

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患政策研究事業

ライソゾーム病(ファブリ病含む)に関する調査研究
平成 26 年度～28 年度 総合研究報告書

研究代表者 衛藤義勝

平成 29(2017)年 3 月

目次

総合研究報告書

- 1) 「ライソゾーム病・ペルオキシソーム病の調査研究」
研究代表者 衛藤 義勝(東京慈恵会医科大学医学部名誉教授)
- 2) ライソゾーム病・ペルオキシソーム病の全国疫学調査
酒井 規夫(大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻教授)
- 3) ライソゾーム病・ペルオキシソーム病の臨床研究
高橋 勉(秋田大学大学院医学系研究科教授)
- 4) ライソゾーム病におけるミトコンドリア呼吸鎖機能の検討
高柳 正樹(帝京平成大学地域医療学部看護学科教授)
- 5) ライソゾーム病(ファブリ病含む)に関する調査研究
難波 栄二(鳥取大学生命機能研究支援センター教授)
- 6) ムコ多糖症・副腎白質ジストロフィーの早期診断に関する研究
鈴木 康之(岐阜大学医学教育開発研究センター教授)
- 7) ムコ多糖症 型の構造学的研究とイズロネート 2-スルファターゼ変異のデータベース構築
櫻庭 均(明治薬科大学臨床遺伝学教授)
- 8) ムコ多糖症 II 型に対する診療ガイドライン作成の試み
奥山 虎之(国立成育医療研究センター臨床検査部長)
- 9) ファブリー病の診療ガイドライン作成のための予備調査(総括)
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・血液内科医長)
- 10) スフィンゴ糖脂質代謝と神経変性疾患のクロストーク
松田 純子(川崎医科大学病態代謝学教授)
- 11) ペルオキシソーム病診断実績と副腎白質ジストロフィーガイドラインの作成
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)
- 12) ライソゾーム病・ペルオキシソーム病診断の手引きならびに副腎白質ジストロフィー診療ガイドラインの作成
今中 常雄(富山大学大学院医学薬学研究部教授)
- 13) 副腎白質ジストロフィーのガイドライン作成
小林 博司(東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター准教授)
- 14) 小児副腎白質ジストロフィー症の早期診断法の確立と早期治療の効果
加我 牧子(東京都立東部療育センター院長)
- 15) 副腎白質ジストロフィーガイドラインの作成
横山 和明(帝京大学薬学部教授)
- 16) ライソゾーム病(ファブリ病含む)に関する調査研究
渡邊 順子(久留米大学 GC/MS 医学応用研究施設准教授)
- 17) 希少疾病の診療ガイドライン作成
石垣 景子(東京女子医科大学医学部小児科講師)
- 18) ライソゾーム病の診断、治療のガイドライン調査研究 新規治療法の開発(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)
- 19) **ALD**、**MLD** 等のライソゾーム病遺伝子治療調査研究
大橋 十也(東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター教授)
- 20) 「ムコ多糖症 II 型の診療ガイドライン」「ポンペ病の診療ガイドライン」「ファブリー病診療ガイドライン」に関する研究
小林 正久(東京慈恵会医科大学小児科講師)

2 1) **Pompe** 病の調査研究

福田冬季子 (浜松医科大学准教授)

2 2) ファブリー病 (**Fabry Disease**) の診断指針の研究

中村 公俊 (熊本大学大学院生命科学研究部小児科学分野准教授)

2 3) ムコ多糖症 II 型における重症度予測因子に関する調査研究

濱崎 考史 (大阪市立大学医学部小児科)

2 4) オートファジーとライソゾーム病の関連について

柳澤比呂子 (脳神経疾患研究所 先端医療研究センター & 遺伝病研究所研究員)

2 5) 緩徐な経過を辿る成人例におけるエキソーム解析による **d**-二頭酵素欠損症の診断

辻 省次 (東京大学医学部附属病院神経内科教授)

2 6) 日本人ゴーシェ病の臨床表現型、酵素補充療法に関する研究

井田博幸 (東京慈恵会医科大学小児科教授)

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
平成 26 年～28 年度総合研究報告書

「ライソゾーム病・ペルオキシゾーム病の調査研究」

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

ライソゾーム病並びに ALD を含むペルオキシゾーム病の調査表の改定並びに Web ページでの改定に貢献した。（平成 26 年度～27 年度）平成 27～28 年度はライソゾーム病（LSD）並びにペルオキシゾーム病（PD）ALD の患者 QOL の実態は、不明な点が多いことから、今回約 13,300 件全国 200 床以上の病院診療科へのアンケート調査を行い、各 LSD、PD の患者数を明らかにした。平成 28 年度は二次調査の内容を検討した。平成 26 年度にはライソゾーム病並びに ALD の診断の手引きを作成し、現場の難病指定医の参考資料をした。平成 28 年度には、ムコ多糖症診療の手引きを出版した。平成 27～28 年度にはマイズの手法に基づく ALD、ムコ多糖症 II 型、ポンベ病診療ガイドラインを作成し、出版した。平成 28 年度はファブリ病診療ガイドライン作成準備にとりかかった。ガイドライン作成は、今後のライソゾーム病診療に大変重要である。ライソゾーム病、ALD などの疾患を広く啓蒙する為に毎年 1 月にライソゾーム病、ALD に関する市民公開フォーラムを開催している。今後、遺伝子治療も視野に入れ、毎年 1 月に国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムを開催し、国民の啓蒙活動をしており、大きな成果を挙げている。ライソゾーム病、ALD 診療拠点病院構想に関して、今後作成準備を進めている。

研究分担研究者氏名・所属機関名

所属機関・部局・職名

氏名

1) 酒井規夫
大阪大学大学院医学研究科保健学専攻 教授
2) 高橋勉
秋田大学大学院医学系研究科小児科学講座
教授
3) 高柳正樹
帝京平成大学地域医療学部看護学科教授
4) 辻省次
東京大学医学部附属病院教授
5) 難波栄二
鳥取大学生命機能研究支援センター教授
6) 鈴木康之
岐阜大学医学教育開発研究センター教授
7) 桜庭均
明治薬科大学臨床遺伝学教室教授
8) 奥山虎之
国立成育医療研究センター臨床検査部長

9) 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
センター長
10) 松田純子
川崎医科大学教授
11) 下澤伸行
岐阜大学生命科学総合研究支援センター教授
12) 今中常雄
富山大学大学院医学薬学研究部教授
13) 小林博司
東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
遺伝子治療研究部准教授
14) 加我牧子
東京都立東部療育センター院長
15) 横山和明
帝京大学薬学部教授
16) 渡邊順子
久留米大学 GC/MS 医学応用研究施設准教授
17) 石垣景子
東京女子医科大学小児科学講座講師

- 18) 成田綾
鳥取大学医学部脳神経小児科助教
- 19) 井田博幸
東京慈恵会医科大学小児科教授
- 20) 大橋十也
東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター
遺伝子治療研究部教授
- 21) 小林正久
東京慈恵会医科大学小児科講師
- 22) 福田冬季子
浜松医科大学小児科准教授
- 23) 中村公俊
熊本大学大学院生命
科学研究部小児科学分野准教授
- 24) 濱崎考史
大阪市立大学大学院医学研究科講師
- 25) 柳澤比呂子
一般財団法人脳神経疾患研究所先端医療研究
センター&遺伝病治療研究所研究員
- 26) 田中あけみ
大阪市立大学大学院医学研究課准教授
- 27) 北川照男
東京都予防医学協会理事長
- 28) 遠藤文夫
熊本大学大学院生命科学研究部小児科学教授
- 29) 辻嘉代子
一般財団法人脳神経疾患研究所先端医療研究
センター&遺伝病治療研究所研究員

A. 研究目的

ライソゾーム病並びに ALD は、指定難病として 2009 年に指定された。その後新しく平成 26 年 5 月に成立した「難病の患者に対する医療等に関する法律」を受け、平成 27 年 1 月 1 日から新たな難病医療費助成制度が実施され、指定難病も大幅に増加している。このような状況下難病指定医がライソゾーム病 ALD の診断、治療が出来るように、平成 26 年度、27 年度にライソゾーム病の診断の手引き書を作成した。更にライソゾーム病、ALD、ペルオキシゾーム病の Web 上での臨床個人調査表の内容も検討して Web 登録にも貢献した。又、全国のライソゾーム病の患者数の実状調査を 15 年ぶりに調査研究を行った。平成 28 年度はマインズに基づく診療ガイドラインをムコ多糖症 II 型、ALD、ポンペ病で作成出版した

。本ガイドラインは広く難病指定医の診療に役立つことが期待される。患者との市民公開フォーラムの開催、遺伝子治療に向けてのフォーラムの開催など含めライソゾーム病&ペルオキシゾーム病に対する総合的な啓蒙活動を行った。ライソゾーム病、ALD の拠点病院の今後の対応も検討した。

B. 研究方法

1) 我が国のライソゾーム病&ALD 患者数の実態調査：全国 200 床以上の小児科、循環器科、神経内科、神経科の 4 科、病床数別に選択) および全 13304 施設(小児科、循環器科、神経内科、神経科、整形外科、腎臓内科、血液内科、20 床以上の全ての病院)にアンケート葉書を送付し、計 1041 名の患者数を見出しているが、現在重複などの検討をしている。又、調査に向けての検討事項を討議している。

2) マインズの手法に伴うライソゾーム病診療ガイドラインをムコ多糖症 型(責任者：奥山虎之) ALD(責任者：下澤伸行)並びにポンペ病(責任者：大橋十也、石垣景子)に関して診療ガイドラインテキストを作成した。

3) ライソゾーム病、ALD の市民公開フォーラムを毎年 1 月東京慈恵会医科大学 3 階講堂で開催

4) 第 5~7 回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムを毎年開催し、ライソゾーム病の遺伝子治療啓蒙活動を行った。

5) ALD 遺伝子治療推進事業開催を行い、ALD の遺伝子治療推進に向けて活動している。

(倫理面への配慮)

本研究は個人情報、患者情報を扱うことなく、介入などもしなかったため、クリアすべき倫理的問題はない。

C. 研究結果

ライソゾーム病並びに ALD を含みペルオキシゾーム病の調査表の改定並びに Web ページでの改定に貢献し、難病指定医の診療に貢献した(平成 26 年度~27 年度) 平成 27~28 年度はライソゾーム病(LSD)並びにペル

オキシゾーム病 (PD)、ALD の患者 QOL の実態は不明な点が多いことから、約 13,300 件全国 200 床以上の病院診療科 (小児科、循環器科、神経内科、神経科の 4 科、病床数別に選択) および全 13304 施設 (小児科、循環器科、神経内科、神経科、整形外科、腎臓内科、血液内科、20 床以上の全ての病院) にアンケート葉書を送付、アンケート調査を行い各 LSD、PD の患者数を明らかにした。本調査でゴーシェ病 85 名、ファブリ病 454 名、ムコ多糖症 II 型 155 名、I 型 42 名、Niemann-Pick C 病 32 名等ライソゾーム病 972 名又 ALD 108 名などペルオキシゾーム病など 111 名を見出し、平成 28 年度は二次調査の内容を検討した。平成 26 年度には、ライソゾーム病並びに ALD の診断の手引きを作成し、現場の難病指定医の参考資料をした。

平成 28 年度にはムコ多糖症診療の手引きを出版した。平成 27~28 年度には、マインズ的手法に基づく CQ を作成し、ALD、ムコ多糖症 II 型、ポンペ病診療ガイドラインを作成し出版した。平成 28 年度はファブリ病診療ガイドライン作成準備にとりかかった。ガイドライン作成は多くの一般診療医、難病指定医による調査表記載にも大きく貢献する。ライソゾーム病、ALD などの疾患を広く一般に啓蒙する為に毎年 1 月にライソゾーム病、ALD に関する市民公開フォーラムを開催。現在遺伝子治療も国際的に進歩していることから、毎年 1 月に国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムを開催し、国民への遺伝子治療に対する啓蒙活動をして、大きな成果を挙げている。ライソゾーム病、ALD 診療拠点病院構想に関して今後作成準備を進めている。

D . 考察

1 . ライソゾーム病 31 疾患並びに ALD ペルオキシゾーム病の調査表の改定、Web 登録の内容に関して改定に貢献し、より正確なデータを取れるように各項目を詳細に検討した。
2 . ライソゾーム病、ALD、ペルオキシゾーム病の全国患者実態調査の一次調査を行い、我が国のライソゾーム病、ペルオキシゾーム病の現在の実態を明らかにした。調査方法は名古屋大学公衆衛生の鈴木教授の指導を受けながら調査研究 方法を検討し、二次調査の

内容を検討した。今後ライソゾーム病患者などの QOL を明らかにすることを旨とする為の基礎データとなる。

3 . ライソゾーム病・ペルオキシゾーム病の内、ムコ多糖症の診療手引書の作成並びにエビデンスに基づく ALD の診療ガイドライン作成にはいくつかの CQ を作成し、マインズを用いた作成法に関しては数回に渡り日本医療能評価機構 森實敏夫先生に指導を受けて MPSII 型、ALD、ポンペ病診療ガイドライン作成し、日本先天代謝異常症学会会員、全国小児科教授など関係部署に配布し、更にホームページにも掲載した。今後日本先天代謝異常学会の承認を受け出版することを旨としている。本ガイドラインが広く難病指定医に利用されることを期待する。

4 . ライソゾーム病を中心に市民公開フォーラムを開催し、ライソゾーム病患者への啓蒙活動、国民への情報発信を行った。今後の難病調査研究の参考資料とした。

5 . ライソゾーム病、特に MPSII 型をはじめ ALD など遺伝子治療が国際的に開始され始めたことから国際協力遺伝病遺伝子治療を平成 29 年 1 月 19 日東京で開催し、患者にも啓蒙活動を行った。

E . 結論

「ライソゾーム病・ペルオキシゾーム病の診断、治療にむけて活動し、わが国のライソゾーム病、ALD、ペルオキシゾーム病患者数の実態を解明し、難病指定医への診療活動に貢献。又、国民へのライソゾーム病理解の為の啓蒙活動を行った。

F . 研究発表

- 1) Kuranobu N, Murakami J, Okamoto K, Nishimura R, Murayama K, Takamura A, Umeda T, Eto Y, Kanzaki S. Cholesterol ester storage disease with a novel LIPA mutation (L264P) that presented massive hepatomegaly: A case report. *Hepatology Res.* 2016 Mar;46(5):477-82.
- 2) Yokoi T, Yokoi K, Akiyama K, Higuchi T, Shimada Y, Kobayashi H, Sato T, Ohteki T, Otsu M, Nakauchi H, Ida H, Ohashi T. Non-myeloablative preconditioning with ACK2 (anti-c-kit antibody) is efficient in bone marrow transplantation for murine models of mucopolysacchari

dosis type II. *Mol Genet Metab.* 2016 No v;119(3):232-238.

