橋十也 : レンチウイルスベクターシステムを用いたクラッペ病モデルマウスに対する新生児遺伝子治療 . 第52回日本先天代謝異常学会 大阪 2010.10.21-23
- 小林博司, 有賀賢典, 嶋田洋太, 飯塚佐代子, 福田隆裕, 岩本武夫, 井田博幸, 衛藤義勝, 大橋十也 : レンチウイルスシステムを用いたKrabbe病に対する遺伝子治療 第55回日本人類遺伝学会 . 大宮 . 2010.10.21-23

#### 鈴木義之

- 鈴木義之 : シャペロン療法の始まりと現況 . 第1回日本シャペロン研究会, 東京, 2012.11.11.
- 高井知子, 檜垣克美, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, 大野耕策, 鈴木義之, 難波栄二: ヒトI51T変異 -ガラクトシダーゼに有効な新規ケミカルシャペロン化合物の解析. 第54回日本先天代謝異常学会, 岐阜, 2012.11.15-17.
- 成田綾, 白井謙太郎, 前垣義弘, 久保田智香, 高山留美子, 高橋幸利, 浅川賢, 石川均, 鈴木義之, 大野耕策: 神経型Gaucher病における対光反射. 第54回日本先天代謝異常学会, 岐阜, 2012.11.15-17.

- 成田綾、白井謙太郎、前垣義弘、久保田智香、高山留美子、高橋幸利、石川均、鈴木義之、大野耕策: 神経型Gaucher病に対するケミカルシャペロン療法. 第54回日本先天代謝異常学会、岐阜、2012.11.15-17.
- 難波栄二、檜垣克美、足立香織、大野耕策、鈴木義之:  $\beta$ -ガラクトシダーゼ欠損症に対する新たな化合物によるシャペロン療法の開発. 第54回日本小児神経学会総会、札幌、平成24.5.17 - 19.
- 難波栄二、檜垣克美、大野耕策、鈴木義之: ヒトベータガラクトシダーゼ欠損症に対するケミカルシャペロン療法: 88のミスセンス変異に対するNOEVの有効性. 第53回日本小児神経学会総会、2011.5.26-28, 横浜
- 檜垣克美、高村歩美、高井知子、大野耕策、鈴木義之、難波栄二: GM1ガングリオシドーシスモデルマウス脳におけるシグナル伝達異常. 第16回日本ライソゾーム病研究会、東京、2011.9.29-30.
- 高井知子、檜垣克美、Carmen Ortiz Mellet, José M. García Fernández, 大野耕策、鈴木義之、難波栄二: ベータガラクトシダーゼに対する新規シャペロン候補化合物の解析. 第53回日本先天代謝異常学会、幕張、2011.10.24-26.
- 高井知子、檜垣克美、李林静、飯田真己、大野耕策、鈴木義之、難波栄二: ベータガラクトシダーゼに対するケミカルシャペロン活性測定のための新規細胞系の構築. 第52回先天代謝異常学会、大阪、2010. 10. 21-23.
- 鈴木義之: ケミカルシャペロン療法: ヒト臨床試験に向けて. 第15回日本ライソゾーム病研究会、東京、平成22.12.10-11.
- 一ノ宮 悟史、鈴木 義之:  $G_{M1}$ -ガングリオシドーシスモデルマウスにおける運動機能検査法の開発. 第15回日本ライソゾーム病研究会、東京、平成22.12.10-11.
- 檜垣克己、栞卓 (Luan Zhuo)、李林静、難波栄二、大野耕策、Carmen Ortiz Mellet、Jose M. Garcia Fernandez、鈴木義之: ゴーシェ病に対する蛍光標識薬理学的シャペロンの効果に関する検討. 第15回日本ライソゾーム病研究会、東京、平成22.12.10-11.

#### 田中あけみ

- Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in the patients with Mucopolysaccharidosis Type II. 第54回日本先天代謝異常学会 2012年11月14 - 17日 岐阜
- 澤田智、田中あけみ、鈴木健、奥山虎之、藤井研人、坂口知子、小田絵里、藤直子、斎藤三佳、北川照男. 新生児スクリーニングにおいて発見されたiduronate-2-sulfatase遺伝子のpseudodeficiency allele. 第53回日本先天代謝異常学会 千葉 2011. 11

#### 島田 隆

- Shimada, T. Gene Therapy in Japan -Problems and Prospects-第18回日本遺伝子治療学会 2012.6. 熊本
- Miyake, N., Miyake, K., Sakai, A., Yamamoto, M., Endo, A., Suzuki, H., Shimada, T. Successful treatment of adult MLD model mice by intrathecal administration of AAV9 vector. 第18回日本遺伝子治療学会 2012.6. 熊本
- 島田 隆: 遺伝子治療の最近の動向 - ゲノム医療の世界の動向と本邦における臨床応用の展望 - . 第21回日本Cell Death学会 2012.7. 名古屋

- 島田 隆：遺伝子治療の最近の動向 - 我が国の遺伝子治療臨床研究の進歩 - . つくばオンコロジーフォーラム 2012.8. 筑波
- 坂井敦、齋藤文仁、三宅紀子、三宅弘一、島田隆、鈴木秀典：DRG神経におけるmiR-7a過剰発現は神経障害性疼痛を特異的に抑制する。第35回日本神経科学大会2012.9. 名古屋
- 五十嵐勉、三宅弘一、浅川なぎさ、島田隆、高橋浩：AAVtype8ベクターの投与方法の違いによる遺伝子導入効率と発現期間の検討。第115回日本眼科学会総会 2011.4
- Miyake, N., Miyake, K., Sakai, A., Yamamoto, M., Endo, A., Suzuki, H., Shimada, T. Gene Therapy for MLD by Intrathecal Administration of Type 9 AAV Vector Expressing ASA. 第17回日本遺伝子治療学会 2011.7 福岡
- Miyake, K., Matsumoto, T., Miyake, N., Orimo, H., Fukunaga, Y., Shimada, T. AAV Type 8 Mediated Bone-Targeted and Muscle Directed Neonatal Gene Therapy for Hypophosphatasia. 第17回日本遺伝子治療学会 2011.7 福岡
- Osamu, I., Sugano, H., Miyake, K., Shimada, T. Successful treatment of severe infantile hypophosphatasia by ex vivo gene therapy using bone marrow cells expressing bone targeted TNALP. 第17回日本遺伝子治療学会 2011.7 福岡
- Asakawa, N., Igarashi, T., Miyake, K., Shimada, T., Takahashi, H. Direct comparison of administration routes for AAV8 mediated ocular gene therapy. 第17回日本遺伝子治療学会 2011.7 福岡
- Miyake, K., Shimada, T. Development of cell targeting strategy using HIV vector pseudotyped with HIV envelope. 第17回日本遺伝子治療学会 2011.7 福岡
- 菅野 華子、飯島 修、渡邊 淳、福永 慶隆、島田 隆：低フォスファターゼ症モデルマウスの胎児期遺伝子治療。第29回日本骨代謝学会学術集会 2011.7.大阪
- 飯島 修、菅野 華子、渡邊 淳、島田 隆：骨髄細胞移植による低フォスファターゼ症の遺伝子治療。第29回日本骨代謝学会学術集会 2011.7.大阪
- 渡邊 淳、菅野 華子、飯島 修、折茂 英生、島田 隆：日本における周産期型低フォスファターゼ症 高頻度変異部位1559delTと周産期時期からのfollow upの重要性。第29回日本骨代謝学会学術集会 2011.7. 大阪
- Tamai, H., Miyake, K., Yamaguchi, H., Shimada, T., Inokuchi, K., Dan, K. The effect and specific mechanisms of systemic gene therapy using AAV8-IL24 in MLL/AF4 Tg mice. 日本血液学会総会 2011.10. 名古屋
- 菅野 華子、飯島 修、渡邊 淳、福永 慶隆、島田 隆：低フォスファターゼ症モデルマウスの胎児期遺伝子治療。第53回日本先天代謝異常学会総会 2011.11. 幕張
- 菅野 華子、島田 隆. Type 9アデノ随伴ウィルスベクター(AAV9)を用いたマウス胎児への遺伝子導入. ライソゾーム病研究会. 2010.10 東京
- 酒井規夫
- 酒井規夫、神経遺伝病治療戦略セミナー、ニーマン・ピック病C型の診断と治療、第55回日本小児神経学会学術集会、2013.5
- 新寶 理子、青天目 信、近藤 秀仁、Mohammad Arif Hossain、濱田 悠介、酒井 規夫、大園 恵一、当科で診断したGM2ガングリオシドーシス症例の検討、第9回近畿先天代謝異常研究会、2013.6

- Mohammad Arif Hossain, Michiko Shinpo, Keiichi Ozono, Norio Sakai, Molecular and biochemical diagnosis for three Japanese patients of galactosialidosis, 第9回近畿先天代謝異常研究会、2013.6
- 佐藤友紀、金川武司、酒井規夫、望月秀樹、大阪大学医学部附属病院における羊水染色体検査の現状報告、第37回日本遺伝カウンセリング学会、2013.6
- 酒井規夫、ファブリー病の診療；今患者がもとめるもの、神奈川酵素補充療法研究会、2013.7
- 酒井規夫、ムコ多糖症と遺伝カウンセリング、第1回ムコ多糖症フォーラム、2013.7
- Mohammad Arif Hossain, Chaperone therapy for Krabbe disease; Japanese late-onset mutations can be treated effectively by NOEV、第2回シャペロン療法研究会、2013.12
- MOHAMMAD ARIF HOSSAIN, Takanobu Otomo, Yusuke Hamada, Michiko Shinpo, Motohiro Akagi, Keiichi Ozono, Norio Sakai, The late-onset mutant protein of GALC shows effective processing, 第54回日本先天代謝異常学会、2012.11
- 新寶理子、GM2 ガングリオシドーシス ～当科での診断症例の検討～、第54回日本先天代謝異常学会、2012.11
- 濱田悠介、The efficacy of sodium pyruvate therapy and breath gas test for PDH E1-alpha deficiency、第54回日本先天代謝異常学会、2012.11
- 酒井規夫、造血幹細胞移植(代謝専門医の立場から)、第1回 先天代謝異常症患者会フォーラム、2012.8
- 米衛ちひろ, 豊島光雄, 濱田悠介, 酒井規夫, 河野嘉文. 進行性骨溶解を認めたセラミダーゼ欠損症の一例. 第54回日本小児神経学会総会 札幌 2012.05
- 中野さやか, 新寶理子, 東 純史, 濱田悠介, 岩谷祥子, 富永康仁, 木村志保子, 下野九理子, 沖永剛志, 酒井規夫, 永井利三郎, 大園恵一、Cataplexyが診断の契機となった Niemann-Pick 病 C 型の 2 症例、第54回日本小児神経学会総会 札幌 2012.05
- 酒井規夫、ファブリー病と遺伝カウンセリング-遺伝カウンセリングとライフプラン、日本遺伝カウンセリング学会、2012.5
- 濱田悠介、大友孝信、酒井規夫、大園恵一、田中雅嗣、ピルビン酸脱水素酵素複合体欠損症患者に対する呼気ガス試験による診断の試み、第7回近畿先天代謝異常症研究会、大阪、2011.6
- 濱田悠介、東純史、Mohammad Arif Hossain、正畠和典、大友孝信、曹秀樹、酒井規夫、大園恵一、胆のう乳頭腫を呈した異染性白質ジストロフィーの2症例、第7回近畿先天代謝異常症研究会、大阪、2011.6
- 酒井規夫、ミニレクチャー「ライソゾーム病の遺伝カウンセリング」、第7回近畿先天代謝異常症研究会、大阪、2011.6
- 佐藤友紀、酒井規夫、金川武司、大友孝信、濱田悠介、國府力、小巻正泰、吉津紀久子、西田千夏子、市村沙希、松村泰志、野口眞三郎、大阪大学病院における電子カルテによる遺伝子情報管理の取り組み、遺伝医学合同学術集会2011、京都、2011.6
- 小巻正泰、酒井規夫、金川武司、大友孝信、濱田悠介、國府力、佐藤友紀、吉津紀久子、西田千夏子、市村沙希、野口眞三郎、全国遺伝子医療部門におけるホームページに関する実態調査報告、遺伝医学合同学術集会2011、京都、2011.6
- Mohammad Arif Hossain, Takanobu Otomo, Yusuke Hamada, Motohiro Akagi, Keiichi Ozono, Norio