3) Sato Y, Kobayashi H, Higuchi T, Shimada Y, Ida H, Ohashi T. TFEB overexpression promotes glycogen clearance of Pompe disease iPSC-derived skeletal muscle. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2016 Aug 10;3:16054.

4) Sato Y, Kobayashi H, Higuchi T, Shimada Y, Ida H, Ohashi T. Metabolomic Profiling of Pompe Disease-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes Reveals That Oxidative Stress Is Associated With Cardiac and Skeletal Muscle Pathology. *Stem Cells Transl Med.* 2016 Aug 18. pii: sctm.2015-0409.

5) Pastores GM, Turkia HB, Gonzales D E, Ida H, Tantony AAG, Qin Y, Dirh Q, Zimran A. Development of anti-velagulic acid antibodies in clinical trial-treated patients with Gaucher disease. *Blood Cells, Mol and Dis.* 59:37-43, 2016

6) 小林博司 ガングリオシド蓄積症 ~ GM1・GM2ガングリオシドーシス 小児内科2016 vol.48増刊 小児疾患診療のための病態生理3 改訂5版 p158-164

7) 小林博司 筋型糖原病 ~ Pompe病を中心に 小児内科2016 vol.48 No.12 特集 小児の筋疾患 p1972-1977

8) Sato Y, Kobayashi H, Higuchi T, Shimada Y, Era T, Kimura S, Eto Y, Ida H, Ohashi T. Disease modeling and lentiviral gene transfer in patient-specific induced pluripotent stem cells from late-onset Pompe disease patient. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2015 Jul 8;2:15023.

9) Saito O, Kusano E, Akimoto T, Asano Y, Kitagawa T, Suzuki K, Ishige N, Akiba T, Saito A, Ishimura E, Hattori M, Hishida A, Guili C, Maruyama H, Kobayashi M, Ohashi T, Matsuda I, Eto Y. Prevalence of Fabry disease in dialysis patients: Japan Fabry disease screening study (J-FAST). *Clin Exp Nephrol.* 2016 Apr;20(2):284-93. doi: 10.1007/s10157-015-1146-7.

10) Shimada Y, Wakabayashi T, Akiyama K, Hoshina H, Higuchi T, Kobayashi H, Eto Y, Ida H, Ohashi T. A method for measuring disease-specific iduronic acid from the non-reducing end of glycosaminoglycan in mucopolysaccharidosis type II mice. *Mol Genet Metab.* 2016 Feb;117(2):140-3.

11) Wakabayashi T, Shimada Y, Akiyama K, Higuchi T, Fukuda T, Kobayashi H, Eto Y, Ida H, Ohashi T. Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy Corrects Neuroopathic Phenotype in Murine Model of M

ucopolysaccharidosis Type II. *Hum Gene Ther.* 2015 Jun;26(6):357-66.

12) Umeda T, Hashimoto S, Noriyasu K, Takamura A, Fujisaki M, Eto Y. Identification of a novel GLA mutation (F69L) in a Japanese patient with late-onset Fabry disease. *Hum Genome Var.* 2015 Nov 12;2:15044.

13) Shimada Y, Nishimura E, Hoshina H, Kobayashi H, Higuchi T, Eto Y, Ida H, Ohashi T. Proteasome Inhibitor Bortezomib Enhances the Activity of Multiple Mutant Forms of Lysosomal α -Glucosidase in Pompe Disease. *JIMD Rep.* 2015;18:33-9.

14) Grabowski GA, Zimran A and Ida H. Gaucher disease type 1 and 3. Phenotypic characterization of large populations from the ICGG Gaucher Registry. *Am J Hematology* 90:12-18, 2015

15) Sato Y, Kobayashi H, Sato S, Shimada Y, Fukuda T, Eto Y, Ohashi T, Ida H. Systemic accumulation of undigested lysosomal metabolites in an autopsy case of mucopolipidosis type II; autophagic dysfunction in cardiomyocyte. *Mol Genet Metab.* 2014 Jul;112(3):224-8.

16) Higuchi T, Kawagoe S, Otsu M, Shimada Y, Kobayashi H, Hirayama R, Eto K, Ida H, Ohashi T, Nakauchi H, Eto Y. The generation of induced pluripotent stem cells (iPSCs) from patients with infantile and late-onset types of Pompe disease and the effects of treatment with acid- α -glucosidase in Pompe's iPSCs. *Mol Genet Metab.* 2014 May;112(1):44-8.

17) Dairaku T, Iwamoto T, Nishimura M, Endo M, Ohashi T, Eto Y. 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.* 2014 Feb;111(2):193-6.

【学会発表】

1) 衛藤義勝, 板垣里奈, 柳沼恵子, 柳澤比呂子, 會田隆志, 関 晴朗, 山本悌司, 三井純: SPG11 (Spastic Paraplegia) - 著明な色素沈着を呈し Adrenoleukodystrophy (ALD) が疑われた症例

第58回日本先天代謝異常学会 (2016.10.27-29 東京)

2) 尾形仁, 小林正久, 金城栄子, 樋口孝, 衛藤義勝, 大橋十也, 井田博幸: 日本人ファブリー病患者の遺伝子変異と臨床病型の相関についての研究

第58回日本先天代謝異常学会 (2016.10.27-29
東京)

3) Hiroshi Kobayashi Sayoko Izuka Takahiro Fukuda et al. (OR48) : Lentiviral Mediated Gene Therapy & Zinc Finger Nuclease Mediated Gene Editing for Krabbe disease

The 22nd Annual Meeting of Japan Society of Gene and Cell Therapy. 2016, Tokyo.

4) Hiroshi Kobayashi (S1-2) : Ex-vivo Gene Therapy, as a promising approach for the treatment of central nervous system of Mucopolysaccharidosis type II.

The 22nd Annual Meeting of Japan Society of Gene and Cell Therapy. 2016, Tokyo.

5) Yoshikatsu Eto, Takeo Iwamoto, Ayumi Takamura, Miwa Fujisaki, Masayo Kashiwazaki, Kaoru Eto, Norio Sakai : Plasma Oxysterol and Lysosphingomyelin-509 as Potential Biomarkers for Japanese Patients with Niemann-Pick C disease measured by Tandem MS and their Changes with Miglustat Treatment

13th International Congress of Human Genetics. (April 3-7, 2016, Kyoto, Japan)

6) Masahisa Kobayashi, Toya Ohashi, Yoshikatsu Eto, Hiroyuki Ida. : Mutation spectrum of Japanese patients with Fabry disease – Correlation between genotype and phenotype.

13th International Congress of Human Genetics. (April 3-7, 2016, Kyoto, Japan)

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

なし

ライソゾーム病・ペルオキシソーム病の全国疫学調査

分担研究者： 酒井規夫

大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻

研究要旨

ライソゾーム病・ペルオキシソーム病は希少難病の代表的疾患群であるため、その病態生理の解明や治療法の開発には症例の集積が必要である。そのために本研究ではライソゾーム病・ペルオキシソーム病の全国疫学調査の実施に向けて、その方法論の検討を行った。この3年間で、H13年以来となる全国調査の実施に向けて調査内容を検討し、調査を一次調査、二次調査に分けて調査表を作成し、一次調査のまとめを行った。

全国疫学調査班員構成

酒井規夫，松田純子，坪井一哉，井田博幸，遠藤文夫，衛藤義勝

研究協力者

掛江直子，中村好一，橋本修二，鈴木貞夫

A．研究目的

ライソゾーム病・ペルオキシソーム病は希少難病の疾患群である。したがって、その病態生理の解明や治療法の開発には、個々の症例の集積が必要である。近年、ライソゾーム病・ペルオキシソーム病の予後は診断技術の進歩や病態生理の解明、新しい治療法の開発により多様化している。こうした変化に対応し、将来を予測した適切な難病対策を進めるためには、できるだけ正確な患者数の把握、個々の患者の臨床像やQOLの把握、分析を行うことを目的とした。

B．研究方法

ライソゾーム病、ペルオキシソーム病患者に関する、全国疫学調査の方法については、厚生労働省難治性疾患克服研究事業、特定疾患の疫学に関する研究班（主任研究者 永井正規）によって作成された、「難病の患者数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル（第2版）編著 川村 孝」を参考にして、

難病疫学班の中村好一先生，橋本修二先生，鈴木貞夫先生との審議の上検討した。

また病院データベースとしては株式会社ウェルネスのものを採用した。

C．研究結果

一次調査；まず，全国調査を行うにあたり，ライソゾーム病，ペルオキシソーム病を1例でも過去3年間（2013年4月1日から2016年3月31日）の期間に診療した医師に一次調査を行うこととした。送付先の病院，診療科については，上記マニュアルに従った。

調査対象診療科の選定；ライソゾーム病，ペルオキシソーム病の症状は多岐にわたるため，診療科の完全な選定は困難である。しかしながら小児科とともに，医療法で標榜の認められている診療科として循環器科，神経内科，神経科を対象とすることにした。また，この診療科では疾患を十分カバーできない可

能性があると考え、整形外科、腎臓内科、循環器内科も対象とした。

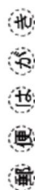
調査対象機関の選定；前述のマニュアルに従い、上記7診療科のいずれかを有する病院について、下記4条件を満たすように調査対象機関を設定した。

- (1) 全病院が対象
- (2) 抽出率は全体で約20%
- (3) 抽出は層化無作為抽出とし、層は8つ
大学医学部(医科大学)附属病院
500床以上の一般病院
400～499床の一般病院
300～399床の一般病院
200～299床の一般病院
100～199床の一般病院
99床以下の一般病院
とくに患者が集中すると考えられる特別な病院(特別階層病院)

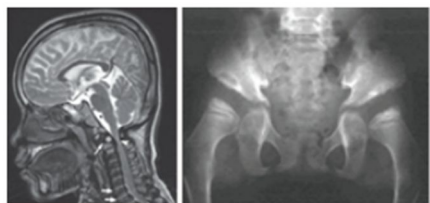
- (4) 各層の抽出率は、それぞれ100%、100%、80%、40%、20%、10%、5%、100%

まず、の特別階層病院は、小児慢性特定疾患の症例をここ3年間にわたり1回でも4症例以上登録経験のある機関を選別し、これは合わせて10施設であった。

この施設を除き、入院の一般病床数が20床以上ある病院を上記7つの階層に分類し、それぞれの階層の抽出率で単純に抽出を行った。との階層に当たる機関は全部で352施設あり、の階層の施設は214施設あり、80%で抽出して171施設を選定した。階層の病院は352病院で40%の抽出率で140施設、階層の病院は411病院で20%の抽出率で82施設、階層は1015病院で10%の抽出率で101施設、階層は1962病院で抽出率5%で98施設を対象施設として選択した。



〒000-0000
〇〇県.....
.....
□□病院 △△科 診療科長 殿
(または) 院長 殿



**ライソゾーム病、ペルオキシゾーム病患者に関する全国調査
ご協力のお願い**

診療科長様

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業
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
全国調査担当 酒井規夫、掛江直子

拝啓

この度、当調査研究班(衛藤班)では、ライソゾーム病及びペルオキシゾーム病の全国アンケート調査を実施することになりました。前回(平成13年)の調査以降、酵素補充療法等の治療の進歩があった疾患があった一方で、未だ完全な病態解明、診療方針が確立していない疾患も未だ多く残されております。今後の治療法開発のためには、患者実態や診療状況について把握しておくことが重要と考えております。

就きましては、まず一次調査として、貴施設にて治療を受けられたライソゾーム病、ペルオキシゾーム病の患者様の情報(疾患名、人数)を返信用はがきに記載の上ご返信いただけますようお願いいたします。

調査期間 2013年4月1日から2016年3月31日で、**貴施設にて一度でも受診されたことのある患者さんを対象**といたします。なお、患者様の診療経験がある場合には二次調査を行う予定ですので、その際にもご協力をお願いいたします。

お手を煩わすことになり大変恐縮ですが、全国の難病患者さんの将来の診療向上のための貴重なデータとなりますので、ご協力よろしく申し上げます。

なお、ライソゾーム病、ペルオキシゾーム病の疾患名に関しては、はがきの3ページ目をご参照ください。また、本調査につきご不明の点がありましたら下記までお問い合わせください。

敬具

本調査に関する問い合わせ先

〒565-0871 吹田市山田丘1-7

大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻

生命育成看護科学講座 成育小児科学 酒井規夫

Tel & Fax: 06-6879-2531 email: norio@sahs.med.osaka-u.ac.jp

ライソゾーム病 一覧		
1	Gaucher 病	21 ムコ多糖症 I 型
2	Fabry 病	22 ムコ多糖症 II 型
3	Niemann-Pick A 型/ B 型(NPA/NPB)	23 ムコ多糖症 III 型
4	GM1 gangliosidase	24 ムコ多糖症 IV 型
5	Tay-Sachs 病	25 ムコ多糖症 V 型
6	Sandhoff 病	26 ムコ多糖症 VI 型
7	GM2 gangliosidase AD 異常型	27 ムコ多糖症 VII 型
8	Krabbe 病	28 ムコ多糖症 VIII 型
9	先天性マウスリンゴ糖(MLD)	29 ムコ多糖症 IX 型
10	Fabry 病	30 ムコ多糖症 X 型
11	神経セラロイドリフトスチアロシス	31 遺伝性骨髄(lysosomal)
12	コガルスリン酸、シスチンホムシスチン蓄積症(CESD)	32 マルファン症/マルファン症関連症
13	Porcine 病	33 ムコ多糖症 XI 型(未定)
14	ホーマンリンゴ糖	34 ムコ多糖症 XII 型
15	ド・マンリンゴ糖	35 ムコ多糖症 XIII 型
16	フジドリンゴ糖	36 シスチン症
17	アスルホスチンリンゴ糖/セロリンゴ糖	37 遺伝性アミロイド症
18	シンドラー病、難病	38 Niemann-Pick C 型(NPC)
19	シンドラー症	39 Canavan 病
20	ガタリンリンゴ糖	40 その他のライソゾーム病
ペルオキシゾーム病 一覧		
51	Zellweger 症候群	59 Dihydroxyacetonephosphate acyltransferase 欠損症 (HCOF-2)
52	先天性眼白濁(シスチンホムシ)症(NALD)	60 Adipylcholonic acid:hydroxyphenylacetic acidase 欠損症 (HCOF-3)
53	長骨短縮症(Rubenstein 病)(RD)	61 Refsum 病 (phytanoyl-CoA hydroxylase 欠損症)
54	Rhizomelic chondrodysplasia punctata type 1 (RCOP-1)	62 難病 X 染色体連鎖
55	難病 X 染色体連鎖(ALD)	63 難病 X 染色体連鎖 II 型 (ACT1)
56	Adip-CoA oxidase 欠損症 (ADO)	64 5-methylcrotonyl-CoA carboxylase 欠損症 (AMACR)
57	D-bifunctional protein 欠損症 (DBP)	65 Coenzyme ACOX1/DXS1302E deletion syndrome (CAOXS)
58	Stanniocalcin protein X 欠損症 (SCP)	66 その他のペルオキシゾーム病

確な実態を把握することは困難である。また最後の全国疫学調査から10年以上が経過しており、本研究班において実施する意義は高い。

これによると、H13年時点での登録数より、診断症例数は増えているものが多いが、これは特に酵素補充療法などの治療法の開発により、診断意義が高まったことなどによることが想定される。この傾向は治療法が開発されているライソゾーム病で特に顕著であることから予想される。

また、今回の一次調査では同じ施設内、また他施設からの同じ症例が重複している可能性が多い疾患も含まれており、これについては今後二次調査においてスクリーニングをおこなう必要がある。

E . 結論

全国疫学調査の一次アンケートにより、ライソゾーム病、ペルオキシゾーム病のジッスに関する情報が得られた。さらに二次調査を行うことにより、患者の実態調査を進める必要がある。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 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*. 534(2):144-54, 2014
- Kimura Y, Mihara M, Kawarai T, Kishima H, Sakai N., Takahashi M and Mochizuki H, Efficacy of deep brain stimulation in an adolescent patient with DYT11 myoclonus-dystonia, *Neurology and Clinical Neuroscience*, 2:57-59, 2014
- Narita A, Shirai K, Kubota N, Takayama N, Takahashi Y, Onuki T, Numakura C, Kato, M, Hamada Y, Sakai N., Ohno A, Asami M, Matsushita S, Hayashi A, Kumada T, Fujii T, Horino A, Inoue T, Kuki I, Asakawa K, Ishikawa H, Ohno K, Nishimura Y, Tamasaki A, Maegaki Y and Ohno K, Abnormal pupillary light reflex with chromatic pupillometry in Gaucher disease, *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 1(2): 135-140, 2014
- Hossain MA, Higaki K, Saito S, Ohno K, Sakuraba H, Nanba E, Suzuki Y, Ozono K, Sakai N., Chaperone therapy for Krabbe disease: potential for late-onset GALC mutations., *J Hum Genet*. 2015 Sep;60(9):539-45
- Hossain MA, Higaki K, Shinpo M, Nanba E, Suzuki Y, Ozono K, Sakai N., Chemical chaperone treatment for galactosialidosis: Effect of NOEV on β -galactosidase activities in fibroblasts., *Brain Dev*. 38(2):175-80, 2016
- Shibazaki T, Hirabayashi K, Saito S, Shigemura T, Nakazawa Y, Sakashita K, Takagi M, Shiohara M, Adachi K, Nanba E, Sakai N., Koike K., Clinical and laboratory outcomes after umbilical cord blood transplantation in a patient with mucopolipidosis II alpha/beta., *Am J Med Genet A.*, 170A(5):1278-82, 2016
- Kato S, Yabe H, Takakura H, Mugishima H, Ishige M, Tanaka A, Kato K, Yoshida N, Adachi S, Sakai N., Hashii Y, Ohashi T, Sasahara Y, Suzuki Y, Tabuchi K., Hematopoietic stem cell transplantation for inborn errors of metabolism: A report from the Research Committee on Transplantation for Inborn Errors of Metabolism of the Japanese Ministry of Health, Labour and

- Welfare and the Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation., *Pediatr Transplant.*, 20(2):203-14. 2016
8. Mamada N, Nakamagoe K, Shioya A, Furuta J, Sakai N, Ishii A, Tamaoka A., Adult-onset Krabbe disease presenting as acute hemiparesis and progressive demyelination detected by diffusion-weighted imaging., *J Neurol Sci.*, 367:326-8, 2016
 9. Sakai N, Otomo T., Challenge of phenotype estimation for optimal treatment of Krabbe disease., *J Neurosci Res.* 94(11):1025-30, 2016
 10. Yoshimura A, Kibe T, Irahara K, Sakai N, Yokochi K., Predominant Corticospinal Tract Involvement in a Late Infant with Krabbe Disease., *Jpn Clin Med.* 7:23-6. 2016
 11. Hughes DA, Nicholls K, Shankar SP, Sunder-Plassmann G, Koeller D, Nedd K, Vockley G, Hamazaki T, Lachmann R, Ohashi T, Olivotto I, Sakai N, Deegan P, Dimmock D, Eyskens F, Germain DP, Goker-Alpan O, Hachulla E, Jovanovic A, Lourenco CM, Narita I, Thomas M, Wilcox WR, Bichet DG, Schiffmann R, Ludington E, Viereck C, Kirk J, Yu J, Johnson F, Boudes P, Benjamin ER, Lockhart DJ, Barlow C, Skuban N, Castelli JP, Barth J, Feldt-Rasmussen U., Oral pharmacological chaperone migalastat compared with enzyme replacement therapy in Fabry disease: 18-month results from the randomised phase III ATTRACT study., *J Med Genet.* 2016 Nov 10. pii: jmedgenet-2016-104178. doi: 10.1136/jmedgenet-2016-104178.
 12. Kondo H, Maksimova N, Otomo T, Kato H, Imai A, Asano Y, Kobayashi K, Nojima S, Nakaya A, Hamada Y, Irahara K, Gurinova E, Sukhomyasova A, Nogovicina A, Savvina M, Yoshimori T, Ozono K, Sakai N., Mutation in VPS33A affects metabolism of glycosaminoglycans: a new type of mucopolysaccharidosis with severe systemic symptoms. *Hum Mol Genet.* 2016 Dec 23. pii: ddw377. doi: 10.1093/hmg/ddw377. [Epub ahead of print]
 13. Nishiumi F, Ogawa M, Nakura Y, Hamada Y, Nakayama M, Mitobe J, Hiraide A, Sakai N, Takeuchi M, Yoshimori T, Yanagihara I.m Intracellular fate of Ureaplasma parvum entrapped by host cellular autophagy., *Microbiologyopen.* 2017 Jan 15. . doi: 10.1002/mbo3.441. [Epub ahead of print]
 14. 酒井規夫, ライソゾーム病・ペルオキシソーム病診断の手引き, 診断と治療社, 2015年3月
 15. 酒井規夫, これでOK小児救急ケーススタディ, 大園恵一, 金子一成編, 診断と治療社, 2015年3月
 16. 酒井規夫, 急性呼吸困難で救急外来受診氏診断されたゴーシェ病 II 型の 1 症例, ゴーシェ病症例集, 井田博幸編, Medical Tribune, 2015年5月
 17. 酒井規夫, 肝脾腫の特徴, カタプレキシー, ニーマンピック病 C 型の診断と治療, 大野耕策編, 医薬ジャーナル, 2015年6月
 18. 酒井規夫, 組織障害の軽症な時期からERTを開始することの重要性を示唆する 1 症例, ファブリー病症例集, 衛藤義勝編, Medical Tribune, 2015年12月
 19. 酒井規夫, 糖原病Ib, 免疫症候群(第2版) III, 別冊日本臨床新領域別症候群シリーズ, p581-583, 2016.3
 20. 酒井規夫, ファブリー病, 小児科 57(3)235-240, 2016.3
 21. 酒井規夫, Krabbe病, 病態生理 3, Vol 48, p185-188, 2016,11

2. 学会発表
 - 1) Norio Sakai, Risk benefit analysis for newborn screening for Krabbe disease in Japan, **The 2nd Asian Congress for Lysosomal Storage Disease Screening, 6.9.2014**
 - 2) Norio Sakai. Molecular analysis and treatment for lysosomal diseases., III Scientific and practical conference with international participation, 6.10-11, 2014
 - 3) 濱田悠介、和田芳朗、近藤秀仁、山崎早苗、中野さやか、苛原 香、富永康仁、青天目信、下野九里子、酒井規夫、住田裕、大園恵一、異なる臨床経過を辿っているプロピオン酸血症兄弟例の検討、第十回 近畿先天代謝異常症研究会、7.13.2014
 - 4) 尾形侑香、村西加奈子、近藤秀仁、山崎早苗、中野さやか、濱田悠介、苛原 香、富永康仁、青天目信、下野九里子、酒井規夫、大園恵一、**当科における小児型ポンペ病4症例への酵素補充療法の経過**、第十回 近畿先天代謝異常症研究会、7.13.2014
 - 5) M A Hossain, K Higaki, M Shinpo, E Nanba, Y Suzuki, M Alfadhel, K Ozono, N Sakai, Chemical chaperone treatment for galactosialidosis: chaperone effect of NOE Von -galactosidase activities in galactosialidosis fibroblasts, SSIEM2014, 9.3.2014
 - 6) 苛原香、ゴーシェ病2型、第2回ゴーシェ病フォーラム、9.20.2014
 - 7) 酒井規夫、異染性白質ジストロフィーの診断と治療戦略、米子セミナー、10.12.2014
 - 8) 近藤秀仁、新實理子、濱田悠介、苛原香、酒井規夫、大園恵一、異なる臨床経過を呈したゴーシェ病の兄弟例、第19回日本ライソゾーム病研究会、10.3.2014
 - 9) 衛藤義勝、岩本武雄、藤崎美和、高村歩美、梅田稔子、辻嘉代子、大橋十也、井田博幸、衛藤薫、濱田悠介、新實理子、近藤秀仁、苛原香、酒井規夫、Niemann Pick C(NPC)患者での血清オキシステロール測定 of 診断への有用性に関して、第56回日本先天代謝異常学会、11.13-15.2014
 - 10) 田中あけみ、濱崎考史、門野千穂、工藤聡志、奥山虎之、酒井規夫、小須賀基道、加藤剛二、小林良二、加藤俊一、ムコ多糖症II型重症型の造血幹細胞移植の脳に対する効果とIDS遺伝子変異について、第56回日本先天代謝異常学会、11.13-15.2014
 - 11) Hideto Kondo, Michiko Shimpō, Yusuke Hamada, Kaori Irahara, Koji Tominaga, Shin Nabatame, Norio Sakai, Keiichi Ozono, The investing of pyruvate therapy for patients with mitochondrial disorders, 第56回日本先天代謝異常学会、11.13-15.2014
 - 12) Kaori Irahara, Yusuke Hamada, Sanae Yamazaki, Sayaka Nakano, Hideto Kondo, Michiko Shimpō, Norio Sakai, Keiichi Ozono, The study of developmental profile in patients with mucopolysaccharidosis type 2, 第56回日本先天代謝異常学会、11.13-15.2014
 - 13) Yoichi Wada, Norio Sakai, Kunihiro Aya, Shinsuke Ninomiya, Kenji Waki, Yoshio Arakaki, The late infantile form of metachromatic leukodystrophy with intrathecal enzyme replacement therapy, 第56回日本先天代謝異常学会、11.13-15.2014
 - 14) Michiko Shimpō, Hideto Kondo, Yusuke Hamada, Kaori Irahara, Norio Sakai, Keiichi Ozono, Six cases of

- metachromatic leukodystrophy, 第56回
日本先天代謝異常学会、11.13-15.2014
- 15) 酒井規夫、ホセイン モハマッド・A、
クラッペ病に対するケミカルシャペロン、
シンポジウム遺伝疾患に対する低分子シ
ャペロン療法、第59回日本人類遺伝学会、
11.19-22.2014、舟掘
- 16) 田中あけみ、濱崎考史、門野千穂、工
藤聡志、奥山虎之、酒井規夫、小須賀基道、
新實理子、加藤剛二、小林良二、澤田智、
鈴木康之、石毛美香、麦島秀雄、矢部晋正、
加藤俊一、ムコ多糖症II型重症型の造血幹
細胞移植の脳に対する効果とIDS遺伝子変
異について、第59回日本人類遺伝学会、
11.19-22.2014、舟掘
- 17) Norio Sakai, Lysosomal diseases;
Basic pathology and treatment strategy、
リエゾンラボ研究会、12.17.2014、熊本
- 18) 酒井規夫、先天型、古典型筋強直性ジ
ストロフィーの小児期における診療のポ
イント 第6回遺伝カウンセリングアドバ
ンスセミナー、1.10.2015、大阪
- 19) 濱田悠介、近藤秀仁、苛原 香、香
川尚己、酒井規夫、大園恵一、水頭症の
鑑別が困難であったムコ多糖症 II 型の
兄弟例、第11回近畿先天代謝異常症研
究会、2015年7月、大阪
- 20) 濱田悠介、近藤秀仁、苛原 香、馬
殿洋樹、髭野亮太、三原聖子、長谷川泰
浩、成田 淳、高橋邦彦、別所一彦、
小垣滋豊、酒井規夫、大園恵一、肥大型
心筋症を合併し、診断・治療に難渋して
いる糖原病の一例、第11回近畿先天代謝
異常症研究会、2015年7月、大阪
- 21) 波田野希美、田辺芳美、土生舞、研
谷美月、濱崎綾子、木口里菜、藤原彩子、
古藤雄大、古川恵美、森瞳子、酒井規夫、
永井利三郎、東日本大震災被災地域の教
員から見た生徒の心理面の変化とそれ
に対する支援の実態について～震災か
ら3年半後の高等学校教員へのインタビ
ュー調査から～、第62回大阪小児保健
研究会、2015年9月、大阪
- 22) 衛藤義勝、岩本武夫、藤崎美和、梅
田稔子、井田博幸、高村歩美、衛藤 薫、
酒井規夫、ニーマンピック C 病の非侵
襲性診断法:オキシステロール並びに
lysoSM 測定の有有用性、第57回日本先
天代謝異常学会総会、2015年11月、
大阪
- 23) 濱田悠介、近藤秀仁、苛原 香、香
川尚己、酒井規夫、大園恵一、ムコ多糖
症 II 型合併水頭症について～当院での
経験～、第57回日本先天代謝異常学会
総会、2015年11月、大阪
- 24) 苛原 香、大友孝信、近藤秀仁、濱
田悠介、Hossain Mohammad Arif、大園
恵一、酒井規夫、Krabbe 病患者の病型
は2つの変異の COS7 細胞での発現実
験における galactocerebrosidase 活
性の総和と相関する、第57回日本先天
代謝異常学会総会、2015年11月、
大阪
- 25) 酒井規夫、先天代謝異常症への酵素
補充療法、分野別シンポジウム、第11
8回日本小児科学会学術集会、2015
年4月、大阪
- 26) 酒井規夫、治療可能な疾患、ニーマ
ンピック病 C 型の診断と治療の実際-肝
脾腫、発達遅滞、眼球運動障害からの気
づき-、教育セミナー、第118回日本
小児科学会学術集会、2015年4月、
大阪
- 27) 酒井規夫、ゴーシェ病の診断と治療-
新たな選択肢について、ランチオン、第
39回日本遺伝カウンセリング学会学
術集会、2015年5月、千葉
- 28) 酒井規夫、髄注による酵素補充療法