Sakai, Screening of seven common mutations is effective to predict the phenotypes of Krabbe disease patients in Japan, ライソゾーム病スクリーニング東京会議2011、東京、2011. 8

- 酒井規夫、濱田悠介、Mohammad Arif Hossain、大友孝信、大園恵一、後期乳児型異染性白質ジストロフィーに対する造血幹細胞移植の効果について、第16回日本ライソゾーム病研究会、東京、2011. 9
- 酒井規夫、濱田悠介、大友孝信、乾 幸治、大園恵一、ゴーシェ病 I 型に対する酵素補充療法の長期経過について、第16回日本ライソゾーム病研究会、東京、2011. 9
- 大友 孝信、Mucopolipidosis II: Pathophysiology to Therapy (ムコリピドーシスII型の病態解明と治療法の開発)、第16回日本ライソゾーム病研究会、東京、2011. 9
- 大友孝信、檜垣克美、難波栄二、大園恵一、酒井規夫、ムコリピドーシスII型・III型に対する新しい治療法の開発(1)全ライソゾーム酵素補充法の確立、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011. 11
- 大友孝信、檜垣克美、難波栄二、大園恵一、酒井規夫、ムコリピドーシスII型・III型に対する新しい治療法の開発(2)酵素補充療法による治療効果、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011. 11
- 大友孝信、大園恵一、酒井規夫、ムコリピドーシスII型 (I-cell disease) 細胞におけるゲニステインの効果について、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011. 11
- 濱田悠介、中野さやか、新實理子、東純史、大友孝信、富永康仁、下野九理子、沖永剛志、酒井規夫、大園恵一、ムコ多糖症 型の発達と発育に対する酵素補充療法の効果、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011. 11
- 濱田悠介、林真貴子、豊田健太郎、下野九理子、沖永剛志、酒井規夫、大園恵一、松下賢治、阿部暁子、早坂清、多彩な症状を呈したOPA1異常症の兄妹例、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011. 11
- 濱田悠介、中野さやか、新實理子、東純史、大友孝信、富永康仁、下野九理子、沖永剛志、酒井規夫、大園恵一、非常に緩徐な神経学的進行を呈した副腎白質ジストロフィーの一症例、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011. 11
- ホセインモハンマドアリフ、大友孝信、濱田悠介、赤木幹弘、大園恵一、酒井規夫、In vitro transient experiment for the common mutations of Krabbe disease in Japan、第53回日本先天代謝異常学会学術集会、千葉、2011. 11
- 田中あけみ、酒井規夫、奥山虎之、鈴木康之、澤田智、大橋十也、大浦敏博、麦島秀雄、田中藤樹、大友孝信、ムコ多糖症II型における造血幹細胞移植の中樞神経系への効果について(多施設共同研究)、第 52回日本小児神経学会総会、横浜、2010.5
- 大友孝信、檜垣克美、難波栄二、大園恵一、酒井規夫、ムコリピドーシス II 型の皮膚線維芽細胞ではライソゾームの成熟異常と pH 上昇を来している、第 52 回日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 赤木幹弘、豊島光雄、山村なつみ、鈴木保宏、Hossain Arif、濱田悠介、大友孝信、酒井規夫、大園恵一、日本人 PKAN 症例の遺伝子解析、第52回日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 長谷川泰浩、池田佳世、橘真紀子、山田寛之、清原由起、近藤宏樹、三善陽子、酒井規夫、大園恵一、小児期発症 Wilson 病 13 例における酢酸亜鉛製剤の有用性について、第52回日本先天代

謝異常学会総会、大阪、2010.10

- ホセイン モハンマト アリフ、大友孝信、濱田悠介、赤木幹弘、大園恵一、酒井規夫、Distribution of the Clinical Phenotype of Krabbe Disease in Japan、第52回日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 濱田悠介、大友孝信、酒井規夫、田中雅嗣、大園恵一、ピルビン酸脱水素酵素複合体欠損症患者に対するピルビン酸療法開始前後での呼気ガス試験による評価、第52回日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 酒井規夫、シンポジウム2；先天性代謝異常症マス・スクリーニングのこれから、マス・スクリーニングにおける遺伝カウンセリング、第52回日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 酒井規夫、日本人クラッペ病の表現型の分布と新生児マス・スクリーニングを含めた診断/治療ガイドライン、第15回日本ライソゾーム病研究会2010.12
- 渡邊順子、大平智子、加藤俊一、矢部普正、酒井規夫、大友孝信、芳野 信：骨髄移植を受けたI-cell病患者の長期予後 第15回日本ライソゾーム病研究会 2010.12
- 高柳正樹
- 井田博幸、衛藤義勝、高柳正樹 他。薬剤の臨床 日本人Gaucher病(I型、II型およびIII型)患者に対するセラザイムの8年間の製造販売後調査結果による有効性と安全性の検討。小児科診療76：1325-1334、2013
- 菅沼広樹、鈴木光幸、高柳正樹 他。劇症肝不全として発症したミトコンドリアDNA枯渇症候群の新生児例。日本小児科学会雑誌115巻：1067-107、2011
- 高橋 勉
- Hirayama, M., Oyama, C., Noguchi, A., Takahashi, T. Histone deacetylase inhibitors need acid sphingomyelinase to reduce the abnormal storage of cholesterol in Niemann-Pick C1 cells. The 3rd Asian congress for inherited metabolic diseases, Chiba, Japan, Nov. 2013.
- 大野耕策、成田 綾
- 成田 綾、板村真司、大野耕策他：神経型Gaucher病に対するアム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
- 成田 綾、白井謙太郎、大野耕策他：神経型Gaucher病に対するケミカルシャペロン療法，第54回日本先天代謝異常学会、岐阜、2012.11
- 成田 綾、前垣義弘、大野耕策．Gaucher病3型患者に対するケミカルシャペロン療法の効果．第53回日本小児神経学会総会．横浜、2011.5
- 

#### 難波栄二

- 難波栄二．ライソゾーム病に対するシャペロン療法．第2回先天代謝異常症患者会フォーラム．東京，2013．8
- 難波栄二，檜垣克美，高井知子，由良敬，榊原康文，Carmen Ortiz Mellet，Jose M. Garcia Fernandez，鈴木義之． $\beta$ -ガラクトシダーゼ欠損症に対するシャペロン治療薬の開発．第58回日本人類遺伝学会．仙台，2013．11
- 難波栄二，檜垣克美，高井知子，Yu Yi，大野耕策，鈴木義之：ファブリー病ならびにGM1-ガング



リオシドーシスに対する新しいシャペロン治療薬の開発. 第57回日本人類遺伝学会、東京、2012.10.24-27.

- 高井知子, 檜垣克美, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, 大野耕策, 鈴木義之, 難波栄二: ヒトI51T変異 $\alpha$ -ガラクトシダーゼに有効な新規ケミカルシャペロン化合物の解析. 第54回日本先天代謝異常学会、岐阜、2012.11.15-17.
- 高井知子, 檜垣克美, 鈴木義之, 難波栄二: ヒト変異 $\beta$ -ガラクトシダーゼに対する新規シャペロン化合物. 第84回 日本生化学会大会、京都、2011.9
- 三浦弘子, 檜垣克美, 山内裕子, 高井知子, 難波栄二: ライソゾーム病神経変性とミトコンドリア異常. 第84回 日本生化学会大会、京都、2011.9
- Nanba E. Chemical chaperone therapy for lysosomal storage diseases. Satellite Symposium of Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases 2011 Tokyo Meeting on Lysosomal Storage Disease Screening. Tokyo, 2011.8
- Takai T, Higaki K, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E. Chemical chaperone therapy: chaperone effect on mutant enzyme and cellular pathophysiology in  $\beta$ -galactosidase deficiency. Satellite Symposium of Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases 2011 Tokyo Meeting on Lysosomal Storage Disease Screening. Tokyo, 2011.8
- 檜垣克美, 高村歩美, 大野耕策, 鈴木義之, 難波栄二: GM1ガングリオシドーシスモデルマウス脳におけるシグナル伝達異常. 第16回日本ライソゾーム病シンポジウム, 東京, 2010.9
- 高井知子, 檜垣克美, Ortiz Mellet C, Garcia Fernandez J, 大野耕策, 鈴木義之, 難波栄二: ベータガラクトシダーゼに対する新規シャペロン候補化合物の解析. 第53回 日本先天代謝異常学会総会, 千葉, 2011.11
- Yi Y, 檜垣克美, Ortiz Mellet C, Garcia Fernandez J, 大野耕策, 鈴木義之, 難波栄二: ファブリー病に対する新規シャペロン候補化合物の解析. 第53回 日本先天代謝異常学会総会, 千葉, 2011.11
- 難波栄二, 檜垣克美: GM1-ガングリオシドーシス脳神経細胞内のユビキチン化蛋白質の蓄積. 第52回 日本小児神経学会総会、福岡、2010.5
- 難波栄二: ケミカルシャペロン療法. 第52回 日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 高井知子, 檜垣克美, 李林静, 飯田真己, 大野耕策, 鈴木義之, 難波栄二: ベータガラクトシダーゼに対するシャペロン活性測定のための新規細胞系の構築. 第52回 日本先天代謝異常学会総会、大阪、2010.10
- 高井知子, 檜垣克美, 李林静, 榊原康文, 鈴木義之, 難波栄二: ヒト変異 $\beta$ -ガラクトシダーゼに対するシャペロン効果. 第83回 日本生化学会大会、神戸、2010.12
- 檜垣克美, 栞卓, 李林静, 難波栄二, 大野耕策, Carmen Ortiz Mellet, José M. García Fernández, 鈴木義之: ゴーシェ病に対する蛍光標識薬理的シャペロンの効果に関する検討. 第15回日本ライソゾーム病シンポジウム, 東京, 2010.12

鈴木康之

- 鈴木康之: ペルオキシソームにおける脂肪酸代謝とその異常. 第26回日本小児脂質研究会特別講演. 2012.11.30、川越

- 田中あけみ、鈴木康之、奥山虎之、酒井規夫、澤田 智、大友孝信、高倉広光、矢部晋正、石毛美夏、加藤俊一. ムコ多糖症II 型重症型の中樞神経障害に対する造血幹細胞移植の効果評価. 第54回日本先天代謝異常学会、2012.11.15-17、岐阜
- Tomatsu S, Suzuki Y, Orii T, Yasuda E, Ruhnke K, Barone C, Corao D, Michael Bober M, Mackenzie W. Establishment of Morquio tissue repository bank. 第54回日本先天代謝異常学会、2012.11.15-17、岐阜
- Tomatsu S, Suzuki Y, Orii T, Yamaguchi S, Mackenzie W, Bober M, Montaña AM. Newborn screening and biomarkers for mucopolysaccharidoses. 第54回日本先天代謝異常学会、2012.11.15-17、岐阜
- Tomatsu S, Hintze JP, Fujii T, Montaña AM, Yamaguchi S, Suzuki Y, Fukushi M, Ishimaru T, Orii T. Comparison of liquid chromatography - tandem mass spectrometry and sandwich ELISA for determination of keratan sulfate in plasma and urine. 第54回日本先天代謝異常学会、2012.11.15-17、岐阜
- 小関道夫、神田香織、川本典生、折居建治、加藤善一郎、深尾敏幸、近藤直実、下澤伸行、鈴木康之、植木啓文. 躁病様行動に対しバルプロ酸が有効であった移植後思春期大脳型副腎白質ジストロフィーの1例. 第54回日本先天代謝異常学会、2012.11.15-17、岐阜
- 小関道夫、下澤伸行、矢部晋正、加藤俊一、加藤剛二、加我牧子、辻 省次、鈴木康之: 副腎白質ジストロフィーに対する造血幹細胞移植効果: 国内症例の包括的検討. 第53回日本先天代謝異常学会、2011.11.24-26、幕張
- 田中あけみ、奥山虎之、鈴木康之、酒井規夫、澤田 智、田中藤樹、大友孝信、大橋十也、大浦敏博、加藤俊一: ムコ多糖症II型に対する造血幹細胞移植の効果について: 多施設共同調査研究最終報告. 第53回日本先天代謝異常学会、2011.11.24-26、幕張
- 長瀬朋子、梶原直美、鈴木康之、下澤伸行: LC/MSを用いた極長鎖脂肪酸迅速測定の開発. 第53回日本先天代謝異常学会、2011.11.24-26、幕張
- 長瀬朋子、玉置也剛、柴田敏之、國定隆弘、鈴木康之、下澤伸行: iPS細胞を用いたペルオキシソーム病神経系モデル構築の試み. 第53回日本先天代謝異常学会、2011.11.24-26、幕張
- 下澤伸行、本田綾子、梶原尚美、小澤 祥、長瀬朋子、竹本靖彦、杉尾陽子、鈴木康之、Wanders RJA. 岐阜大学ペルオキシソーム病診断システムの展開—プラスマローゲンによる近位肢型点状軟骨異形成症の診断. 第52回日本先天代謝異常学会、2010.10.21-23、大阪
- 下澤伸行、本田綾子、梶原尚美、桐山寛子、小澤 祥、長瀬朋子、竹本靖彦、鈴木康之. 副腎白質ジストロフィー発症前患者に対する早期介入の取組み. 第52回日本先天代謝異常学会、2010.10.21-23、大阪
- 鈴木康之、知念安紹、田中あけみ、澤田 智、奥山虎之、田中藤樹、折居忠夫、折居恒治、戸松俊治. ムコ多糖症III型に対するGenistein補充の効果. 第52回日本先天代謝異常学会、2010.10.21-23、大阪
- Tomatsu S, Montano A, Yamaguchi S, Suzuki Y, Orii T, Fujii T, Fukushi M. Newborn screening for MPS by using Liquid tandem mass spectrometry method. 第52回日本先天代謝異常学会、2010.10.21-23、大阪

- 下澤伸行、本田綾子、梶原尚美、小澤 祥、竹本靖彦、杉尾陽子、塚原正人、鈴木康之、Wanders RJA . 近位肢型点状軟骨異形成症におけるペルオキシソーム病診断システムの有用性—日本人初のRCDP type 3同胞例の診断解析— . 第55回日本人類遺伝学会 . 2010.10.28-30、大宮
- 鈴木康之、知念安紹、戸松俊治 . ムコ多糖症III型に対するGenisteinの効果 . 第18回統合医療機能性食品国際会議 . 2010.7.24-25、札幌
- 田中あけみ、澤田 智、奥山虎之、田中藤樹、鈴木康之、酒井規夫、大橋十也、高倉広充、大浦敏博、加藤俊一 : ムコ多糖症II型に対する造血幹細胞移植の効果に関する多施設共同調査研究 . 第113回日本小児科学会学術集会 . 2010.4.23-25、盛岡
- 長瀬朋子、鈴木康之、下澤伸行 . ES細胞からの分化系を用いたペルオキシソーム病の病態解明の試み . 第113回日本小児科学会学術集会 . 2010.4.23-25、盛岡

#### 櫻庭 均

- 櫻庭 均 : ファブリー病を疑うとき 診断・治療について, ファブリー病セミナー in 新潟, 新潟, 2013. 5
- 櫻庭 均 : ファブリー病の治療戦略. 熊本ファブリー病フォーラム, 熊本, 2013. 5
- 櫻庭 均 : ファブリー病の新しい治療薬開発に向かって. ふくろうの会 東京シンポジウム2013, 東京, 2013. 6
- 櫻庭 均 : よくわかるシリーズ ファブリー病: ファブリー病の診断法, 第58回日本透析医学会学術集会・総会, 福岡, 2013. 6
- 櫻庭 均 : ファブリー病の最近の話題. ファブリー病セミナー 腎臓Special Lecture, 福岡, 2013. 6
- 櫻庭 均 : 心疾患の中に潜在するファブリー病 ファブリー病の病態・診断について. 第23回Educational Seminar in Cardiology, 東京, 2013. 7
- 櫻庭 均 : 日常診療に潜在するファブリー病: 病態・診断・治療. 福井ファブリー病セミナー, 福井, 2013. 7
- 櫻庭 均 : ファブリー病の最近の話題. 川口ファブリー病セミナー, 川口, 2013. 7
- 櫻庭 均 : ファブリー病の診断方法と最近の話題. 秋田ファブリー病セミナー, 秋田, 2013. 8
- 櫻庭 均 : ファブリー病へのアプローチ 診断・治療可能な希少疾患を見逃さないために. 西湘ファブリー病セミナー, 神奈川, 2013. 10
- 櫻庭 均 : ファブリー病を知ろう 病態・診断・治療. 函館ファブリー病セミナー, 函館, 2013. 10
- 櫻庭 均 : ファブリー病 その診断, 治療の核心に迫る. 弘前ファブリー病セミナー, 青森, 2013. 10
- 櫻庭 均 : 治療可能な希少疾病ファブリー病~酵素補充療法の実際~. 第40回 日本小児臨床薬理学会 学術集会, 横浜, 2013. 11
- 北風圭介, 辻 大輔, 浅沼大祐, 神谷真子, 浦野泰照, 櫻庭 均, 伊藤孝司 : 酵素の分子構造変化に基づくTay-Sachs 病治療薬の開発. 日本薬学会第133年会. 横浜, 2013. 3
- 水戸部さゆり, 兎川忠靖, 月村考宏, 齋藤静司, 鈴木俊宏, 櫻庭 均 : 血漿中Lyso-Gb3濃度の

増加を伴わない特異なファブリー病患者群に関する研究. 日本薬学会第133年会. 横浜, 2013. 3

- 月村考宏, 高澤かおり, 山下翔悟, 水戸部さゆり, 鈴木俊宏, 片山昌勅, 兎川忠靖, 櫻庭 均 : グロボトリアオシルセラミドの新規定定法の開発: ファブリー病バイオマーカーへの応用. 日本薬学会第133年会. 横浜, 2013. 3
- 高田 大, 相澤良明, 月村考宏, 兎川忠靖, 鈴木俊宏, 櫻庭 均 : リソソーム酵素中のマンノース-6-リン酸残基の測定. 日本薬学会第133年会. 横浜, 2013. 3
- 月村考宏, 高田 大, 相澤良明, 鈴木俊宏, 片山昌勅, 櫻庭 均, 兎川忠靖 : マンノース-6-リン酸残基の新規定量法の開発 : 組換えヒトリソソーム酵素解析への応用. 第86回日本生化学会大会. 横浜, 2013. 9
- 北風圭介, 河野加菜子, 田島陽一, 櫻庭 均, 伊藤孝司 : ティ サックス病の新規治療薬開発を目指した機能改変型ヒト  $\alpha$ -ヘキソサミニダーゼBの精製および評価. 第86回日本生化学会大会. 横浜, 2013. 9
- 田島陽一, 芝崎 太, 櫻庭 均 : ポンペマウス骨格筋におけるp62 とParkinの蓄積. 第36回日本分子生物学会年会. 神戸, 2013. 12
- 櫻庭 均: ファブリー病~早期診断の重要性~, 愛知ファブリー病研究会、2012/ 1、愛知
- 櫻庭 均: 神経内科医が遭遇する疾患 ファブリー病、第53回日本神経学会学術大会、2012/5、東京
- 櫻庭 均: 蛋白尿に潜む疾患 ファブリー病、第55回日本腎臓学会学術総会、2012/6横浜
- 櫻庭 均: 分子設計に基づくファブリー病新規治療戦略、第57回(社)日本透析医学会 学術集会・総会、2012/6、札幌
- 櫻庭 均: ファブリー病の分子病態と腎障害、第47回日本小児腎臓病学会学術集会、2012/6、東京
- 櫻庭 均: 日常の診療に潜むファブリー病: 病態・診断・治療、沖縄ファブリー病セミナー、2012/8、沖縄
- 櫻庭 均: 隠れ心筋症? ファブリー病~その診断と治療の最先端~, 第123回みなとセミナー 第15回心臓病センター病診連携学術講演会、2012/8、横浜
- 櫻庭 均: ファブリー病 診断と治療の実際、第18回 日本腹膜透析医学会 学術集会・総会、2012/9、徳島
- 櫻庭 均: 酵素/低分子化合物複合体形成機構の熱力学的・構造学的検討、第1回 日本シャペロン療法研究会、 遺伝性難病の治療を目指して、2012/11、東京
- 渡邊 徹、高岡友紀、川島育夫、 櫻庭 均、千葉靖典: サポシンB欠損症治療薬を目指したヒトサポシンBの生産、日本農芸化学会 2012年度大会、2012/3 京都
- 向日良夫、鈴木俊宏、 兎川忠靖、片山昌勅、松田兆史、 櫻庭 均: 分析実習におけるビュレット操作の問題点日本薬学会第132年会、2012/3、札幌.
- 兎川忠靖、 児玉 敬、月村考宏、 柏 志保、川島育夫、 鈴木俊宏、 櫻庭 均: ファブリー病の診断におけるLyso-Gb3の評価. 日本薬学会第132年会、2012/3、札幌
- 鈴木俊宏、 入澤 愛、西尾和人、大森 亨、 兎川忠靖、 櫻庭 均: Micro RNAによるゲフィチニブ耐性関連因子の調節、第16回日本がん分子標的治療学会学術集会、2012/6、福岡
- 兎川忠靖、 月村考宏、 水戸部さゆり、 鈴木俊宏、 川島育夫、 櫻庭 均: グロボトリアオシル

セラミドの新規測定法、第54回日本先天代謝異常学会総会 / 第11回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2012/11、岐阜