- の開発, シンポジウム, 第57回日本小児神経学会学術集会, 2015年5月, 大阪
- 29) 酒井規夫, ゴーシェ病治療の新展開 - 経口ゴーシェ病治療薬, ランチョンセミナー, 第42回小児臨床薬理学会, 2015年, 11月, 熊本
- 30) 酒井規夫, 成人期に見つかる神経内科領域の先天代謝異常, シンポジウム, 第57回日本神経学会学術大会, 2016年5月, 神戸
- 31) 苛原 香, 大友 孝信, 近藤 秀仁, 濱田 悠介, 大園 恵一, 酒井 規夫, Krabbe 病の遺伝子変異は乳児型と成人型に大別され、各臨床病型は2つの変異の残存酵素活性の総和と相関する, 第58回小児神経学会総会, 2016年6月, 東京
- 32) 藤井 達哉, 野崎 章仁, 熊田 知浩, 樋口 雄二郎, 橋口 昭大, 高嶋 博, 苛原 香, 酒井 規夫, Charcot-Marie-Tooth 病の遺伝子解析の結果、Krabbe 病原因遺伝子変異が検出された1例, 第58回小児神経学会総会, 2016年6月, 東京
- 33) 衛藤 義勝, 岩本 武夫, チェン・ウー, 高村 歩美, 藤崎 美和, 柏崎 雅代, 衛藤 薫, 酒井 規夫, ニーマンピックC病 タンデムマスによる血中オキシステロール並びにリゾスフィンゴミエリン-509 測定の診断の意義に関する研究, 第58回小児神経学会総会, 2016年6月, 東京
- 34) 苛原 香, 大友 孝信, 近藤 秀仁, 濱田 悠介, Hossain Mohammad Arif, 大園 恵一, 酒井 規夫, Krabbe 病患者の病型は2つの変異の COS7 細胞での発現実験における galactocerebrosidase 活性の総和と相関する, 第58回日本先天代謝異常学会総会, 2016年10月, 東京
- 35) 濱田 悠介, 近藤 秀仁, 苛原 香, 香川 尚己, 酒井 規夫, 大園 恵一, ムコ多糖症 II 型合併水頭症について 当院での経験, 第58回日本先天代謝異常学会総会, 2016年10月, 東京
- 36) Mika Hirotsune, Yusuke Hamada, Tomoyo Yamashita, Akito Watanabe, Shin Nabatame, Norio Sakai, Keiichi Ozono, Clinical feature of infantile Tay-Sachs disease -case report-, 第58回日本先天代謝異常学会総会, 2016年10月, 東京
- 37) 酒井規夫, 患者さんとのコミュニケーション, シンポジウム, 第58回日本先天代謝異常学会総会, 2016年10月, 東京
- 38) 衛藤 義勝, 岩本 武夫, 藤崎 美和, 梅田 稔子, 井田 博幸, 高村 歩美, 衛藤 薫, 酒井 規夫, ニーマンピックC病の非侵襲性診断法 オキシステロール並びに lysoSM 測定の有用性, 第58回日本先天代謝異常学会総会 2016年10月, 東京
- 39) 濱田 悠介, 岸本 加奈子, 近藤 秀仁, 苛原 香, 酒井 規夫, 大園 恵一, ムコ多糖 II 型の成長に対する酵素補充療法の効果, 第119回日本小児科外来学会総会, 2016年5月, 札幌

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・ペルオキシソーム病の臨床研究

分担研究者： 高橋 勉（秋田大学大学院医学系研究科 教授）

研究要旨 平成26年度はニーマンピック病A/B型およびC型の診断の手引きを作成した。平成27～28年度はペルオキシソーム病である副腎白質ジストロフィー（ALD）についてQC作成とシステマティックレビューを通じ診療ガイドライン（Minds）の作成を行った。平成28年度、ニーマンピック病C型の診断に有用なFilipin染色について、診断特異性に関して検討し、ニーマンピック病A型・B型や他の疾患でも偽陽性となる可能性を明らかにした。

研究協力者 野口篤子
秋田大学大学院医学系研究科 助教

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、二次的に遊離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。両疾患は著明な肝腫大と脾腫大、骨髄中の類似したニーマンピック細胞の存在など臨床的な共通点も多く、鑑別が難しい場合も多い。

・平成26年度:ニーマンピック病 A 型、B 型、C 型に関して「診断の手引き」を作成した。

・平成27～28年度:副腎白質ジストロフィー(ALD)についてQC作成とシステマティックレビューを通じ診療ガイドライン(Minds)の作成を行った。

・平成28年度:ニーマンピック病C型では患者培養細胞に対して Filipin 染色により蓄積遊離コレステロールを証明することが臨床診断に用いられている。ニーマンピック病 A/B 型でも二次的に遊離コレステロールが蓄積されることを考慮すると Filipin 染色のニーマンピックC型への特異性が課題になると考え

られる。本研究で Filipin 染色のニーマンピック病 C 型への特異性を調べた。

B．研究方法

・「診断の手引き」の作成

作成班による作業による作成を行った。

・「ALD: 診断ガイドライン」の作成

作成班による作業による作成を行った。

・Filipin 染色の診断特性の研究

遺伝子解析により確定診断された、ニーマンピック病 A 型、ニーマンピック病 B 型、ニーマンピック病 C 型の培養皮膚線維芽細胞を用いた。正常皮膚線維芽細胞に対して ASM 低下作用のある薬物 (A 型・B 型類似)、デシプラミン、クロルプロマジン、遊離コレステロール蓄積作用のある薬剤、プロゲステロンを添加して Filipin 染色にて染色性を検討した。

(倫理面への配慮)

Filipin 染色の診断特性の研究は秋田大学医学部倫理委員会の承認を得て行われた。

C．研究結果

・「診断の手引き」の作成

「ライソゾーム病・ペルオキシソーム病: 診断の手引き」(2015年3月30日、診断と治療社、参照)として刊行した。

・「ALD：診断ガイドライン」の作成

完了し近日刊行予定である。

・Filipin染色の診断特性の研究

ニーマンピック病C型（ ）およびプロゲステロン添加（ ）の培養皮膚線維芽細胞においてFilipin染色は陽性であった。

ニーマンピック病A型およびB型の培養皮膚線維芽細胞（ 、 ）と、ASM活性低下作用のある薬剤を添加した正常皮膚線維芽細胞（ 、 ）においてもFilipin染色は陽性であった。

D．考察

ニーマンピック病A型、B型、C型は、著明な肝腫大と脾腫大、骨髄中の類似したニーマンピック細胞の存在など臨床的な共通点が多く、鑑別上が困難な場合もある。診断法としてFilipin染色は有用であるが、A型、B型、C型の鑑別はできない。Filipin染色を診断に用いる場合は、診断アルゴリズムにASM活性測定を加えることは重要であると考えらる。

ニーマンピック病A型、B型以外にもSmith-Lemli-Opitz症候群、Tangier症候群を含めた他の遺伝性疾患でも細胞内遊離コレステロールの蓄積がみられFilipin染色を診断に用いる場合には注意が必要である。

E．結論

Filipin染色はニーマンピック病C型の診断に有用であるが、A型、B型、C型の相互間の鑑別は困難である。

F．研究発表

1. 論文発表

Konno Y, Takahashi I, Narita A, Takeda O, Koizumi H, Tamura M, Kikuchi W, Komatsu A, Tamura H, Tsuchida S, Noguchi A, Takahashi T. Elevation of Serum Acid Sphingomyelinase Activity in Acute Kawasaki Disease. *Tohoku J Exp Med*. 2015;237:133-40.

Cassiman D, Packman S, Bembi B, Turkia HB, Al-Sayed M, Schiff M, Imrie J, Mabe

P, Takahashi T, Mengel KE, Giugliani R, Cox GF. Cause of death in patients with chronic visceral and chronic neurovisceral acid sphingomyelinase deficiency (Niemann-Pick disease type B and B variant): Literature review and report of new cases. *Mol Genet Metab*. 2016;118:206-13.

2. 学会発表

なし

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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

ライソゾーム病におけるミトコンドリア呼吸鎖機能の検討

分担研究者： 高柳正樹（帝京平成大学 教授）

研究要旨

10 例のライソゾーム病症例においてミトコンドリア呼吸能を評価した。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。さらに心筋で Autophagy markerの検出を行ったところ、ATG5及びLC3-1, IIのシグナルが低下していた。他の9例のライソゾーム病患者の呼吸鎖活性には異常を認めなかった。今後ゴーシェ病はもとより、ライソゾーム病全般においてミトコンドリア機能の検討を行っていくことは、ライソゾーム病の病態の解明に大きな寄与をすることと考えられる。

研究協力者氏名

千葉県こども病院代謝科部長

村山圭

A．研究目的

最近、ミトコンドリア呼吸鎖異常症の分子病理の解明が進んできている。

いろいろな先天代謝異常症（Wilson病、メチルマロン酸血症、PDHC欠損症など）やパーキンソン病などでも呼吸鎖の低下が起ることが知られている。

ライソゾーム病における、ミトコンドリア機能の研究はその研究の端緒についたばかりである。

千葉県こども病院で治療管理しているライソゾーム病症例におけるミトコンドリア呼吸鎖活性の検討を行ったので報告する。

B．研究方法

死亡したゴーシェ病三型患者の各種臓器の呼吸鎖活性を測定した。肝臓において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。この結果を図1に示す。

さらに9例のライソゾーム病患者の臓器、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OxygenConsumption Rate (OCR)を8例のライソゾーム病症例の線維芽細胞を用いて測定した。

（倫理面への配慮）

患者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

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。表1に結果を示した。

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LC3-1, 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。結果を図1に示す。

他の9例のライソゾーム病患者の呼吸鎖活性には異常を認めなかった。

OxygenConsumption Rate (OCR)を測定した8例のライソゾーム病症例のうち3例にOCRの低下を認めた。これ結果を表2に示す。

D．考察

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。しかしながら呼吸鎖活性の低下が極めて高度なことから、他のミトコンドリア関連遺伝子の関与の存在も否定できない、今後患者の遺伝子のエキソーム解析などを行い検討する必要があると考えられた。

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、直接的な呼吸鎖活性の測定法であるOCRでは低下のみられた症例が存在した。今後多数の症例に対しての検討が必要かと考えられた。

E．結論

10例のライソゾーム病症例においてミトコンドリア呼吸能を評価した。

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。さらに心筋で Autophagy markerの検出を行ったところ、ATG5及びLC3-1, IIのシグナルが低下していた。

今後ゴーシェ病はもとより、ライソゾーム病全般においてミトコンドリア機能の検討を行っていくことは、ライソゾーム病の病態の解明に大きな寄与をすることと考えられる。

F．研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

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

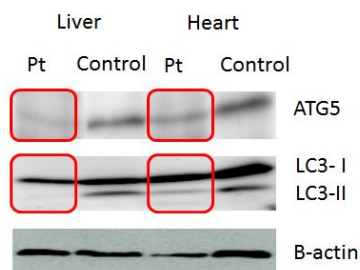
表 1 : ゴーシェ病 3 型症例臓器呼吸鎖活性

	Co I	Co II	Co III	Co IV	CS
Liver					
% of normal	19	90	85	126	103
CS ratio(%)	16	77	72	106	
Co II ratio (%)	21		93	138	
Kidney					
% of normal	0	16	40	21	47
CS ratio (%)	0	35	86	45	
Co II ratio (%)	1		248	130	

表 2 : 8 例のライソゾーム病症例の OxygenConsumption Rate (OCR)測定結果

ID	MRR	Enzyme activity	Disease	Gene
F611EB	84	ns (Fb)	Gaucher	R120W/R170C
F587	36	ns (Fb)	Gaucher	L444P, IVS6+1G>A/ IVS6+1G>A
F1048	134	ns (Fb)	Gaucher	L444P/c.1446-1461del, c.1466-1468del.
F589	93	ns (Fb)	MPS II	n.a.
F593	189	ns (Fb)	Tay-Sachs	n.a.
F598	200	ns (Fb)	Tay-Sachs	n.a.
F603	73	ns (Fb)	MPS IIIB	n.a.
F1126	70	ns (Fb)	I-cell	n.a.

図 1 : Autophagy marker の検出
ATG5 及び LC3-I, II のシグナルが低下している。



Autophagic markers in liver and heart were analyzed via western blotting using antibodies of ATG5, and LC3-I and II. Beta-actin was used as a loading control.