- 水戸部さゆり、 兎川忠靖、 月村考宏、 土井研人、 野入英世、 赤井靖宏、 齋藤能彦、 芳野信、 竹中俊宏、 櫻庭 均: M296I変異GLAを有するファブリー病患者は血漿中Lyso-Gb3濃度の増加を伴わない、第54回日本先天代謝異常学会総会 / 第11回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2012/11、岐阜
- 辻 大輔、 難波建多郎、 石丸直澄、 櫻庭 均、 伊藤孝司: Tay-Sachs病患者由来iPS細胞の樹立と分化神経系細胞に対する酵素補充効果の検討、第54回日本先天代謝異常学会総会 / 第11回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2012/11、岐阜
- 北風圭介、 辻 大輔、 難波建多郎、 浅沼大祐、 神谷真子、 浦野泰照、 櫻庭 均、 伊藤孝司: 新規人工蛍光基質を用いたリソソーム酵素の脳内補充効果のin vivo イメージング、第54回日本先天代謝異常学会総会 / 第11回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2012/11、岐阜
- 月村考宏、 田中利絵、 大塚智子、 水戸部さゆり、 鈴木俊宏、 齋藤静司、 兎川忠靖、 櫻庭 均: ハイリスク群の男性を対象としたファブリー病スクリーニング、第54回日本先天代謝異常学会総会 / 第11回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2012/11、岐阜
- 鈴木俊宏、 櫻庭 均: ヒト正常組織由来培養細胞における組換えリソソーム酵素の取り込み、第85回日本生化学会大会、2012/12、福岡
- 月村考宏、 田中利絵、 大塚智子、 水戸部さゆり、 鈴木俊宏、 齋藤静司、 兎川忠靖、 櫻庭 均: 男性を対象としたファブリー病のハイリスク・スクリーニング、第85回日本生化学会大会、2012/12、福岡
- 水戸部さゆり、 兎川忠靖、 月村考宏、 児玉 敬、 齋藤静司、 鈴木俊宏、 櫻庭 均: 血漿中Lyso-Gb3濃度の増加しないファブリー病症例群の解析、第85回日本生化学会大会、2012/12、福岡
- 櫻庭 均: ファブリー病の診断と治療のバイオマーカー: グロボトリアオシルスフィンゴシン、第5回ファブリー病シンポジウム、2011/2、東京
- 櫻庭 均: ファブリー病をよく知るために: 分子病態から診断、治療まで、第5回埼玉酵素補充療法研究会、2011/3、大宮
- 櫻庭 均: ファブリー病の診断治療戦略 - 最新のスクリーニング結果報告、第55回日本腎臓学会学術総会、2011/ 6、横浜
- 櫻庭 均: ファブリー病: その早期診断 - 早期治療のために、第5回神奈川酵素補充療法研究会、2011/7、横浜
- 櫻庭 均: ファブリー病治療薬研究の最前線、第7回日本ファブリー病フォーラム、2011/7、東京
- 櫻庭 均: ファブリー病の診断と治療 Update、第3回久留米ファブリー病研究会、2011/ 7、久留米
- 櫻庭 均: Fabry病の診断と治療、第37回皮膚かたち研究会 ランチョンセミナー、2011/7、東京
- 櫻庭 均: ファブリー病の診断と治療の最前線、ファブリー病シンポジウムin福岡、2011/ 9、福岡
- 櫻庭 均: 心疾患に潜むファブリー病 - その診断・治療戦略、第5回 Trends of Cardiovascular Disease in Nagasaki、2011/11、長崎
- 櫻庭 均: 臨床遺伝学講座では、このような研究をしています、臨床遺伝学公開シンポジウム2011、

2011/ 3、東京

- 兎川忠靖: Lyso-Gb3はファブリー病の有用なバイオマーカーです、臨床遺伝学公開シンポジウム2011、2011/ 3、東京
- 月村考宏: 酵母を利用したファブリー病治療薬の開発を目指します、臨床遺伝学公開シンポジウム2011、2011/ 3、東京
- 鈴木俊宏: 組み換え酵素薬の取り込みに関わる分子を探索しています、臨床遺伝学公開シンポジウム2011、2011/ 3、東京
- 黒田麻祐子: ザンドホッフ病における神経系細胞に対する酵素補充モデルを構築しました、臨床遺伝学公開シンポジウム2011. 2011/ 3
- 児玉 敬: 脳障害を伴うリソソーム病のバイオマーカーを探索しています、臨床遺伝学公開シンポジウム2011、2011/ 3、東京
- 児玉 敬、兎川 忠靖、川島 育夫、石田 洋一、鈴木 實、辻 大輔、伊藤 孝司、千葉 靖典、月村 考宏、鈴木 俊宏、櫻庭 均: リゾ-GM2ガングリオシド: GM2ガングリオシドーシスのバイオマーカー、日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
- 黒田 麻祐子、鈴木 俊宏、小谷 政晴、田島 陽一、川島 育夫、兎川 忠靖、辻 大輔、伊藤 孝司、千葉 靖典、福重 智子、金蔵 拓郎、櫻庭 均: Sandhoff病モデルマウス由来ニューロスフェアにおけるヒト組み換えHex A酵素の取り込み、日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
- 月村 考宏、田中 利絵、児玉 敬、川島 育夫、鈴木 俊宏、兎川 忠靖、櫻庭 均: ファブリー病のハイリスク・スクリーニング、日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
- 兎川 忠靖、児玉 敬、川島 育夫、月村 考宏、鈴木 俊宏、福重 智子、金蔵 拓郎、櫻庭 均: ファブリー病の治療のバイオマーカー: グロボトリアオシルフスフィンゴシン、日本薬学会第131年会、2011/3、静岡
- 櫻庭 均: ファブリー病データベース: その分子病態解明と臨床表現型予測への応用、第53回日本小児神経学会総会、2011/5、横浜
- 北風 圭介、堂園 幸恵、辻 大輔、櫻庭 均、田島 陽一、伊藤 孝司: ヒト  $\alpha$ -hexosaminidase とGM2 activator protein との相互作用の解析、第 84回日本生化学会大会、2011/9、京都
- 月村 考宏、田中 利絵、児玉 敬、川島 育夫、齋藤 静司、鈴木 俊宏、兎川 忠靖、櫻庭 均: ファブリー病ハイリスク・スクリーニングの有用性と問題点、第84回日本生化学会大会、2011/9、京都
- 兎川 忠靖、月村 考宏、児玉 敬、田中 利絵、川島 育夫、齋藤 静司、鈴木 俊宏、櫻庭 均: ファブリー病の診断における  $\alpha$ -ガラクトシダーゼのE66Qアミノ酸置換の重要性、第84回日本生化学会大会、2011/9、京都
- 堂園 幸恵、辻 大輔、松岡 和彦、北風 圭介、櫻庭 均、伊藤 孝司: 改変型ヒト  $\alpha$ -hexosaminidase B の高発現CHO細胞株の樹立と無血清大量培養系の構築、第84回日本生化学会大会、2011/9、京都
- 田島 陽一、横山 清司、川島 育夫、貞任 大地、設楽 浩志、多屋 長治、月村 考宏、廣井 隆親、芝崎 太、櫻庭 均: 免疫寛容ファブリー病モデルマウスを用いた新規ファブリー病酵素補充法の検討、第84回日本生化学会大会、2011/9、京都
- 川島 育夫、渡邊 徹、千葉 靖典、児玉 敬、月村 考宏、兎川 忠靖、芝崎 太、櫻庭 均:

遺伝子操作した酵母より生産した組換えヒトサポシンBの  $\alpha$ -ガラクトシダーゼA活性増強効果、  
第84回日本生化学会大会、2011/9、京都

- 児玉 敬、兎川 忠靖、川島 育夫、石田 洋一、鈴木 實、辻 大輔、伊藤 孝司、千葉 靖典、月村 考宏、鈴木 俊宏、櫻庭 均：GM2ガングリオシドーシスのバイオマーカーとしてのLyso-GM2、第84回日本生化学会大会、2011/9、京都
- 月村 考宏、兎川 忠靖、児玉 敬、田中 利絵、川島 育夫、齋藤 静司、鈴木 俊宏、櫻庭 均：GLAにおけるp.E66Qは遺伝的多型か、第16回日本ライソゾーム病研究会、2011/9、東京
- 児玉 敬、兎川 忠靖、川島 育夫、石田 洋一、鈴木 實、辻 大輔、伊藤 孝司、月村 考宏、鈴木 俊宏、櫻庭 均：Lyso-GM2：GM2 ガングリオシドーシスのバイオマーカー、第53回日本先天代謝異常学会総会、第10回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2011/11、千葉
- 兎川 忠靖、児玉 敬、月村 考宏、柏 志保、川島 育夫、鈴木 俊宏、櫻庭 均：ファブリー病のバイオマーカーとしてのlyso-Gb3 の評価、第53回日本先天代謝異常学会総会、第10回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2011/11、千葉
- 田中 利絵、月村 考宏、児玉 敬、川島 育夫、齋藤 静司、鈴木 俊宏、兎川 忠靖、櫻庭 均：ファブリー病男性患者のためのハイリスク・スクリーニング、第53回日本先天代謝異常学会総会、第10回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2011/11、千葉
- 森山 厚子、月村 考宏、田島 陽一、川島 育夫、児玉 敬、福重 智子、金蔵 拓郎、鈴木 俊宏、兎川 忠靖、櫻庭 均：改変型  $\alpha$ -N-アセチルガラクトサミニダーゼの生産と精製、第53回日本先天代謝異常学会総会、第10回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2011/11、千葉
- 月村 考宏、田中 利絵、児玉 敬、川島 育夫、齋藤 静司、鈴木 俊宏、兎川 忠靖、櫻庭 均：E66Q を伴う  $\alpha$ -ガラクトシダーゼA の生化学的及び病理学的解析、第53回日本先天代謝異常学会総会、第10回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2011/11、千葉
- 櫻庭 均：ファブリー病疑い例から確定診断に至るプロセスに関して、第109回日本皮膚学会総会、2010/4、大阪
- 櫻庭 均：ファブリー病の基礎と臨床 - 診断と治療のための小知識、第51回日本神経学会総会、ランチョンセミナー、2010/5、東京
- 櫻庭 均：ファブリー病を知り、診断と治療に生かすために、第53回日本腎臓学会学術総会、イブニングセミナー、2010/6、神戸
- 櫻庭 均：ファブリー病の診断と治療へのアプローチ、第34回日本小児皮膚科学会学術大会、ランチョンセミナー、2010/7、松山
- 櫻庭 均：ファブリー病診断と治療のためのロードマップ、仙台Fabry病研究会、2010/10、仙台
- 櫻庭 均：ファブリー病のABC：診断と治療のために、金沢ファブリー病研究会、2010/10、金沢
- 櫻庭 均：ファブリー病の診断から治療へ、多摩ファブリー病研究会、2010/12、東京
- 菅原佳奈子、櫻庭 均：酵母で生産した新規酵素のファブリー病モデルマウス末梢神経および腎臓に対する効果の検討、第52回小児神経学会総会、2010/5、福岡
- 月村 考宏、千葉 靖典、川島 育夫、渡邊 徹、児玉 敬、福重 智子、金蔵 拓郎、鈴木 俊宏、兎川 忠靖、櫻庭 均：メタノール資化性酵母で生産した組み換えヒト  $\alpha$ -ガラクトシダーゼのファブリー病マウスに対する効果、第52回日本先天代謝異常学会、2010/10、大阪
- 黒田 麻祐子、鈴木 俊宏、小谷 政晴、川島 育夫、兎川 忠靖、伊藤 孝司、千葉 靖典、

福重 智子、金蔵 拓郎、櫻庭 均: Sandhoff病モデルマウス由来ニューロスフェア株の樹立とその応用、第52回日本先天代謝異常学会、2010/10、大阪

- 児玉 敬、兎川 忠靖、川島 育夫、月村 考宏、鈴木 俊宏、福重 智子、金蔵 拓郎、櫻庭 均: 臓器組織のLyso-Gb3はファブリー病の酵素補充療法における治療のバイオマーカーになり得る、第52回日本先天代謝異常学会、2010/10、大阪
- 川島 育夫、月村 考宏、児玉 敬、鈴木 俊宏、兎川 忠靖、渡邊 徹、千葉 靖典、福重 智子、金蔵 拓郎、田島 陽一、芝崎 太、櫻庭 均: メタノール資化性酵母により産生した組換えヒト  $\beta$ -ガラクトシダーゼAはファブリー病モデルマウスに蓄積する基質を分解する、第83回日本生化学会大会、2010/12、神戸
- 兎川 忠靖、月村 考宏、川島 育夫、田中 利絵、児玉 敬、鈴木 俊宏、櫻庭 均: ファブリー病のハイリスク・スクリーニング診断システムの構築、第83回日本生化学会大会、2010/12、神戸
- 月村 考宏、田島 陽一、川島 育夫、千葉 靖典、鈴木 俊宏、兎川 忠靖、櫻庭 均: 酵素増強療法が有効な変異  $\beta$ -ガラクトシダーゼと基質アナログの分子間相互作用解析、第83回日本生化学会大会、2010/12、神戸
- 渡邊 徹、高岡友紀、櫻庭 均、地神芳文、千葉靖典: メタノール資化性酵母 *Ogataea minuta* によるヒトサポシンBの生産、第83回日本生化学会大会、2010/12、神戸
- 田島 陽一、川島 育夫、芝崎 太、千葉 靖典、月村 考宏、櫻庭 均: 分子設計によるファブリー病に対する新しい酵素薬の開発、第83回日本生化学会大会、2010/12、神戸
- 児玉 敬、兎川 忠靖、川島 育夫、月村 考宏、鈴木 俊宏、福重 智子、金蔵 拓郎、櫻庭 均: ファブリー病治療のためのバイオマーカーとしての臓器組織中Lyso-Gb、第83回日本生化学会大会、2010/12、神戸
- 黒田 麻祐子、鈴木 俊宏、小谷 政晴、田島 陽一、川島 育夫、兎川 忠靖、辻 大輔、伊藤 孝司、千葉 靖典、福重 智子、金蔵 拓郎、櫻庭 均: Sandhoff病モデルマウス由来ニューロスフェア株を用いた酵素補充モデルの構築、第83回日本生化学会大会、2010/12、神戸
- 黒田 麻祐子、鈴木 俊宏、小谷 政晴、田島 陽一、川島 育夫、兎川 忠靖、辻 大輔、伊藤 孝司、千葉 靖典、福重 智子、金蔵 拓郎、櫻庭 均: Sandhoff病に対する *ex vivo* 遺伝子治療モデルの開発、第83回日本生化学会大会、2010/12、神戸
- 北風 圭介、松岡 和彦、辻 大輔、櫻庭 均、田島 陽一、伊藤 孝司: 大腸菌発現系によるヒトGM2 activator proteinの獲得およびヒト  $\beta$ -hexosaminidase との相互作用の解析、第83回日本生化学会大会、2010/12、神戸
- 櫻庭 均、齋藤 静司、大野 一樹、兎川 忠靖、鈴木 俊宏、月村 考宏: ファブリー病データベースの構築、第15回日本ライソゾーム病研究会、2010/12、東京

芳野 信、渡邊順子

- 古賀木綿子、原田なをみ、松石豊次郎、猪口隆洋、芳野 信、松石豊次郎、渡邊順子. オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症 (OTCD) のat risk新生児における迅速診断の有用性. 第473回日本小児科学会福岡地方会 2013.2.9 (福岡市)
- 古賀木綿子、原田なをみ、猪口隆洋、芳野 信、松石豊次郎、渡邊順子. オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症 (OTCD) のat risk新生児における迅速診断の有用性 第36回日本小児遺伝学会 2



013.4.18 (広島市)

- 岡田純一郎、廣瀬彰子、神田 洋、岩田欧介、福澤龍二、高柳 俊光、渡邊順子、松石豊次郎. DIS3 L2のエクソン9の欠失変異を認めたPerlman症候群の本邦第一例 第116回日本小児科学会 2013.4.19-21 (広島市)
- 横地賢興、柳忠宏、関祥孝、渡邊順子、松石豊次郎、水落建輝、猪口隆洋、早坂清、呉繁夫. 乳糖除去MCTミルク(ML-3)を用いたシトリン欠損症(NICCD)の1例. 第116回日本小児科学会 2013.4.19-21 (広島市)
- 渡邊順子、田代恭子、青木久美子、石毛美夏、猪口隆洋、松石豊次郎. 新生児タンデムマススクリーニングで発見されたグルタル酸血症I型(GAI)症例. 第2回九州新生児スクリーニング研究会 2013.10.25 (熊本市)
- 原田なをみ、田中征治、芳野 信、齋藤伸道、田中悦子、此元隆雄、中西浩一、松石豊次郎、渡邊順子. フィンランド型先天性ネフローゼ症候群の出生前診断. 第20回 遺伝性疾患に関する出生前診断研究会 2013.9.28 (鹿児島市)
- 原田なをみ、大矢崇志、沼田早苗、松石豊次郎、橋本 隆、渡邊順子. 歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症(DRPLA)家系例の遺伝カウンセリングの経験. 2013.6.21 第37回日本遺伝カウンセリング学会 2013.6.20-23 (川崎市)
- 芳野 信、原田なをみ、渡邊順子、副島美貴子、神田芳郎、岡野善行、中野博昭、依藤 亨. Ornithine transcarbamylase 遺伝子のSNPにもとづくハプロタイプ解析の出生前モニタリングへの応用. 第58回日本人類遺伝学会 2013.11.20-23 (仙台市)
- 家村素史、渡邊順子、高瀬隆太、吉本裕良、工藤嘉公、芳野 信、松石豊次郎、吉田晶子、森崎裕子、森崎隆幸、須田憲治: 複数弁置換術および冠動脈拡大を伴い成人期まで経過観察し得ているShprintzen-Goldberg症候群の一例. 第35回日本小児遺伝学会学術集会 2012.4.18-19 (久留米)
- 渡邊順子、矢部晋正、加藤俊一、大友孝信、酒井則夫、賀佐伸省、松石豊次郎、芳野 信: 骨髄移植を受けたI-cell病の長期予後. 第115回日本小児科学会 2012.4.20-22 (福岡)
- 十亀由喜子、岡松由記、木村光一、渡邊順子、芳野 信、松石豊次郎: 高度肺気腫に対し肺容量減少術が著効したFLNA1遺伝子変異を持つ女児の術後経過報告. 第115回日本小児科学会 2012.4.20-22 (福岡)
- 芳野 信、原田なをみ、沼田早苗、渡邊順子、神田芳郎、澤田 智、岡野善: SNPに基づくハプロタイプ解析による差異OTCアレルの特定. 第115回日本小児科学会 2012.4.20-22 (福岡)
- 高瀬隆太、大平智子、渡邊順子、須田憲治、松石豊次郎、芳野 信: Hunter症候群患児に対するIdur sulfatase補充は心室中隔、左室後壁肥厚を改善する. 第115回日本小児科学会 2012.4.20-22 (福岡)
- 芳野裕子、牛嶋規久美、下村 豪、松岡尚久、岡田純一郎、久野 正、浦部大策、芳野 信、下澤伸行: Zellweger症候群の点状石灰化の形態は鑑別診断上、価値がある. 第115回日本小児科学会 2012.4.20-22 (福岡)
- 東元 健、前田寿幸、八木ひとみ、岡田純一郎、佐々木健作、吉浦孝一郎、渡邊順子、副島英伸: Perlman症候群におけるDIS3L2のエクソン9の欠失はLINE-1間の非相同組換えによって生じる. 第57回日本人類遺伝学会 2012.10.24-27 (東京)
- 井原健二、吉野 信、保科隆之、原田なをみ、石井加奈子、長谷川有紀、渡邊順子、山口清次、原

寿郎: Ornithine transcarbamylase(OTC)欠損症に潜在する凝固異常. 第54回日本先天代謝異常学会2012.11.15-17 (岐阜)

- 芳野裕子、牛嶋規久美、下村 豪、松岡尚久、岡田純一郎、久野 正、浦部大策、渡邊順子、芳野 信、下澤伸行: 膝蓋骨の異常石灰化を契機にZellweger症候群の診断に至った一例. 第54回日本先天代謝異常学会2012.11.15-17 (岐阜)
- 芳野 信: 臨床を学び、臨床に学ぶ 筑豊小児科医会講演会 2012.3.14. (飯塚市)
- 芳野 信: 臨床医学におけるものの考え方 筑後小児科医会セミナー 2012.5. (久留米市)
- 岡田純一郎、芳野 信、渡邊順子: p57KIP2(KIP2)の遺伝子変異を認めたBeckwith-Wiedemann症候群(BWS)の一例 第464回日本小児科学会福岡地方会例会2011.4.9 (福岡)
- 坂西信平、伊藤沙織、今城 透、倉田 毅、竹廣敏史、石堂雄毅、河野 剛、秋田幸大、大部敬三、渡邊順子: 亜鉛欠乏による難治性濃痂疹の一例 第464回日本小児科学会福岡地方会例会2011.4.9 (福岡)
- 芳野 信: 高アンモニア血症の影響 全国尿素サイクル異常症患者と家族の会 第1回勉強会 2011.8.7 (東京)
- 岡田純一郎、東元 健、八木ひとみ、芳野 信、副島英伸、渡邊順子: p57KIP2(KIP2)の遺伝子変異を認めたBeckwith-Wiedemann症候群(BWS)の一例 第34回日本小児遺伝学会学術集会 2011.8.11 (横浜)
- 芳野 信、大平智子、渡邊順子、岡田純一郎、大矢崇志、松石豊次郎: メチルマロン酸血症患者におけるneuroprotection 第114回日本小児科学会学術集会 2011.8.12-14 (東京)
- 原田なをみ、沼田早苗、松浦稔展、遠藤文夫、青木知信、渡邊順子、芳野 信: 遅発型オルニチントランスカルバミラーゼ(OTC)欠損症の遺伝カウンセリング - 16年前の死亡症例にさかのぼって - 第18回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会 2011.10.1 (佐賀)
- 下村 豪、松岡尚久、芳野裕子、岡田純一郎、久野 正、浦部大策、渡邊順子、青木久美子、猪口隆洋、芳野 信: 新生児期発症メチルマロン酸血症に対して急性期血液浄化療法を施行した一例 第7回筑後新生児研究会 2011.10.7 (久留米)
- 芳野 信、渡邊順子、岡田純一郎: 成人後のフェニルケトン尿症患者の社会的アウトカム 第38回日本マス・スクリーニング学会 2011.10.28-29 (福井)
- 芳野 信、渡邊順子、岡田純一郎: 成人後のフェニルケトン尿症患者の社会的アウトカム 第38回日本マス・スクリーニング学会 2011.10.28-29 (福井)
- 芳野 信、原田なをみ、沼田早苗、渡邊順子、神田芳郎、澤田 智、長谷 豊、岡野善行: SNPを用いたハプロタイプ分析による変異OTCアレルの同定 日本人類遺伝学会第56回大会 2011.11.9-12 (千葉)
- 渡邊順子、岡田純一郎、大矢 崇、岡松由記、木村光一、芳野 信、松石豊次郎: 重篤な呼吸障害を合併した異所性灰白質症(PNH)乳児例におけるFLNA遺伝子変異解析 日本人類遺伝学会第56回大会 2011.11.9-12 (千葉)
- 原田なをみ、沼田早苗、渡邊順子、芳野 信、齊藤伸道: Fabry病の遺伝カウンセリング11家系の経験 日本人類遺伝学会第56回大会 2011.11.9-12 (千葉)
- 芳野 信、原田なをみ、沼田早苗、渡邊順子、神田芳郎、澤田 智、長谷 豊、岡野善行: SNPに基づくハプロタイプ解析による変異OTCアレルの特定 第53回日本先天代謝異常学会 2011.11.24-26