ライソゾーム病（ファブリ病含む）に関する調査研究

分担研究者： 難波 栄二¹⁾²⁾

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

研究要旨

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

研究協力者： 足立 香織
鳥取大学生命機能研究支援センター、助教

A．研究目的

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

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

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

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

B．研究方法

I：診断基準の策定

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

：家族会の体制について

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

：遺伝子治療の情報について

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

(倫理面への配慮)

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

C. 研究結果

I: 診断基準の策定

以下に、GM1-ガングリオシドーシスの診断基準(案)を示す。

1. 疾患概要

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

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

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

2. 臨床病型

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

【乳児型】

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

【若年型】

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

【成人型】

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

3. 主要症状および臨床所見

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

4. 診断の根拠となる検査

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

ゼ活性を測定することが望ましい。

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

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

5. 診断基準

(1) 臨床症状

以下の症状がある場合に疑う

【乳児型】

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

【若年型】

- 1歳以降からの退行
- 痙性麻痺（進行性）

【成人型】

- 構音障害（成人型）
- 歩行障害（成人型）

(2) 検査

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

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

6. 鑑別疾患

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

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

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

7. 治療について

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

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

：家族会の体制について

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

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

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

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

：遺伝子治療の情報について

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

D. 考察

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

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

E. 結論

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

F. 研究発表

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

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

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

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

2. 学会発表

なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

ムコ多糖症・副腎白質ジストロフィーの早期診断に関する研究

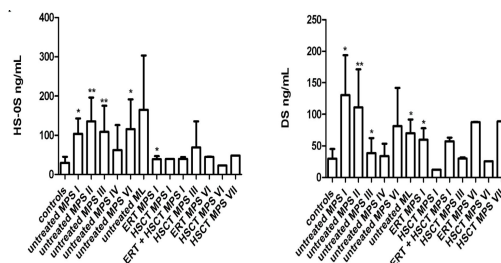
分担研究者： 鈴木康之（岐阜大学医学教育開発研究センター）

研究要旨

ムコ多糖症および副腎白質ジストロフィー(ALD)の早期診断・早期治療のために、1)スクリーニング法、2)診断ガイドライン、3)ADL評価法を開発することを目的として、タンデムマスによる濾紙血分析、システマティック・レビュー、評価表の有用性の検討を行った。濾紙血分析ではムコ多糖症各病型のスクリーニングが可能であること、システマティック・レビューではガイドライン作成につながり、ADL評価表の検討では有用性が確認された。

研究協力者氏名

下澤伸行（岐阜大学生命科学総合支援センター）
戸松俊治（デュポン小児病院）
折居建治（岐阜大学小児病態学）
折居忠夫（岐阜大学名誉教授）
深尾俊幸（岐阜大学小児病態学）
山口清次（島根大学小児科学）



A. 研究目的

ムコ多糖症および副腎白質ジストロフィー (ALD)の早期診断・早期治療を目的とし、1)スクリーニング法、2)診断ガイドライン、3)ADL評価法を開発する。

B. 研究方法

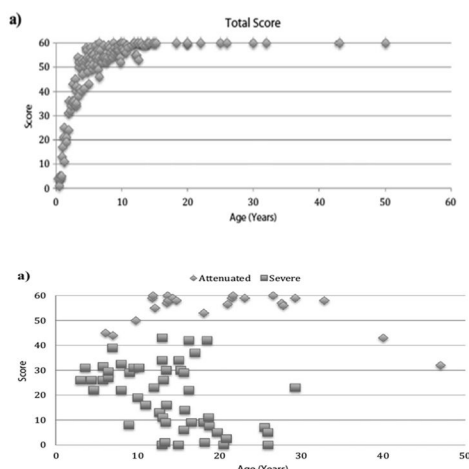
- 1)ムコ多糖症および関連疾患の濾紙血を用いてタンデムマスで分析した。
- 2)ムコ多糖症および ALD に関するシステマティック・レビューを行った。
- 3)試作した ADL 評価法を用いて健常児と患者で評価を行った。
(倫理面への配慮)
岐阜大学大学院医学系研究科医学研究等倫理審査委員会の審議を経て承認を受けた。

C. 研究結果

1) DS, HS-OS, HS-NS, disulfated KS/total KSなどを組み合わせることで、ムコ多糖症各病型をスクリーニングできる事を明らかにした。

2)ムコ多糖症に関しては、酵素補充療法および造血幹細胞移植が成長に対して効果があることがレビューによって検証された。また ALD に関しては、ロレンツォオイルの投与はいずれの病型の副腎白質ジストロフィー患者に対しても積極的に推奨されることが示された。

3)健常児における ADL (単純運動面、認知を伴う運動、認知)の発達経過、Hunter 病患者 (軽症型と重症型)の発達パターンの差異を明らかにした。



D . 考察

ムコ多糖症に対しては造血幹細胞移植、酵素補充療法の効果が示されており、今回のレビューにより成長に対しても効果があることが検証された。また、乾燥濾紙血によるマススクリーニングの可能性も示され、ADLの評価によって治療効果を判定することも可能と考えられた。

E . 結論

濾紙血分析ではムコ多糖症各病型のスクリーニングが可能であること、システマティック・レビューではガイドライン作成につながり、ADL評価表の検討では有用性が確認された。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanjuakio J, Suzuki Y, Tanaka A, et al. Activities of daily living in patients with Hunter syndrome: Impact of enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell transplantation Molecular Genetics and Metabolism 2015;114:161-169
- 2) Shimada T, Tomatsu S, Suzuki Y, et al. Di-sulfated Keratan Sulfate as a Novel Biomarker for Mucopolysaccharidosis II, IVA, and IVB. JIMD Rep. 2015;21:1-13.
- 3) Kato S, Yabe H, Suzuki Y, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for inborn errors of metabolism: A report from the Research Committee on Transplantation for Inborn Errors of Metabolism of the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare and the Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Pediatric Transplantation 2016; Jan 25.
- 4) Kubaski F, Suzuki Y, Orii K, et al. Glycosaminoglycan levels in dried blood spots of patients with mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses. Mol Genet Metab 2016 : S1096-7192(16)30404-8.

2 . 学会発表

- 1) Tomatsu S, Suzuki Y, et al. Activity of daily life in patients with Hunter syndrome. 第56回日本先天代謝異常学会、2014.11.13-15、仙台
- 2) 折居建治、戸松俊治、鈴木康之他 . ムコ多糖症 II 型成人患者に対するポリ硫酸ペントサン投与の効果 .第57回日本先天代謝異常学会 2015.11.12-14、大阪
- 3) Tomatsu S, Kubaski F, Suzuki Y, et al. Newborn screening for mucopolysaccharidoses. 第57回日本先天代謝異常学会、2015.11.12-14 , 大阪
- 4) Tomatsu S, Kubaski F, Suzuki Y, et al. Impact of hematopoietic stem cell transplantation for patients with mucopolysaccharidosis II. 第57回日本先天代謝異常学会、2015.11.12-14 , 大阪

- 5) Tomatsu S, Yabe H, Suzuki Y, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for Morquio A. 第57回日本先天代謝異常学会、2015.11.12-14 , 大阪

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

ムコ多糖症 型の構造学的研究とイズロネート 2-スルファターゼ変異のデータベース構築

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 ムコ多糖症 型(MPS)の原因となるイズロネート 2-スルファターゼ(IDS)遺伝子のミスセンス変異による IDS タンパクの構造変化について解析した。その結果、ミスセンス変異に基づく置換アミノ酸の位置は、IDS 分子上に拡がっているが、その構造変化の大きさは、臨床表現型が「重症型」グループの方が、「軽症型」グループよりも有意に大きいことが明らかになった。IDS の構造変化により、機能上重要な部位が障害されたり、分子のフォールディングに異常を来たと考えられた。IDS の遺伝子変異、臨床表現型、文献や IDS タンパクの構造変化に関してまとめ、データバンクを構築して、これを公開した。

研究協力者氏名

所属機関名及び所属機関における職名

齋藤静司（北海道情報大学医療情報学部医療情報学科 准教授）

大野一樹（株）カタリスト・東京工業大学情報生命博士教育院産業界若手メンター 特任准教授）

A．研究目的

ムコ多糖症 型（ハンター症候群、MPS)は、イズロネート2-スルファターゼ (IDS)をコードする遺伝子の異常に基づいて、IDS 活性が低下するX染色体性遺伝病である。これまで多くの種類のIDS遺伝子変異がMPS 患者で報告されている。その中の欠失、挿入やナンセンス変異などの遺伝子変異は、早期発症で症状が重い「重症型」のMPS 患者に多いことが知られている。一方、IDS遺伝子変異の多くを占めるミスセンス変異は、「重症型」だけでなく、発症が遅く症状が軽い「軽症型」MPS 患者においてもみられる。本研究では、MPS の発症機構、特にミスセンス変異を持つ「重症型」および「軽症型」における違いを、構造学的視点から明らかにし、得られた情報を研究者や臨床家に提供するためのデータベースを構築する。

B．研究方法

これまでの報告から、遺伝型と臨床表現型の関係が比較的はっきりしている131種

類のミスセンス変異（臨床表現型：67「重症型」および64「軽症型」を解析対象とした。

これまで、構造学的解析に必要なヒトIDSタンパクのX線結晶構造決定はなされていない。そこで、他のスルファターゼに関する構造情報(PDB ID: 2m8s, 2yqr, 365q および2quz)を基に、ホモロジーモデリング法で、ヒト野生型IDSタンパクの立体構造を予測した(サーバーはI-TASSERを使用した)。次に、この野生型IDSタンパクの構造を鋳型にして、ホモロジーモデリングソフトウェアTINKERを利用して、各ミスセンス変異によってもたらされるアミノ酸置換に基づくIDS変異体の構造モデルを作製した。

各アミノ酸置換の位置を調べるため、溶媒接触面積(accessible surface area, ASA)の計算を行った。また、各アミノ酸置換によるIDS 分子の構造変化の大きさを調べるため、root-mean-square distance(RMSD)の値を計算した。更に、IDS 変異体構造を野生型IDS構造にスーパーインポーズした後、変異体と野生型における当該原子間の距離を測定した。その距離の大きさからアミノ酸置換により影響を受ける原子を特定し、その数を分子の主鎖および副鎖別に計算した。

(倫理面への配慮)

研究対象とした遺伝子変異は、すべて公表されたものであり、倫理的に問題となる

ものはない。

C. 研究結果

ホモロジーモデリングの結果、ヒトIDSタンパクは、2つの逆平行 β -シート（それぞれのシートは4つの β -ストランドを含む）と α ヘリックスから成る β/α フォールド構造をなすと考えられた。その活性部位は、N末端の逆平行 β -シートの近傍のループ部分に存在すると考えられた。「重症型」および「軽症型」MPS グループに関連するミスセンス変異によるアミノ酸置換の位置を調べるため、それらのASA値を計算した所、前者は $25.2 \pm 40.8 \text{ \AA}^2$ 、後者は $27.9 \pm 38.7 \text{ \AA}^2$ （平均値 \pm 標準偏差）であり、両グループ間に差はみられなかった。また、ミスセンス変異に関係するアミノ酸を、野生型IDSの立体構造上にマッピングした所、両グループとも分子上に偏りなく分布しており、位置に関して差はみられなかった。

一方、アミノ酸置換に基づく構造変化の大きさを調べるため、RMSDの値を計算した所、「重症型」MPS グループでは、 $0.074 \pm 0.050 \text{ \AA}$ 、「軽症型」では、 $0.056 \pm 0.043 \text{ \AA}$ と、前者の値が大きく、統計学的に差があることが明らかになった。また、アミノ酸置換により影響を受ける主鎖および副鎖の原子の数は、「重症型」グループで夫々、 106 ± 113 および 124 ± 125 、「軽症型」グループで夫々、 63 ± 78 および 71 ± 84 であった。いずれにおいても、統計学的に有為に「重症型」グループにおける値が大きいことが明らかになった。

構造解析を行ったミスセンス変異を含む530種類のIDS変異に関して、遺伝型、臨床表現型や文献を含むデータベース (<http://mps2-database.org>) を構築して、これを公開した。

D. 考察

ミスセンス変異に基づくアミノ酸置換によるIDS分子の構造変化の大きさを推測した所、「重症型」グループの方が「軽症型グループ」よりも大きい傾向があることが示された。こうした場合、機能的に重要な個所が直接優襲されるだけでなく、構造変

化によって分子のフォールディングに異常を来して不安定になり、過剰分解を受け易くなると考えられた。また、アミノ酸置換の位置に関しては、「重症型」および「軽症型」のグループ間で差がみられなかった。

構造情報を含むMPS のデータベースは、本症の研究だけでなく、診断や治療方針の策定などに役立つと期待される。

E. 結論

MPS の原因の多くを占めるIDS遺伝子のミスセンス変異に基づくIDSタンパクの構造変化を解析し、その結果を含む多くのMPS情報を、データベースを通じて公開した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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*, (2014) 534:144-154.
- 2) Togawa T, Takada M, Aizawa Y, Tsukimura T, Chiba Y, Sakuraba H. Comparative study on mannose 6-phosphate residue contents of recombinant lysosomal enzymes. *Mol Genet Metab*, (2014) 111: 369-373.
- 3) Yu Y, Mena-Barragán T, Higaki K, Johnson JL, Drury JE, Lieberman RL, Nakasone N, Ninomiya H, Tsukimura T, Sakuraba H, Suzuki Y, Nanba E, Mellet CO, Garcia Fernández JM, Ohno K. Molecular basis of 1-deoxygalactonojirimycin arylthiourea binding to human α -galactosidase A: pharmacological chaperoning efficacy on Fabry disease mutants. *ACS Chem Biol*, (2014) 9: 1460-1469.
- 4) Tsukimura T, Nakano S, Togawa T, Tanaka T, Saito S, Ohno K,

- Shibasaki F, Sakuraba H. Plasma mutant α -galactosidase A protein and globotriaosylsphingosine level in Fabry disease. *Mol Genet Metab Rep*, (2014) 1: 288-298.
- 5) Takahashi N, Yokoi S, Kasuno K, Kogami A, Tsukimura T, Togawa T, Saito S, Ohno K, Hara M, Kurosawa H, Hirayama Y, Kurose T, Yokoyama Y, Mikami D, Kimura H, Naiki H, Sakuraba H, Iwano M. A heterozygous female with Fabry disease due to a novel α -galactosidase A mutation exhibits a unique synaptopodin distribution in vacuolated podocytes. *Clin Nephrol*, (2015) 83: 301-308.
 - 6) Sakuraba H, Tsukimura T, Tanaka T, Togawa T, Takahashi N, Mikami D, Wakai S, Akai Y. Clinical and biochemical investigation of male patients exhibiting membranous cytoplasmic bodies in biopsied kidney tissues - A pitfall in diagnosis of Fabry disease. *J Nephropathol*, (2015) 4: 91-96.
 - 7) Hossain M A, Higaki K, Saito S, Ohno K, Sakuraba H, Nanba E, Suzuki Y, Ozono K, Sakai N. Chaperone therapy for Krabbe disease: potential for late-onset GALC mutations. *J Hum Genet*, (2015) 60: 539-545.
 - 8) Sueoka H, Ichihara J, Tsukimura T, Togawa T, Sakuraba H. Nano-LC-MS/MS for quantification of lyso-Gb3 and its analogues reveals a useful biomarker for Fabry disease. *PLOS ONE*, (2015) 10: e0127048.
 - 9) Nakano S, Tsukimura T, Togawa T, Ohashi T, Kobayashi M, Takayama K, Kobayashi Y, Abiko H, Satou M, Nakahata T, Warnock D. G, Sakuraba H, Shibasaki F. Rapid immunochromatographic detection of serum α -galactosidase A antibodies in Fabry patients after enzyme replacement therapy. *PLOS ONE*, (2015) 10: e0128351.
 - 10) Serebrinsky G, Calvo M, Fernandez S, Saito S, Ohno K, Wallace E, Warnock D, Sakuraba H, Politei J. Late onset variants in Fabry disease: results in high risk population screenings in Argentina. *Mol Genet Metab Reports*, (2015) 4: 19-24.
 - 11) Sueoka H, Aoki M, Tsukimura T, Togawa T, Sakuraba H. Distributions of globotriaosylceramide isoforms, and globotriaosylsphingosine and its analogues in an α -galactosidase A knockout mouse, a model of Fabry disease. *PLOS ONE*, (2015) 10: e0144958.
 - 12) Kitakaze K, Mizutani Y, Sugiyama E, Tasaki C, Tsuji D, Maita N, Hirokawa T, Asanuma D, Kamiya M, Sato K, Setou M, Urano Y, Togawa T, Otaka A, Sakuraba H, Itoh K. Protease-resistant modified human β -hexosaminidase B ameliorates symptoms in GM2 gangliosidosis model. *J Clin Invest*, (2016) 126: 1691-1703.
 - 13) Kitakaze K, Tasaki C, Tajima Y, Hirokawa T, Tsuji D, Sakuraba H, Itoh K. Combined replacement effects of human modified β -hexosaminidase B and GM2 activator protein on GM2 gangliosidosis fibroblasts. *Biochem Biophys Reports*, (2016) 7: 157-163.
 - 14) Kosuga M, Mashima R, Hirakiyama A, Fuji N, Kumagai T, Seo JH, Nikaido M, Saito S, Ohno K, Sakuraba H, Okuyama T. Molecular diagnosis of 65 families with mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome) characterized by

- 16 novel mutations in the IDS gene: Genetic, pathological, and structural studies on iduronate-2-sulfatase. *Mol Genet Metab*, (2016)118: 190-197.
- 15) Saito S, Ohno K, Okuyama T, Sakuraba H. Structural basis of mucopolysaccharidosis type II and construction of a database of mutant iduronate 2-sulfatases. *PLOS ONE*, (2016)11: e0163964.
- 16) Kodama T, Tsukimura T, Kawashima I, Sato A, Sakuraba H, Togawa T. Differences in cleavage of globotriaosylceramide and its derivatives accumulated in organs of young Fabry mice following enzyme replacement therapy. *Mol Genet Metab*, (2016) S1096-7192(16)30154-30158.
- 17) Kubo T, Ochi Y, Baba Y, Hirota T, Tanioka K, Yamasaki N, Yoshimitsu M, Higuchi K, Takenaka T, Nakajima K, Togawa T, Tsukimura T, Sano S, Tei C, Sakuraba H, Kitaoka H. Prevalence and clinical features of Fabry disease in Japanese male patients with diagnosis of hypertrophic cardiomyopathy. *J Cardiol*, (2017)69: 302-307.
- 18) Ogawa Y, Kaizu K, Yanagi Y, Takada S, Sakuraba H, Oishi K. FcR γ -dependent immune activation initiates astrogliosis during the asymptomatic phase of Sandhoff disease model mice. *Scientific Reports*, (2017) in press.

2. 学会発表 国際学会

- 1) Sakuraba H.: Globotriaosylsphingosine (lyso-Gb3): A useful biomarker of Fabry disease. The 2nd Asian Congress for Lysosomal Storage Disease Screening, Fukuoka, Japan.

- Jun. 2014
- 2) Sakuraba H: Development of enzyme replacement therapy for Fabry disease with a modified -N-acetylgalactosaminidase. 10th Annual WORLD Symposium™ 2014, San Diego, California, USA. Feb. 2014
- 3) Tsukimura T, Togawa T, Sakuraba H: Molecular interaction between a mutant -galactosidase A and imino sugars. 10th Annual WORLD Symposium™ 2014, San Diego, California, USA. Feb 2014
- 4) Kitakaze K, Asanuma D, Kamiya M, Tsuji D, Ikuo M, Urano Y, Sakuraba H, Itoh K: Replacement effects of human modified lysosomal β -hexosaminidase B on Tay-Sachs disease and Sandhoff disease models and imaging with novel pH-activatable fluorescent probes. 10th Annual WORLD Symposium™ 2014. 11-13, San Diego, California, USA. Feb. 2014
- 5) Togawa T, Takada M, Aizawa Y, Tsukimura T, Chiba Y, Sakuraba H: Comparative study on mannose 6-phosphate residue contents of recombinant lysosomal enzymes. 3rd European Fabry Expert Lounge 2014. Rome, Italy. Mar. 2014
- 6) Sakuraba H. Insight into the basis of mucopolysaccharidosis type I from a structural viewpoint. The 3rd Asian Congress for Lysosomal Storage Disease Screening, Tokyo, Japan. Jun. 2015
- 7) Tsukimura T, Togawa T, Sakuraba H. High-risk screening of Fabry disease in Japan. The 3rd Asian Congress for Lysosomal Storage Disease Screening, Tokyo, Japan, Jun. 2015
- 8) Shibasaki F, Tsukimura T, Togawa T, Sakuraba H. Rapid evaluation of serum anti- α -galactosidase A

- antibody in Fabry patients by immunochromatography based assay. The 3rd Asian Congress for Lysosomal Storage Disease Screening, Tokyo, Japan, Jun. 2015
- 9) Sakuraba H. Diagnostic dilemma: GLA genetic variants of unknown clinical significance. 2015 International Conference on Fabry Disease in Seoul, Seoul, Korea, Oct. 2015
 - 10) Sakuraba H. Female Fabry patients in Japan - Incidence, diagnosis, efficacy of ERT, and recommendations. 2015 International Conference on Fabry Disease in Seoul, Seoul, Korea, Oct. 2015
 - 11) Sakuraba H, Saito S, Ohno K, Maita N, Tsukimura T, Taniguchi T, Taniguchi H. Determination of the structure of human α -L-iduronidase and structural basis of mucopolysaccharidosis type I. 11th Annual WORLD Symposium™ 2015. Orlando, USA, Feb. 2015
 - 12) Tsukimura T, Togawa T, Sakuraba H. Comprehensive study of Fabry disease: Gene mutation, GLA activity, GLA protein and globotriaosylsphingosine. 11th Annual WORLD Symposium™ 2015. Orlando, USA, Feb. 2015
 - 13) Togawa T, Shibasaki F, Tsukimura T, Sakuraba H. Fabry patients after enzyme replacement therapy. 4th Update on Fabry Nephropathy: Biomarkers, Progression and Treatment Opportunities. Manchester, UK, Jun. 2015
 - 14) Sakuraba H. Fabry Disease: Focus on protein structure and antibody. Chinese Medical Association-Taipei Annual Conference, Taipei, Taiwan. Jun. 2016
 - 15) Sakuraba H, Togawa T, Tsukimura T, Saito S, Ohno K. Comparative study on α -galactosidase A (GLA) genetic variants with unknown clinical significance. 12th Annual WORLD Symposium™ 2016. San Diego, USA. Feb. 2016
 - 16) Togawa T, Kodama T, Tsukimura T, Kawashima I, Tanaka T, Shiga T, Sato A, Sakuraba H. Measurement of glycosphingolipids by means of tandem mass spectrometry and evaluation of them as a biomarker of Fabry disease. 12th Annual WORLD Symposium™ 2016. San Diego, USA. Feb. 2016.
 - 17) Tsukimura T, Shibasaki F, Shigenaga M, Togawa T, Sakuraba H.: Anti- α -galactosidase A antibodies and serum-mediated inhibition in Fabry disease. 12th Annual WORLD Symposium™ 2016. San Diego, USA. Feb. 2016.
- 国内学会招待講演
- 18) 櫻庭 均: 早期診断・早期治療が必要な先天代謝異常症 ファブリー病. 角膜カンファランス 2014, 第 38 回日本角膜学会総会, 第 30 回日本角膜移植学会. 那覇, 2014. 1
 - 19) 櫻庭 均: ファブリー病を知ろう その病態から治療まで. 岐阜ファブリー病セミナー. 岐阜, 2014. 2
 - 20) 櫻庭 均: ファブリー病を知ろう その診断ポイントから治療まで. 徳島ファブリー病セミナー. 徳島, 2014. 2
 - 21) 櫻庭 均: 日常診療の Pitfall ファブリー病を見逃さないために、臨床医が知っておきたいこと. 城南ファブリー病セミナー. 東京, 2014. 2
 - 22) 櫻庭 均: ファブリー病 解析技術の進歩. Fabry Additional Lecture, ファブリー病シンポジウム. 東京, 2014. 3
 - 23) 櫻庭 均: ファブリー病を知ろう

- その診断ポイントから治療まで. 山陰ファブリー病セミナー. 米子, 2014. 3
- 24) 櫻庭 均: 循環器の Common Disease に潜在するファブリー病 その診断と治療. ファブリー病エリアフォーラム in 榊原記念病院セミナー. 東京, 2014. 5
- 25) 櫻庭 均: ファブリー病 早期診断・早期治療の重要性. 第 55 回日本神経学会学術大会. 福岡, 2014. 5
- 26) 櫻庭 均: ファブリー病のマネジメント 診断から治療まで. ファブリー病セミナー in Sapporo. 札幌, 2014. 6
- 27) 櫻庭 均: ファブリー病の病態・診断・治療アップデート そのサイン, 見逃していませんか? 第 57 回日本腎臓学会学術総会. 横浜, 2014. 7
- 28) 櫻庭 均: 臨床医がおさえておきたいファブリー病の病態・診断・治療. 中原区ファブリー病講演会. 川崎, 2014. 7
- 29) 櫻庭 均: これだけは知っておきたい ファブリー病の診断と治療. 多摩市稲城市医師会南多摩薬剤師会学術講演会. 東京, 2014. 7
- 30) 櫻庭 均: 日常診療に潜在するファブリー病 その診断と治療. 東葛ファブリー病セミナー. 松戸, 2014. 7
- 31) 櫻庭 均: 日常診療からファブリー病を疑う その診断・治療について. 山形ファブリー病セミナー. 山形, 2014. 8
- 32) 櫻庭 均: 日常診療に潜むファブリー病 病態・診断・治療 / 最新の話題. 越谷ファブリー病セミナー. 越谷, 2014. 9
- 33) 櫻庭 均: ファブリー病を知る 病態と診断の最新情報. 第 62 回日本心臓病学会学術集会. 仙台, 2014. 9
- 34) 櫻庭 均: ファブリー病の早期診断・早期治療を目指して. 原因不明のその症状, もしかするとファブリー病かもしれません. 多摩ファブリー病セミナー. 東京, 2014. 10
- 35) 櫻庭 均: 明日からの日常診療で疑う疾患 ファブリー病. 富山ファブリー病セミナー. 富山, 2014. 10
- 36) 櫻庭 均: 治療可能な希少疾患 ”ファブリー病” その診断と治療. 印旛市郡ファブリー病セミナー. 印旛, 2014. 11
- 37) 櫻庭 均: ファブリー病最前線. 診断・治療の最新の知見. 名古屋ファブリー病セミナー. 名古屋, 2014. 11
- 38) 櫻庭 均: ファブリー病早期診断の手掛かり. 原因不明のその症状, もしかしたらファブリー病かもしれません. 栃木ファブリー病セミナー. 宇都宮, 2014. 12
- 39) 櫻庭 均: ファブリー病早期診断の手掛かり 原因不明のその症状, もしかしたらファブリー病かもしれません. 山梨ファブリー病セミナー. 甲府, 2015. 3
- 40) 櫻庭 均: 眼科医が遭遇する希少疾患 ファブリー病. 第 119 回日本眼科学会総会. 札幌, 2015. 4
- 41) 櫻庭 均: ファブリー病 UPDATE 診断・治療の最新の知見. 第 118 回日本小児科学会学術集会. 大阪, 2015. 4
- 42) 櫻庭 均: ファブリー病の病態・診断・治療アップデート そのサイン, 見逃していませんか. 第 56 回日本神経学会学術大会. 新潟, 2015. 5
- 43) 櫻庭 均: ファブリー病早期診断の手掛かり 原因不明のその症状, もしかしたらファブリー病かもしれません. 第 58 回日本腎臓学会学術総会. 名古屋, 2015
- 44) 櫻庭 均: ファブリー病の最前線 診断の UPDATE と治療の最新知見. ファブリー病カンファレンス in 東京. 東京, 2015
- 45) 櫻庭 均: Fabry 病診断における pitfall と新たな知見. 第 1 回日本心筋症研究会. 東京, 2015. 7
- 46) 櫻庭 均: Fabry 病早期診断の手掛かり 原因不明のその症状, もしかしたらファブリー病かもしれません.