(千葉)

- 渡邊順子、矢部普正、加藤俊一、大友孝信、酒井規夫、賀佐伸省、祐川(早川)和子、芳野 信：骨髄移植を受けたI-cell病患者の長期予後 第53回日本先天代謝異常学会 2011.11.24-26(千葉)
- 原田なをみ、沼田早苗、渡邊順子、芳野 信：高分解能融点分析によるOTC遺伝子の変異部分の検出 第53回日本先天代謝異常学会 2011.11.24-26(千葉)
- 小林京子、岡野義行、井原健二、伊藤哲也、芳野 信、渡邊順子、梶 俊策、大浦敏博、長尾雅悦、野口篤子、虫明聡太郎、法橋尚宏：シトリン欠損症患者の倦怠感とQOLの実態と関連に関する研究 第53回日本先天代謝異常学会 2011.11.24-26(千葉)
- 渡邊順子、大平智子、加藤俊一、矢部普正、酒井規夫、大友孝信、芳野 信：骨髄移植を受けたI-cell病患者の長期予後 第15回日本ライソゾーム病研究会 2010.12.10-11(東京)
- 芳野 信、大平智子、岡田純一郎：ライソゾーム蓄積病の病態におけるサイトカインなど生体活性物質の役割 第15回日本ライソゾーム病研究会 2010.12.10-11(東京)
- 弓削康太郎、芳野 信、渡邊順子：ゴーシェ病 III 型に対するムコソルバン療法導入の試み 2013.9.26(東京)
- 渡邊順子、大矢崇志、松石豊次郎、芳野 信：ゴーシェ病III型の骨髄移植症例 平成24年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業班会議 2012.10.4(東京)
- 高瀬隆太、渡邊順子、岡田純一郎、芳野 信：ムコ多糖症 型の酵素補充療法の効果の長期観察 平成23年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業班会議 2011.9.28(東京)
- 渡邊順子、大平智子、加藤俊一、矢部普正、酒井規夫、大友孝信、芳野 信：骨髄移植を受けたI-cell病患者の長期予後 平成22年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業班会議 2010.12.9(東京)

北川照男

- 北川照男, 石毛信之, 穴澤 昭他. 東京都におけるタンデムマス・スクリーニングの実施 検査体制の運用と成績 . 厚生労働科学研究費補助金 成育疾患克服等次世代育成基盤事業、タンデムマス導入による新生児マススクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究(研究代表者山口清次島根大学小児科教授)平成24年度総括・分担研究報告書、p72-75 2013.
- 北川照男, 大和田操, 浦上達彦, 他. 新生児マススクリーニングの今後の飛躍を期待して. 日本マス・スクリーニング学会誌, 23;(2): 29, 2013
- 鈴木 健, 藤川研人, 北川照男他. ライソゾーム病(ファブリー病、糖原病II型、ムコ多糖症I型・II型)スクリーニング法の基礎的検討 酵素活性の反応時間について. 日本マス・スクリーニング学会誌, 23;(2): 67, 2013.
- 田中あけみ, 鈴木 健, 北川照男他. 三施設共同によるライソゾーム病スクリーニング・パイロットスタディ2年6ヶ月のまとめ. 日本マス・スクリーニング学会誌, 23;(2), 68, 2013
- 藤川研人, 石毛信之, 北川照男他. 新生児タンデムマス・スクリーニングにおけるGC/MSの運用成績 東京都における2012年度実績 . 日本マス・スクリーニング学会誌, 23;(2): 82, 2013.
- 石毛信之, 藤川研人, 北川照男他. C5-OH軽度高値が遷延した低出生体重児例について. 日本マス・スクリーニング学会誌, 23; 2: 85, 2013.
- 鈴木健, 石毛信之, 北川照男, 他:CKDとファブリー病スクリーニング. 日本マス・スクリーニング学会誌, 22, 2, 60(172), 2012.

- 石毛信之, 藤川研人, 北川照男, 他: 東京におけるタンデムマス・スクリーニングの導入. 日本マス・スクリーニング学会誌, 22, 2, 71(183), 2012.
- 石毛信之, 藤川研人, 北川照男, 他: 東京におけるタンデムマス・スクリーニングの導入と成績. 日本先天代謝異常学会雑誌, 28, 150, 2012.
- 鈴木健, 石毛信之, 北川照男, 他: ハイリスクスクリーニングで診断されたFabry病患者のCKD stagingについて. 日本先天代謝異常学会雑誌, 28, 162, 2012.
- 桜井恭子, 小西薫, 北川照男, 他: 自動時間分解蛍光測定法 (AutoDELFIA法) によるTSHと17 OHP 測定の検討. 日本マス・スクリーニング学会誌, 21, 2, 70 (170), 2011.
- 石毛信之, 藤川研人, 北川照男, 他: ろ紙血液中アシルカルニチンの保存期間と保存温度による安定性の検討. 日本マス・スクリーニング学会誌, 21, 2, 82 (180), 2011.
- 鈴木健, 石毛信之, 北川照男, 他: 透析患者8,000余例の血漿を用いたファブリー病のスクリーニング. 日本マス・スクリーニング学会誌, 21, 2, 93 (191), 2011.
- 澤田智, 田中あけみ, 北川照男, 他: 新生児スクリーニングにおいて発見されたiduronate-2-sulfatase遺伝子のpseudodeficiency allele. 日本マス・スクリーニング学会誌, 21, 2, 94 (192), 2011.
- 石毛(和田)美夏, 碓井ひろみ, 北川照男, 他: 対照的な経過をたどった新生児期発症の有機酸代謝異常症の2例. 日本先天代謝異常学会誌, 27, 2, 189, 2011.
- 小林正久, 大橋十也, 北川照男, 他:  $\alpha$ -galactosidase A 遺伝子にE66Q変異を持つ男性透析患者の心臓病理所見. 日本先天代謝異常学会誌, 27, 2, 189, 2011.
- 石毛信之, 藤川研人, 北川照男, 他: タンデムマス・スクリーニングで発見されたMCAD欠損症4例のアシルカルニチンプロファイルの経時的変化. 日本先天代謝異常学会誌, 27, 2, 255, 2011.
- 藤川研人, 鈴木健, 北川照男, 他: ライソゾーム病GSD II型、MPS I型およびMPS II型の新生児スクリーニング(第2報). 日本先天代謝異常学会誌, 27, 2, 258, 2011.
- 鈴木健, 藤川研人, 北川照男, 他: 蛍光的免疫捕捉測定法による新生児濾紙血液を用いた糖原病I型(ポンペ病)スクリーニングの研究. 日本先天代謝異常学会誌, 26, 103, 2010.
- 北川照男, 松田一郎, 大和田操, 他: タンデムマス法による新生児マススクリーニングで見つかる有機酸・脂肪酸代謝異常症の理解のために. 特殊ミルク情報, 46, 34-43, 2010.
- 藤川研人, 鈴木健, 北川照男他. 乾燥濾紙血液を用いた糖原病II型(GSD II)スクリーニング法の研究. 日本マス・スクリーニング学会 Vol.20, No2, p46 (154), 2010.

#### 奥山虎之

- 小須賀基通, 木田和宏, 藤直子, 奥山虎之: 5つのライソゾーム酵素同時測定によるライソゾーム病の新たなスクリーニング法. 第116回 日本小児科学会学術集会学会, 広島, 2013.4.19.
- 奥山虎之: ライソゾーム病に対する新生児マス・スクリーニングの現状と今後の課題(シンポジウム). 第40回日本マス・スクリーニング学会学術集会, 大阪, 2013.8.24.
- 藤直子, 小須賀基通, 開山麻美, 荒木尚美, 五十嵐仁美, 木田和宏, 奥山虎之. Liquid Logic Newborn Screening Analyzerを用いた新生児スクリーニング. 第54回 日本先天代謝異常学会, 岐阜, 2012.11.16.
- 小須賀基通, 木田和宏, 藤直子, 小田絵里, 奥山虎之. 乳児型ポンペ病新生児スクリーニング

のパイロットスタディ. 第53回日本先天代謝異常学会・第10回アジア先天代謝異常症シンポジウム、千葉、2011.11.26.

- 小須賀基通、木田和宏、藤直子、小田絵里、奥山虎之. 国立成育医療研究センターにおける新生児型ポンペ病マススクリーニングパイロットスタディの結果報告. 第38回日本マス・スクリーニング学会、福井、2011.10.29.

坪井一哉

- 内富一仁, 村上敬之, 坪井一哉, 山本浩志. ファブリー病の腎障害におけるagalsidase aifaの有効性. 第67回日交通医学会総会; 広島; 2013 June 8-9
- 内富一仁, 村上敬之, 坪井一哉, 山本浩志. ファブリー病の腎障害におけるagalsidase aifaの有効性. 第67回日交通医学会総会; 広島; 2013 June 8-9
- 西山裕乃, 坪井一哉, 山本浩志. ファブリー病におけるLyso-Gb3を用いた治療有効性の検討. 第67回日交通医学会総会; 広島; 2013 June 8-9
- 後藤裕美, 曾村富士, et al. (2012). 当院におけるファブリー病の心症状の特徴と酵素補充療法の効果. 第54回日本先天代謝異常学会総会, 岐阜.
- 山本浩志, 坪井一哉, et al. (2012). 鼻咽腔粘膜から見たファブリー病ヘミ接合体とヘテロ接合体の比較. 第54回日本先天代謝異常学会総会, 岐阜.
- 坪井一哉, 山本浩志, et al. (2012). アガルシダーゼベータからアガルシダーゼアルファに切り替えたファブリー病13症例の検討. 第54回日本先天代謝異常学会総会, 岐阜.
- 田中あけみ, 坂口知子, et al. (2012). ムコ多糖症ハイリスク・スクリーニングの試み. 第39回日本マス・スクリーニング学会学術集会, 東京.
- 山本浩志, 坪井一哉. ファブリー病と聴力障害 聴覚機能からみた酵素補充療法の効果. 第65回日本交通医学会総会. 京都. 2011. 6
- 玉木宣人, 坪井一哉. ファブリー病における腎機能の解析. 第65回日本交通医学会総会. 京都. 2011. 6
- 野々村大地, 坪井一哉. ファブリー病ヘテロ型の臨床的特徴の検討. 第64回日本交通医学会総会; 2010.
- 北田雄太, 荘加静, 坪井一哉, 古田祐子. ファブリー病における眼科的所見と血管病変. 第52回日本先天代謝異常学会総会; 2010.
- 平野雅規, 坪井一哉, 山本浩志. ファブリー病の遺伝子型・表現型関連の臨床的検討. 第64回日本交通医学会総会; 2010.
- 坪井一哉, 鈴木貞夫, 永井正規. 臨床調査個人票を用いたファブリー病患者の疫学調査. 第64回日本交通医学会総会; 2010.
- 坪井一哉, 野々村大地. ファブリー病ヘテロ型24例の臨床的検討. 第52回日本先天代謝異常学会総会; 2010.
- 荘加静, 坪井一哉, 古田祐子. ファブリー病における眼病変と血管病変の臨床的検討. 第64回日本交通医学会総会; 2010.
- 山本浩志, 坪井一哉, 中島努, 内田郁恵, 杉浦綾子, 杉浦彩子, et al. ファブリー病における聴覚障害と同一世代一般住民聴力の比較. 第52回日本先天代謝異常学会総会; 2010.