- ファブリー病セミナー in OKINAWA, 沖縄. 2015. 8
- 47) 櫻庭 均: ファブリー病における早期診断のポイントと早期治療の重要性. 水戸ファブリー病セミナー. 水戸, 2015. 8
- 48) 櫻庭 均: ファブリー病の病態・診断・治療 診断の pitfall を中心に. 泉州ファブリー病セミナー. 泉大津, 2015. 9
- 49) 櫻庭 均: ファブリー病の診断と治療 最新の知見. 高知ファブリー病講演会. 高知, 2015. 9
- 50) 櫻庭 均: 臨床医がおさえたいファブリー病の臨床. 横浜ファブリー病エリアフォーラム. 横浜, 2015. 9
- 51) 櫻庭 均: ファブリー病の早期診断・早期治療の重要性 診断の pitfall と update. 腎臓ファブリー病セミナー. 大阪, 2015. 9
- 52) 櫻庭 均: ファブリー病の病態・診断・治療 もしかしたらその症状, ファブリー病かもしれません. 十勝ファブリー病セミナー. 帯広, 2015. 10
- 53) 櫻庭 均: ファブリー病の病態・診断・治療 もしかしたらその症状, ファブリー病かもしれません. ファブリー病セミナー in 函館. 函館, 2015. 10
- 54) 櫻庭 均: ファブリー病の早期診断・治療の最前線検査・診断の UPDATE と治療の最新知見について. ファブリー病セミナー in 弘前. 弘前, 2015. 10
- 55) 櫻庭 均: 明日からの日常診療で疑う疾患 ファブリー病, 京都ファブリー病セミナー Part . 福知山, 2015. 10
- 56) 櫻庭 均: これだけは知っておきたい ファブリー病の診断と治療. ファブリー病セミナー in 旭. 旭, 2015. 11
- 57) 櫻庭 均: ファブリー病の早期診断・早期治療に向けて. 川崎ファブリー病セミナー2015. 川崎, 2015. 11
- 58) 櫻庭 均: ファブリー病の早期診断の手掛かり 日常診療で見逃さない臨床症状. 第53回 小腸研究会イブニングセミナー. 盛岡, 2015. 11
- 59) 櫻庭 均: ファブリー病の診断 Up To Date. 印旛市郡ファブリー病ミーティング. 佐倉, 2015. 11
- 60) 櫻庭 均: ここまでわかってきたファブリー病の診断・治療. 横浜地区エリアフォーラム. 横浜, 2015. 11
- 61) 櫻庭 均: ファブリー病最前線! 診断・治療の最新の知見. 東尾張ファブリー病セミナー. 長久手, 2015. 11
- 62) 櫻庭 均: 日常診療からファブリー病を疑う その病態・診断・治療. ファブリー病セミナー in 高崎. 高崎, 2015. 11
- 63) 櫻庭 均: 日常診療に潜在するファブリー病 早期診断・早期治療の重要性. ファブリー病セミナー in 奄美大島. 奄美大島, 2015. 12
- 64) 櫻庭 均: 治療可能な先天性代謝異常症 ファブリー病と酵素補充療法. 第36回 日本臨床薬理学会学術総会. 東京, 2015. 12
- 65) 櫻庭 均: 日常診療に潜在するファブリー病 病態・診断・治療から最新の話. ファブリー病セミナー in Shimane. 出雲, 2015. 12
- 66) 櫻庭 均: ファブリー病の最近の知見. ファブリー病セミナー. 東京, 2016. 6
- 67) 櫻庭 均: ファブリー病: 診断と治療の最新情報. 第77回北海道セミナー. 札幌, 2016. 7
- 68) 櫻庭 均: ファブリー病の早期診断・治療の重要性 検査・診断・治療に関する最新の知見について. ファブリー病セミナー in 能代. 能代, 2016. 7
- 69) 櫻庭 均: ファブリー病診断技術の最前線. 北摂ファブリー病カンファレンス. 吹田, 2016. 7
- 70) 櫻庭 均: ファブリー病かな? と思

- ったら 診断の手引き. 豊明ファブリー病セミナー. 豊明, 2016. 9.
- 71) 櫻庭 均: ファブリー病マネジメント 診断から治療に関する最近の知見. TOHO Fabry Network. 東京, 2016. 9
- 72) 櫻庭 均: ファブリー病を見逃さない! 臨床症状と鑑別診断. 9月度 富岡市甘楽郡医師会学術講演会. 富岡, 2016. 9
- 73) 櫻庭 均: 血漿 Lyso-Gb3 の測定は、ファブリー病の診断や酵素補充療法の評価に有用である. 第 21 回日本ライソゾーム病研究会. 東京, 2016. 9-10
- 74) 櫻庭 均: 日常診療に潜在するファブリー病 病態・診断・治療に関する最新の知見. 川越ファブリー病講演会. 川越, 2016. 10
- 75) 櫻庭 均: ライソゾーム病の分子病理学のおよび構造生物学的研究. 第 58 回 日本先天代謝異常学会総会, 学会賞講演. 東京, 2016. 10
- 国内学会一般講演
- 76) 月村考宏, 中野早知栄, 兎川忠靖, 田中利絵, 片山昌勅, 齋藤静司, 芝崎 太, 櫻庭 均: ファブリー病の分子病態研究: 遺伝子変異、変異酵素蛋白質及び蓄積糖脂質について. 日本薬学会第 134 年会. 2014. 3. 27-30, 熊本.
- 77) 鈴木俊宏, 石原茉祐花, 小林敦子, 月村考宏, 兎川忠靖, 櫻庭 均, 小笠原裕樹: ヒト正常組織由来細胞を用いた α -ガラクトシダーゼ取り込み機構の検討. 日本薬学会第 134 年会. 熊本, 2014. 3
- 78) 北風圭介, 幾尾真理子, 杉山栄二, 浅沼大祐, 神谷真子, 瀬藤光利, 浦野泰照, 櫻庭 均, 伊藤孝司: 新規蛍光プローブおよびイメージングマスマススペクトロメトリーによるライソゾーム酵素補充効果のイメージング. 日本薬学会第 134 年会. 熊本, 2014. 3
- 79) 月村考宏, 中野早知栄, 兎川忠靖, 田中利絵, 片山昌勅, 齋藤静司, 芝崎 太, 櫻庭 均: ファブリー病患者の血漿中の α -ガラクトシダーゼ A 蛋白質濃度とグロボトリアオシルスフィンゴシン濃度の相関性. 第 87 回日本生化学会大会. 京都, 2014. 10
- 80) 今滝 泉, 辻 大輔, 櫻庭 均, 伊藤孝司: Galactosialidosis 患者由来 iPS 細胞の樹立及び中枢神経系細胞への分化誘導. 第 87 回日本生化学会大会. 京都, 2014. 10
- 81) 水谷安通, 北風圭介, 田崎智佳子, 櫻庭 均, 伊藤孝司: 改変型ヒト α -ヘキササミニダーゼの分子特性解析と GM2 蓄積症モデル細胞への補充効果. 第 87 回日本生化学会大会. 京都, 2014. 10
- 82) 高橋 遼, 竹内康雄, 関田怜子, 正木貴教, 島田芳隆, 竹内和博, 酒井健史, 宮澤昌子, 岡本智子, 青山東五, 佐野 隆, 鎌田貢壽, 兎川忠靖, 月村考宏, 櫻庭 均: 軽度持続性蛋白尿で腎生検を行い, Fabry 病と診断した女性例. 日本腎臓学会東日本部会. 東京, 2014. 10
- 83) 月村考宏, 中野早知栄, 兎川忠靖, 田中利絵, 齋藤静司, 芝崎 太, 櫻庭 均: ファブリー病患者の遺伝子変異, 血漿中 GLA 蛋白質濃度及び Lyso Gb3 濃度の関係. 第 56 回 日本先天代謝異常学会総会 / 第 12 回 アジア先天代謝異常症シンポジウム. 仙台, 2014. 11
- 84) 末岡英明, 西出哲也, 市原準二, 月村考宏, 兎川忠靖, 高堂 透, 青木幹雄, 野口 毅, 櫻庭 均: ナノ LC MS/MS 技術によるグロボトリアオシルスフィンゴシン (Lyso Gb3) 高感度分析法の確立. 第 56 回 日本先天代謝異常学会総会 / 第 12 回 アジア先天代謝異常症シンポジウム. 仙台, 2014. 11
- 85) 于 一 (YI YU), 檜垣克美, Raquel Lieberman, 月村考弘, 櫻庭 均, Carmen Ortiz Mellet, Jose M Garcia

- Fernandez, 鈴木義之, 難波栄二, 大野耕策: α -ガラクトシダーゼAに対する新規シャペロン化合物の開発. 第56回日本先天代謝異常学会総会/第12回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 仙台, 2014. 11
- 86) 月村考宏, 小川泰弘, 大石一彦, 重永雅志, 鶴巻舞子, 兎川忠靖, 櫻庭均: 新規改変酵素の免疫交差性及びiPS細胞由来心筋細胞への取り込みファブリー病治療への応用. 日本薬学会第135年会. 神戸, 2015. 3
- 87) 那須 誠, 天久朝廷, 横路三有紀, 月村考宏, 沖田圭介, 赤井靖宏, 櫻庭均, 深水 圭, 奥田誠也, 長船健二: Fabry病患者由来iPS細胞を用いた新規疾患モデルの作製. 第58回日本腎臓学会学術総会. 名古屋, 2015. 6
- 88) 兎川忠靖, 田中利絵, 志賀智子, 大塚智子, 佐藤温子, 児玉 敬, 月村考宏, 櫻庭均: タンデムマス測定法による血漿Lyso-Gb3の高感度測定とそのファブリー病バイオマーカーとしての評価. 第20回日本ライソゾーム病研究会. 東京, 2015. 10
- 89) 瀬戸俊之, 浅田 稔, 福島茂樹, 武田泰輔, 月村考宏, 櫻庭均, 新宅治夫: Fabry病家族例におけるLyso-Gb3濃度の推移: 第57回日本先天代謝異常学会総会/第13回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 大阪, 2015. 11
- 90) 兎川忠靖, 児玉 敬, 月村考宏, 川島育夫, 志賀智子, 田中利絵, 櫻庭均: Fabry病モデルマウス腎臓に蓄積する糖脂質の特徴と酵素補充療法による分解効果. 第57回日本先天代謝異常学会総会/第13回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 大阪, 2015. 11
- 91) 月村考宏, 田中利絵, 大塚智子, 志賀智子, 末岡英明, 芝崎 太, 兎川忠靖, 櫻庭均: 遅発型ファブリー病の原因変異 vs 機能的多型. 第57回日本先天代謝異常学会総会/第13回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 大阪, 2015. 11
- 92) 重永雅志, 月村考宏, 佐藤温子, 芝崎 太, 兎川忠靖, 櫻庭均: 酵素補充療法を受けたファブリー病患者における抗 α -ガラクトシダーゼA抗体産生とその酵素活性阻害作用. 第57回日本先天代謝異常学会総会/第13回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 大阪, 2015. 11
- 93) 北風圭介, 水谷安通, 杉山栄二, 真板宣夫, 広川貴次, 瀬藤光利, 櫻庭均, 伊藤孝司: 改変型ヒト α -ヘキサミニダーゼのGM2蓄積症モデルマウスに対する治療効果. BMB2015第38回日本分子生物学会年会, 第88回日本生化学会大会 合同大会. 神戸, 2015. 12
- 94) 重永雅志, 月村考宏, 佐藤温子, 芝崎太, 兎川忠靖, 櫻庭均: 酵素製剤に対する抗体を産生したファブリー病患者の血清は酵素製剤の活性を阻害する. 第38回日本分子生物学会年会, 第88回日本生化学会大会 合同大会. 神戸, 2015. 12
- 95) 鶴巻舞子, 児玉 敬, 天海雄二郎, 小野夏実, 鈴木 和, 田中未来, 月村考宏, 片山昌勅, 志賀智子, 田中利絵, 櫻庭均, 兎川忠靖: ファブリー病の診断における尿中グロボトリアオシルセラミドの測定と α -ガラクトシダーゼのE66Qアミノ酸置換. 日本薬学会第136年会. 横浜, 2016. 3
- 96) 櫻庭均, 兎川忠靖, 月村考宏, 若村友太郎: ファブリー病バイオマーカーとしての血漿Lyso-Gb3: 基準値設定と患者試料の測定. 第59回日本腎臓学会学術総会. 横浜, 2016. 6
- 97) 月村考宏, 佐藤温子, 澤村恵理嘉, 池田紗都, 大庭 優, 兎川忠靖, 櫻庭均: ファブリー病新規治療薬候補 改変型NAGAの治療効果を増強させる化合物の探索. 第89回日本生化学会大会. 仙台, 2016. 9
- 98) 櫻庭均, 兎川忠靖, 月村考宏, 若

村友太郎，加藤 浩：血漿 Lyso-Gb3
の測定は、ファブリー病の診断や酵
素補充療法の評価に有用である。第
21 回日本ライソゾーム病研究会。東
京，2016. 9

- 99) 真嶋隆一，小須賀基通，櫻庭 均，
奥山虎之：ムコ多糖症 II 型の原因遺
伝子である IDS 遺伝子の日本人家系
における解析例：16 の新規変異を含
む 65 例の解析結果。第 21 回日本ラ
イソゾーム病研究会。東京，2016. 9
- 100) 月村考宏，佐藤温子，澤村恵理嘉，
池田紗都，大庭 優，兎川忠靖，櫻
庭 均：改変型 -N-アセチルガラ
クトサミニダーゼを安定化する化合
物の探索。第 58 回日本先天代謝異
常学会/第 14 回アジア先天代謝異常
症シンポジウム。東京，2016. 10
- 101) 重永雅志，月村考宏，佐藤温子，兎
川忠靖，櫻庭 均：遅発型ファブリ
ー病原因遺伝子変異と機能的多型の
違い。第 58 回日本先天代謝異常学会
/第 14 回アジア先天代謝異常症シン
ポジウム。東京，2016. 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）
平成 26 年度～28 年度総合研究報告書

ムコ多糖症 II 型に対する診療ガイドライン作成の試み

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長）

研究要旨

ムコ多糖症 型の代表的治療法である酵素補充療法と造血幹細胞移植の治療成績に関する報告の系統的レビューに基づき本疾患の診療ガイドライン作成を試みた。酵素補充療法と造血幹細胞移植を比較検討しそれぞれのメリットデメリットをはじめに記載し、その後、治療効果に関するクリニカルクエスション（CQ）とそれぞれの推奨を作成した。完成したガイドラインは、各小児医療機関に配布する。

研究協力者

小須賀基通

国立成育医療研究センター遺伝診療科

加藤剛二

名古屋第一赤十字病院小児医療センター

加藤俊一

東海大学医学部再生医療科学

矢部普正

東海大学医学部再生医療科学

A．研究目的

ムコ多糖症 型は、小児期に発症するライソゾーム病の中でもっとも頻度が多い疾患である。酵素補充療法が開発され、9-10年が経過した。また、酵素補充療法が実施される前から特にわが国では造血幹細胞移植が実施され、酵素補充療法が実施可能となった現在でも一定数実施されている。このような背景を考慮し、ムコ多糖症 型に対する診療ガイドラインの作成を試みた。

B．研究方法

Mindsの手法に準拠して、ムコ多糖症型の診療ガイドラインの作成を以下の手順で行った。

- 1) CQの作成（2014年に実施）
- 2) 文献検索およびシステマティックレビュー（おもに2015年に実施）

3) 推奨の強さと推奨文の作成（2016年に実施）

C．研究結果

(1) CQの作成

酵素補充療法と造血細胞移植の効果と限界を明らかにするために以下に示す12のCQを作成した。

(設定したクリニカルクエスション)
ムコ多糖症II型は酵素補充療法により

- 1) 歩行障害が改善するか？
- 2) 呼吸機能が改善するか？
- 3) 生命予後が改善するか？
- 4) 骨・関節症状が改善するか？
 - 4-1 成長が改善するか？
 - 4-2 関節症状が改善するか？
- 5) 心機能、心臓弁膜症が改善するか？
 - 5-1 心機能が改善するか？
 - 5-2 心臓弁膜症が改善するか？
- 6) 神経症状が改善するか？

ムコ多糖症 II 型は造血幹細胞移植により

- 7) 歩行障害が改善するか？
- 8) 呼吸機能が改善するか？
- 9) 生命予後が改善するか？
- 10) 骨・関節症状が改善するか？
 - 10-1 成長が改善するか？
 - 10-2 関節症状が改善するか？

11) 心機能、心臓弁膜症が改善するか？

11-1 心機能が改善するか？

11-2 心臓弁膜症が改善するか？

12) 神経症状が改善するか？

(2) 文献検索およびシステマティックレビュー

検索キーワードを設定し、文献検索を実施し、選んだ文献のシステマティックレビューを行い、個々の論文のエビデンス総体を決定した。

(3) 推奨の強さと推奨文の作成
システマティックレビューの結果を参考に推奨とエビデンスの強さを決定した。さらに、個々のCQに対する推奨文と解説文を加えた。

(4) 診療ガイドライン2017の作成
初めに酵素補充療法と造血幹細胞移植のメリットデメリットに関する記載を行い、この後にそれぞれのCQごとに、推奨文、推奨グレード、エビデンスの強さ、解説文の順に記載した。以上でガイドラインを完成させた。

D. 考察

Mindsの手法に準拠し、システマティックレビューの結果をもとにムコ多糖症型の診療ガイドライン作成を試みた。原則的にはシステマティックレビュー結果に基づくエビデンスの強さに応じて推奨を決めた。ムコ多糖症型に関しては、エビデンスレベルの高い論文は、酵素補充療法製剤の治験として実施された臨床研究に関する論文が数件存在したが、造血幹細胞移植については、エビデンスレベルの高い論文は存在しなかったことから、造血幹細胞移植については、エキスパートオピニオンの意見を参考にして、推奨文を作成した。

E. 結論

Mindsの手法に準拠し、システマティックレビューの結果に基づくエビデンスの強さに応じてムコ多糖症の診療ガイドラインの作成を試みた。本ガイドラインは、書籍とし

てムコ多糖症などの先天代謝異常症の診療を実施している日本の主要な医療機関に配布する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsuoka T, Miwa Y, Tajika M, Sawada M, Fujimaki K, Soga T, Tomita H, Uemura S, Nishino I, Fukuda T, Sugie H, Kosuga M, Okuyama T, Umeda Y. Divergent clinical outcomes of alpha-glucosidase enzyme replacement therapy in two siblings with infantile-onset Pompe disease treated in the symptomatic or pre-symptomatic state. *Mol Genet Metab Rep.* (2016) 9: 98-105.