- 山本浩志, 坪井一哉, 伊藤太. フィブリー病患者における加齢と聴力との関係. 第64回日本交通医学会総会; 2010.
- 山田弘武, 光吉隆真, 坪井一哉. 無記名アンケート調査によるポンペ病患者の臨床的特徴の解析. 第52回日本先天代謝異常学会総会; 2010.
- 光吉隆真, 山田弘武, 坪井一哉. 無記名アンケート調査によるファブリー病患者の臨床的特徴の解析. 第52回日本先天代謝異常学会総会; 2010.

#### 松田純子

- 久樹晴美, 只野 - 有富桂子, 宮川誠, 内田俊也, 松田純子, 戸田年総, 岡崎具樹. : Saposin D欠損マウスの2D-DIGEタンパク質発現解析 - 炭酸脱水酵素(CA2)との関連. 第86回日本生化学会大会. 2013年9月11-13日 横浜.
- 武藤真長, 米重あづさ, 昼沢良介, 吉村真一, 松田純子: プロサポシン強発現マウス胚組織の表現型解析. 第85回日本生化学会大会2012年12月14-16日 福岡.
- 昼沢良介, 武藤真長, 米重あづさ, 吉村真一, 松田純子: プロサポシン強発現マウスの精巢の表現型解析. 第85回日本生化学会大会2012年12月14-16日 福岡.
- 米重あづさ, 北條裕信, 武藤真長, 松田純子: 化学合成サポシンCのグルコシルセラミド $\square$ グルコシダーゼ活性への影響. 第85回日本生化学会大会2012年12月14-16日 福岡.
- 吉川 彩, 武田選理子, 米重あづさ, 松田純子: クラッペ病モデルマウスの免疫組織の病態解析. 第85回日本生化学会大会2012年12月14-16日 福岡.
- 吉川 彩, 武田選理子, 米重あづさ, 松田純子: クラッペ病モデルマウスの免疫系組織の病態解析. 第54回日本先天代謝異常学会2012年11月15-17日 岐阜.
- 渡辺昂, 米重あづさ, 小池礼華, 武藤真長, Hama, H., 鈴木明身, 松田純子: スフィンゴ糖脂質セラミド骨格の構造多様性と生物機能に関する研究. 第54回 日本脂質生化学会2012年6月7-8日 福岡.
- 武藤真長, 米重あづさ, 渡辺 昂, 松田純子: マウス胚発生におけるプロサポシンの役割. 第84回日本生化学会大会, 京都, 2011年9月.
- 米重あづさ, 田野千春, 北條裕信, 松田純子: グルコシルセラミド-b-グルコシダーゼ活性に対する化学合成サポシンCの影響. 第84回日本生化学会大会, 京都, 2011年9月.
- 渡辺 昂, 米重あづさ, 武藤真長, 鈴木明身, Hama H, 松田純子: FA2H欠損マウス消化管におけるスフィンゴ脂質の構造解析. 第84回日本生化学会大会, 京都, 2011年9月.
- 米重あづさ, 田野千春, 北條裕信, 松田純子: グルコシルセラミド- $\square$ -グルコシダーゼ活性に対する化学合成サポシンCの影響. 第16回日本ライソゾーム病研究会, 東京, 2011年9月.
- 米重あづさ, 渡辺 昂, 武藤真長, 松田純子: サポシンC欠損twitcherマウスにおける領域特異的な神経細胞死の解析. BMB2010 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会. 2010年12月 神戸.
- 渡辺 昂, 米重あづさ, 武藤真長, 鈴木明身, 松田純子: マウス消化管におけるスフィンゴ糖脂質のセラミド構造の発現制御. BMB2010 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会. 2010年12月 神戸.
- 武藤真長, 米重あづさ, 渡辺 昂, 松田純子: マウス胚発生におけるプロサポシンの役割. BMB20

10 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会. 2010年12月 神戸.

- 久樹晴美、只野 - 有富桂子、内田俊也、松田純子、岡崎具樹 : Saposin D欠損マウスの多飲・多尿は中枢性の飲水行動異常によって引き起こされる. BMB2010 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会. 2010年12月 神戸.
- 松田純子, 米重あづさ, 武藤真長, 渡辺 昂 : クラッペ病モデルマウスにおけるラクトシルセラミドの蓄積と神経細胞死. 第15回日本ライソゾーム病研究会. 2010年12月 東京.
- 松田純子 : ラクトシルセラミドの蓄積と神経細胞死. 第8回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム. 2010年11月 東京・品川.
- 松田純子、武藤真長、米重あづさ、渡辺 昂 : マウス胚発生におけるプロサポシンの役割. 第52回日本先天代謝異常学会 2010年10月 大阪.

#### 下澤伸行

- 下澤伸行 : 「これだけは伝えたい診断法 ペルオキシソーム病」第9回先天代謝異常学会セミナー、品川、7月2013
- 下澤伸行 : 副腎白質ジストロフィーの造血幹細胞移植療法の現状と問題点シンポジウム「副腎白質ジストロフィー診療の現状と提案-診療ガイドラインの作成に向けて」第54回日本先天代謝異常学会、第11回アジア先天代謝異常学会、岐阜、11月2012
- 下澤伸行 : 副腎白質ジストロフィー 診断・治療のupdate シンポジウム「神経障害をきたす先天代謝異常症 診断・治療のupdate」第54回日本小児神経学会、札幌、5月2012
- 長瀬朋子、玉置也剛、柴田敏之、國貞隆弘、鈴木康之、下澤伸行. iPS細胞を用いたペルオキシソーム病神経系モデル構築の試み. 第53回日本先天代謝異常学会、10回アジア先天代謝異常症シンポジウム、千葉、11月2011
- 長瀬朋子、梶原尚美、鈴木康之、下澤伸行. LC/MSを用いた極長鎖脂肪酸迅速測定の開発. 第53回日本先天代謝異常学会、10回アジア先天代謝異常症シンポジウム、千葉、11月2011
- Dung Chi Vu, N Shimozawa . TH Bui, KN Nguyen, NTB Can, HT Nguyen, LT Nguyen. The phenotype and genotype of 5 Vietnamese patients with X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD). 第53回日本先天代謝異常学会、10回アジア先天代謝異常症シンポジウム、千葉、11月2011
- 神竇理子、濱田悠介、富永康仁、和田和子、酒井規夫、下澤伸行、大園恵一. 生後より痙攣・肝機能異常を呈し、PEX1変異が同定されたZellweger症候群の一例. 第53回日本先天代謝異常学会、10回アジア先天代謝異常症シンポジウム、千葉、11月2011
- 小関道夫、下澤伸行、矢部普正、加藤俊一、加藤剛二、加我牧子、辻 省次、鈴木康之. 副腎白質ジストロフィーに対する造血幹細胞移植効果 : 国内症例の包括的検討. 第53回日本先天代謝異常学会、10回アジア先天代謝異常症シンポジウム、千葉、11月2011.
- 下澤伸行、本田綾子、梶原尚美、桐山寛子、小澤 祥、長瀬朋子、竹本靖彦、鈴木康之. 副腎白質ジストロフィー発症前患者に対する早期介入の取り組み. 第52回日本先天代謝異常学会、第9回アジア先天代謝異常症シンポジウム、大阪、10月2010
- 下澤伸行、本田綾子、梶原尚美、小澤 祥、長瀬朋子、竹本靖彦、杉尾陽子、塚原正人、鈴木康之、Ronald JA Wanders. 岐阜大学ペルオキシソーム病診断システムの展開 プラスマローゲンによる近位肢型点状軟骨異形成症の診断 第52回日本先天代謝異常学会、第9回アジア先天代謝異常

常症シンポジウム、大阪、10月2010

- 長瀬朋子、玉置也剛、梶原尚美、本田綾子、小澤 祥、柴田敏之、國貞隆弘、下澤伸行 ペルオキシソーム病患者皮膚線芽細胞からのiPS細胞樹立。第52回日本先天代謝異常学会、第9回アジア先天代謝異常症シンポジウム、大阪、10月2010。下澤伸行、本田綾子、梶原尚美、小澤 祥、長瀬朋子、竹本靖彦、杉尾陽子、塚原正人、鈴木康之、Ronald JA Wanders。近位肢型点状軟骨異形成症におけるペルオキシソーム病診断システムの有用性 日本人初のRCDP type3同胞例の診断解析 第55回日本人類遺伝学会、大宮、10月2010。

今中常雄

- 有村洸平、守田雅志、Kostsin DG、山崎こず枝、下澤伸行、今中常雄：副腎白質ジストロフィーの治療薬開発：ABCD1タンパク質の安定化を指標としたスクリーニング系の構築。第14回Pharmacology-Hematologyシンポジウム。東京、2013。6
- 池島俊季、川口甲介、守田雅志、今中常雄：ペルオキシソーム膜ABCタンパク質ABCD1の機能解析。第86回日本生化学会大会。横浜、2013。9
- 池島俊季\*、川口甲介、守田雅志、今中常雄：メタノール資化性酵母を用いたペルオキシソーム膜ABCタンパク質ABCD1の発現と機能解析。第12回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム。東京、2013。9
- 岡元拓海、川口甲介、金林峰、守田雅志、今中常雄：ABCトランスポーターABCD4のリソソームへの局在化機構の解析。日本薬学会北陸支部第125回例会。金沢、2013。11
- 松本隼、守田雅志、渡邊康春、長井良憲、小林博司、高津聖志、今中常雄：副腎白質ジストロフィー：レンチウイルスベクターを用いたABCD1遺伝子発現と骨髄移植。日本薬学会北陸支部第125回例会。金沢、2013。11
- 高崎満喜子、渡邊雄一、深澤力也、川口甲介、守田雅志、大熊芳明、今中常雄：ペルオキシソーム膜形成因子Pex3pと相互作用するタンパク質の検索。日本薬学会北陸支部第125回例会。金沢、2013。11
- 兵藤沙織、川口甲介、守田雅志、今中常雄：リソソーム膜タンパク質LMBD1の異種発現系の構築。日本薬学会北陸支部第125回例会。金沢、2013。11
- 岡元拓海、川口甲介、金林峰、守田雅志、今中常雄：ABCトランスポーターABCD4のリソソームへの局在化におけるLMBD1の役割。第35回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム。東京、2013。11
- Okamoto T, Kawaguchi K, Morita M, Imanaka T: Subcellular localization of ABC transporter ABCD4 is regulated by LMBD1. 第36回日本分子生物学会年会。神戸、2013。12
- Kostsin DG, Morita M, Yamazaki K, Arimura K, Shimozawa N, Imanaka T: Establishment and application of fluorescence-based assay for screening of chemical compounds that stabilize mutant ABCD1 protein responsible for adrenoleukodystrophy. 第86回日本生化学会大会。横浜、2013。9
- 山崎こず枝、守田雅志、小出玲爾、下澤伸行、今中常雄。副腎白質ジストロフィー患者の新規ABCD1遺伝子変異 -二カ所にミスセンス変異をもつABCD1 タンパク質の発現解析-。第13回Pharmacology-Hematologyシンポジウム。2012, 6, 15-16, 東京。



- 池島俊季, 川口甲介, 赤池宗輔, 守田雅志, 今中常雄. メタノール資化性酵母*Pichia pastoris*発現系を用いたABCタンパク質サブファミリーDの発現系構築. 第11回次世代を担う若手ファーマ・バイオフィォーラム. 2012, 9, 15-16, 福岡.
- 池島俊季, 川口甲介, 守田雅志, 今中常雄: ペルオキシソーム膜ABCタンパク質ABCD1の構造と機能. 第34回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム. 2012, 11, 15-16, 京都.
- Morita M., Kostsin D.G., Yamazaki K., Arimura K., Shimozawa N., and Imanaka T. A screening system to discover chemical compounds that stabilize missense mutant ABCD1 protein. 第54回日本先天代謝異常学会総会・第11回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 2012, 11, 15-18, 岐阜.
- 李朝香, 朝日彰子, 川口甲介, 守田雅志, 今中常雄. ABCタンパク質サブファミリーDの細胞内局在性-ヒトと線虫での共通性-. 日本薬学会北陸支部第124回例会. 2012, 11, 18, 富山.
- 野村芽衣子, 友廣岳則, 池島俊季, 今中常雄, 畑中保丸. 光反応性脂肪酸プローブによる脂肪酸結合タンパク質のラベル化. 日本薬学会北陸支部第124回例会. 2012, 11, 18, 富山.
- Morita M., Yamazaki K., Kawaguchi K., Shimozawa N., Koide R., and Imanaka T. A novel double mutation in ABCD1 gene in a patient with X-linked adrenoleukodystrophy: Analysis of the stability and function of the mutant ABCD1 protein. 第35回日本分子生物学会年会. 2012, 12, 11-14, 福岡.
- Morita M., Kostsin, D. G., Yamazaki K., Shimozawa N., and Imanaka T. A Screening system to discover chemical compounds that stabilize ABCD1 protein with missense mutation. 第35回日本分子生物学会年会. 2012, 12, 11-14, 福岡.
- 池島俊季, 川口甲介, 赤池宗輔, 守田雅志, 今中常雄. メタノール資化性酵母*Pichia pastoris*ペルオキシソーム膜ABCタンパク質ABCD1の発現系構築. 第85回日本生化学会大会. 2012, 12, 14-16, 福岡.
- 李朝香, 朝日彰子, 赤池宗輔, 柏山恭範, 守田雅志, 安川洋生, 今中常雄. ABC タンパク質サブファミリーD の細胞内局在化におけるN末端疎水性アミノ酸配列の役割. 日本生化学会北陸支部第29回大会. 金沢, 2011. 5
- 守田雅志. 極長鎖脂肪酸代謝異常と副腎白質ジストロフィー. 第12回Pharmaco-Hematologyシンポジウム. 富山, 2011. 6
- 谷口範壮, 新保沙織, 守田雅志, 今中常雄. ABCD1 欠損マウス脳由来初代培養アストロサイトの極長鎖脂肪酸代謝と遺伝発現解析. 第12回Pharmaco-Hematologyシンポジウム. 富山, 2011. 6
- 守田雅志, 新保沙織, 今中常雄. ペルオキシソーム膜ABCタンパク質ABCD1欠損アストロサイトの遺伝子発現解析. 第84回日本生化学会大会, 京都, 2011. 9
- 上杉泰介, 柏山恭範, 今中常雄. 小胞体膜上に存在するABCタンパク質P70R(ABCD4)の存在状態の解析. 第84回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
- 李朝香, 朝日彰子, 赤池宗輔, 柏山恭範, 守田雅志, 安川洋生, 今中常雄. ABCタンパク質サブファミリーDの細胞内局在化機構-ヒト, 線虫及び粘菌での共通性-. 第84回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
- 李朝香, 朝日彰子, 阪口雅郎, 柏山恭範, 今中常雄. ABCタンパク質サブファミリーDのオルガネラ膜への選別輸送機構:N末端マルチオルガネラ移行シグナルの解析. 第10回次世代を担う若手ファーマ・バイオフィォーラム. 仙台, 2011. 10

- 上杉泰介, 赤池宗輔, 柏山恭範, 守田雅志, 加藤博章, 今中常雄. 小胞体膜上に局在するABCD4 (P70R)の存在様式と機能. 第33回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム. 岡山, 2011. 11
- 上杉泰介, 柏山恭範, 今中常雄. 小胞体膜上に存在するABCタンパク質P70R (ABCD4)の存在状態の解析. 日本薬学会北陸支部平成23年度第1回総会及び第123回例会. 金沢, 2011. 11
- 守田雅志, 新保沙織, 浜田知世, 今中常雄. 副腎白質ジストロフィーモデルマウス由来初代培養アストロサイトの極長鎖脂肪酸代謝と遺伝子発現解析. 第53回日本先天代謝異常学会総会・第10回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 千葉2011.1
- Uesugi T, Kashiwayama Y, Imanaka T. Complex formation of ABC protein, P70R/ABCD4 on endoplasmic reticulum membranes. 第34回日本分子生物学会年会. 横浜, 2011. 12

#### 加我牧子

- 加我牧子, 軍司敦子, 中村雅子, 崎原ことえ, 稲垣真澄: 聴覚失認の神経生理学. 第43回日本臨床神経生理学会学術大会. 高知, 2013. 11
- 加我牧子: 発達障害診断の課題. 第118回日本心身医学会関東地方会, 東京, 2011-2-19.
- 宮内彰彦, 長嶋雅子, 森本哲, 稲垣真澄, 加我牧子, 下澤伸行, 山形崇倫, 桃井真理子: 内包から延髄の錐体路病変で発症した副腎白質ジストロフィーの1例. 第53回日本小児神経学会総会, 神奈川, 2011. 5. 26-28.

#### 横山和明

- 西澤千穂、濱弘太郎、永井徹、池田和貴、守田雅志、唐澤健、原田史子、谷川和也、佐藤典子、田口良、下澤伸行、今中常雄、井上圭三、横山和明 極長鎖脂肪酸含有脂質の定量解析による2つのペルオキシソーム病の比較、第133回日本薬学会、神奈川、2013. 3
- 西澤千穂、永井徹、池田和貴、守田雅志、唐澤健、原田史子、谷川和也、佐藤典子、田口良、下澤伸行、今中常雄、井上圭三、横山和明. 第84回日本生化学会大会. 京都, 2011. 10

#### 大澤真木子、石垣景子

- 石垣景子: 小児型Pompe病の診断と治療、第30回小児神経筋疾患懇話会 於東京国際フォーラム, 東京 2013年8月24日
- 石垣景子、大澤真木子: Pompe病における骨格筋画像評価、2011/06/06 東京. 東京女子医大筋疾患学術講演会
- 石垣景子, 齊藤崇, 三橋里美, 小田絵里, 村上てるみ, 佐藤孝俊, 尾内幸子, 桑鶴良平, 埜中征哉, 大澤真木子: 小児型Pompe病患者2例の酵素補充療法治療経過と骨格筋画像評価、東京. 第6回日本ポンペ病研究会. 2011/06/19
- 大澤真木子、石垣景子、齊藤崇: 8生殖と小児医療 8 - S - 8 シンポジウム小児疾患の予防治療医学の最先端 8 S 8 4 神経筋疾患における治療の進歩第28回日本医学会総会2011、9月東京
- 石垣 景子、大澤真木子: ランチョンセミナー「症例から学ぶライソゾーム病の診断と治療 3. ポンペ病」東京. 第53回日本先天代謝異常学会総会. 2011/11/24
- 石垣景子、大澤真木子: モーニングセミナー「小児科医が見逃してはならない治療可能な希少疾病 3. ポンペ病」福岡第115回日本小児科学会. 2012/04/21
- 大澤真木子: ランチョンセミナー 6 Pompe病の診断と治療、札幌、第54回日本小児神経学会総

会、2012/5/18

高村歩美

- 高村歩美, 藤崎美和, 井田博幸, 大橋十也, 衛藤義勝. PPT1 遺伝子変異による若年型神経セロイドリポフスチン症の発症機構の解明. 日本人類遺伝学会 第58回大会. 宮城, 2013.11
- 高村歩美, 酒井規夫, 新寶理子, 山本真也, 成田 綾, 大野耕策, 井田博幸, 衛藤義勝. The usefulness of preliminary diagnostic procedure of Niemann-Pick type C - Filipin test in blood smear. ニーマンピック病C型シンポジウム 東京 - 診断と治療 -. 東京, 2013.4

## 知的財産権の出願・登録状況

鈴木義之

- Garcia Fernandez, JM, Ortiz Mellet C, Nanba E, Higaki K, Suzuki Y: Utilizacion de derivados biciclicos de 1-deoxygalactonojirimycina en la preparacion de un medicamento para el tratamiento de enfermedades relacionadas cn beta-enzimas galactosidasas lisosomicas mutantes humanas (Use of bicyclic derivatives of 1-deoxygalactonojirimycin for the formulation of drugs against lysosomal storage disorders associated to mutations on the acid  $\beta$ -galactosidase), ES P201232024 (December 26, 2012).

酒井規夫

- 特願2011-101560 (発明の名称: リソソーム病治療用医薬組成物) として2011年4月28日に出願

難波栄二

- Nanba E, Higaki K, Suzuki Y: Utilizacion de derivados biciclicos de 1-deoxygalactonojirimycina en la preparacion de un medicamento para el tratamiento de enfermedades relacionadas cn beta-enzimas galactosidasas lisosomicas mutantes humanas (Use of bicyclic derivatives of 1-deoxygalactonojirimycin for the formulation of drugs against lysosomal storage disorders associated to mutations on the acid  $\beta$ -galactosidase), ES P201232024 (December 26, 2012).

今中常雄

- 特許第5049329号. 発明名称: ペルオキシソーム脂肪酸 $\beta$ 酸化系活性化物質の検出方法. 特許権者: 今中常雄, 株式会社ツムラ. 発明者: 今中常雄, 林 利光, 守田雅志. 登録日: 平成24年7月27日

## 施策への反映

下澤伸行

- 24年度保険収載改訂にて先天代謝異常学会を通じて、脂肪酸分析の保険収載に寄与