2. Takano H, Ishihara T, Kosuga M, Okuyama T. A Senile Case of Late-onset Pompe's Disease. *Intern Med.* (2016) 55: 2723-5.

3. Choy YS, Bhattacharya K, Balasubramaniam S, Fietz M, Fu A, Inwood A, Jin DK, Kim OH, Kosuga M, Kwun YH, Lin HY, Lin SP, Mendelsohn NJ, Okuyama T, Samion H, Tan A, Tanaka A, Thamkunanon V, Thong MK, Toh TH, Yang AD, McGill J. Identifying the need for a multidisciplinary approach for early recognition of mucopolysaccharidosis VI (MPS VI). *Mol Genet Metab.* (2015) 115: 41-7. 4. Bhattacharya K, Balasubramaniam S, Choy YS, Fietz M, Fu A, Jin DK, Kim OH, Kosuga M, Kwun YH, Inwood A, Lin HY, McGill J, Mendelsohn NJ, Okuyama T, Samion H, Tan A, Tanaka A, Thamkunanon V, Toh TH, Yang AD, Lin SP. Overcoming the barriers to diagnosis of Morquio A syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* (2014) 9: 192. 5. Morimoto N, Kitamura M, Kosuga M, Okuyama T. CT and endoscopic evaluation of larynx and trachea in mucopolysaccharidoses. *Mol Genet Metab.* (2014) 112: 154-9

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

ファブリー病の診療ガイドライン作成のための予備調査(総括)

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

研究要旨

ファブリー病はリソソーム水解酵素の1つである β -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。酵素補充療法は 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 2004 年に承認・販売された。現在(2017 年 1 月)、本邦では推定で約 700 名の方が酵素補充療法を受けている。本研究は、ファブリー病の診療ガイドラインの作成のための予備調査である。調査方法は、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。このことは、現在行われている酵素補充療法の安全性や有効性、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であり、診療ガイドライン作成において重要な役割を果たすと考えられる。

A. 研究目的

ファブリー病はリソソーム水解酵素の1つである β -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 β -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(2017 年 1 月)、本邦では推定で約 700 名の方が酵素補充療法を受けている。

本研究の目的は、ファブリー病の診療ガイドライン作成のための予備調査を行うことである。調査方法は、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。このことは、現在行われている酵素補充療法の安全性や有効性、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であり、診療ガイドライン作成において重要な役割を果たすと考えられる。

B. 研究方法

1. 対象

名古屋セントラル病院を受診されたファブリー病患者 58 名を対象とした。

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。

(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

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 β -galactosidase の酵素活性の結果は、男性 4.5 ± 6.1 Agal U (cut off 17.0 Agal U 未満)、女性 14.7 ± 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 ± 10.7 歳 (mean \pm SD)、ヘテロ型 50.5 ± 14.7 歳 (mean \pm SD) であった。発症年齢は、男性 11.7 ± 12.0 歳 (mean \pm SD)、女性 17.5 ± 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 ± 14.4 歳 (mean \pm SD)、女性 40.0 ± 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。

D. 考察

ファブリー病は細胞内の GLA 活性が基準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 Gb-3 などのスフィンゴ糖脂質が進行性に蓄積する先天性代謝異常症である。心臓では心筋細胞に蓄積し、左室肥大や左室拡張能障害を認め、刺激伝導系の細胞にも蓄積し、心電図では左

室側高電位、異常 Q 波。非特異的 ST-T 変化などの多彩な異常が認められる。腎臓では血管平滑筋および内皮細胞への蓄積を認め、血管障害、糸球体上皮細胞障害、尿管間質細胞障害が相互に影響し病状の進行が認められる。

ファブリー病に対する ERT は、欧州で 2001 年に承認され、わが国においても、2004 年に承認された。心臓における ERT の有効性は、心筋に蓄積した Gb-3 の減少、左室心筋重量の減少、刺激伝導系の改善などに加え、心筋に線維化が生じる前の早期から治療を開始することの重要性が報告されている。また、腎臓における有効性は、腎組織内の Gb-3 の減少、腎機能低下の抑制などに加え、腎機能低下が明らかになる前の早期から開始することの重要性も報告されている。

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、ファブリー病に対する診療ガイドラインの作成が重要であると考えられる。

E. 結語

今回、ファブリー病の治療ガイドラインの作成のための前段階として、疼痛および QOL に関する基礎的な調査研究を行った。このことは、現在行われている酵素補充療法の安全性や有効性、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。今後、これらの解析をもとにファ

ブリー病の診療ガイドラインの作成を予定している。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

坪井一哉. 日本における酵素補充療法 ゴーシェ病. 小児科 2016; 57(3): 227-34.

2. 学会発表

坪井一哉, 山本浩志, 後藤裕美, 曾村富士, 栗本幸英. ファブリー病における酵素補充療法の有効性. 第 70 回日交通医学会総会; 2016 June 11st-12nd; 名古屋.

坪井一哉, 山本浩志, 後藤裕美, 羽賀智明. ファブリー病 53 例の頭部画像所見の検討. 第 21 回日本ライソゾーム病研究会; 2016 September 30th - October 1st; 東京.

坪井一哉, 山本浩志. ファブリー病 53 例における脳血管障害と臨床症状との関連性. 第 58 回日本先天代謝異常学会総会; 2016 October 27th-29th; 東京

坪井一哉. 血液内科におけるゴーシェ病の診断と治療. 第 4 回 Network Hematology Cancer; 2016 November 18th; 京都.

坪井一哉. ファブリー病に対する ERT の治療経過. 第 10 回ファブリー病シンポジウム; 2016 March 12th; 東京.

坪井一哉. ゴーシェ病とファブリー病 ~ 基

基礎知識と発見のコツ～. 第 10 回千葉県酵素補充療法研究会; 2016 September 23rd; 千葉.

坪井一哉. Imiglucerase から veraglugerace alfa に切り替えたゴーシェ病 型の 1 例. Case Conference 2016; 2016 December 3rd; 東京.

坪井一哉. 血液疾患に潜在するゴーシェ病. 第 78 回日本血液学会学術集会; 2016 October 14th; 横浜.

坪井一哉. ファブリー病の早期治療の重要性. Genetics Course for Non-Geneticists in Japan; 2016 March 25th; 東京.

坪井一哉. ファブリー病に対する酵素補充療法の有効性. 第 105 回東海臨床遺伝・代謝懇話会; 2016 June 28th; 名古屋.

坪井一哉. ファブリー病の診断から治療まで. 第 121 回日本循環器学会・近畿地方会; 2016 July 16th; 京都.

坪井一哉. ゴーシェ病の基礎知識と発見のコツ. 第 387 回日本血液同好会; 2016 July 13rd; 東京.

後藤裕美, 坪井一哉, 山本浩志, 羽賀智明. ファブリー病 45 例の高感度トロポニン I と心症状の検討. 第 21 回日本ライソゾーム病研究会; 2016 September 30th - October 1st; 東京.

羽賀智明, 坪井一哉, 山本浩志, 後藤裕美.

ファブリー病における 201TLCI と 123I-BMIPP を用いた安静時心筋 SPECT の特徴. 第 21 回日本ライソゾーム病研究会; 2016 September 30th - October 1st; 東京.

Tsuboi K, Yamamoto H, Goto H. Clinical observation of 53 treatment naïve Fabry patients. SSIEM 2016 Annual Symposium 2016 September 6th-9th Rome, Italy.

Tsuboi K. Clinical observation of 13 patients with Fabry disease switched from agalsidase beta to agalsidase alfa. Asian Fabry Masterclass; 2016 September 24th-25th; Seoul, Korea.

Tsuboi K. Clinical observation of 13 patients with Fabry disease switched from agalsidase beta to agalsidase alfa. Fabry symposium in Korea; 2016 April 16th; Seoul, Korea.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

スフィンゴ糖脂質代謝と神経変性疾患のクロストーク

分担研究者： 松田純子（川崎医科大学 病態代謝学 教授）

研究要旨

スフィンゴ糖脂質(GSL)は生体膜の構成脂質で、そのライソゾームにおける分解異常症であるスフィンゴリピドーシスは小児期に重篤な神経症状を引き起こす。一方、スフィンゴリピドーシスの一つであるグルコシルセラミド(GlcCer)の分解異常症 - ゴーシェ病 - の責任遺伝子 GlcCer- β -glucosidase(GBA)のヘテロ接合性変異はパーキンソン病の危険因子であることが明らかになり、スフィンゴリピドーシスと様々な神経変性疾患との関係が注目されている。本研究では、GSL のライソゾームにおける分解に必須のスフィンゴ脂質活性化タンパク質 - サポシン(SAP)およびその前駆体蛋白質であるプロサポシン(PSAP)の遺伝子改変マウスを用いて、黒質 - 線条体ドーパミンニューロン及び網膜の解析を行い、GSL 代謝異常およびSAPs/PSAPが、神経変性疾患の中でもパーキンソン病及び神経セロイドリポフスチン症の発症と密接に関連していることを見出した。

A . 研究目的

本研究班においては、3 年間で主に下記の 3 つの課題に取り組んだ。

- 1) 平成 26 年度：GM2 ガングリオシドーシスの診断基準作成
- 2) 平成 27-28 年度：ライソゾーム病・ペルオキシゾーム病の全国疫学調査
- 3) 平成 26-28 年度：ライソゾーム病の病態解明及び治療法開発に関する基礎的研究
 - a) 遺伝性脱髄疾患 - クラッペ病 - に対する新規治療法の開発研究
 - b) スフィンゴ糖脂質代謝と神経変性疾患のクロストーク

本報告書においては、3)のライソゾーム病の病態解明及び治療法開発に関する基礎的研究のうち b) スフィンゴ糖脂質代謝と神経変性疾患のクロストークについて記述する。

スフィンゴ糖脂質(GSL)は生体膜の構成脂質で、そのライソゾームにおける分解異常症スフィンゴリピドーシスは小児期に重篤な神経症状を引き起こす。一方、スフィンゴリピドーシスの一つであるグルコシルセラミド(GlcCer)の分解異常症 - ゴーシェ病 - の責任遺伝子 GlcCer- β -glucosidase(GBA)のヘテロ接合性変異はパーキンソン病の危険因子であることが明らか

、スフィンゴリピドーシスと様々な神経変性疾患との関係が注目されている。本研究では、GSL のライソゾームにおける分解に必須のスフィンゴ脂質活性化タンパク質 - サポシン(SAPs)およびその前駆体蛋白質であるプロサポシン(PSAP)の遺伝子改変マウスが、いずれも神経変性疾患を発症するという知見を踏まえ、GSL 代謝異常と神経変性疾患、中でもパーキンソン病及び神経セロイドリポフスチン症(Neural Ceroid Lipofuscinosis (NCL))との関連を明らかにすることを目的とした。

B . 研究方法

サポシン C ノックアウトマウス(SAP-C-KO)およびサポシン D ノックアウトマウス(SAP-D KO)由来の脳組織を用い、組織病理学的手法で黒質 - 線条体のドーパミンニューロンの変性・脱落の有無を解析した。

プロサポシン過剰発現マウス(PSAP-Tg)の網膜を組織病理学的、生化学的手法により解析し、網膜病変と SAPs/PSAP 発現量との関連を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究における遺伝子組み換え実験および遺伝子改変動物を用いる動物実験については、川崎医科大学組換え DNA 実験安全委員会および

動物実験委員会の承認を受けており、その規則に従い適正に実験を行っている。

C . 研究結果

SAP-C KO、SAP-D KO から脳組織標本を作製し、黒質 - 線条体のドーパミンニューロンに着目して、光学顕微鏡観察 (一般染色)、共焦点顕微鏡観察 (免疫組織染色) を行った。その結果、SAP-D KO 脳において、ドーパミンニューロンのマーカーである抗 Tyrosine hydroxylase (TH) 抗体を用いた免疫組織染色で、TH 陽性黒質 - 線条体ドーパミンニューロンの数の減少、形態異常を認めた。抗 SAP-B 抗体との多重免疫組織染色で、TH 陽性ニューロンに SAPs/PSAP の異常蓄積を認めた。Western blot 解析では SAP-D KO 脳組織において PSAP の著明な蓄積を認めた。

PSAP-Tg 網膜では、出生時には正常であった視細胞が 3 週齢頃から脱落し始め、5 週齢までには完全に脱落することが明らかになった。一方、プロサポシンノックアウトマウス (PSAP-KO) 網膜には視細胞の変性脱落を認めなかった。これらの結果から、網膜での PSAP の発現量の上昇が網膜視細胞死を惹起していると示唆された。

D . 考察

GSL は哺乳動物の生体膜の outer leaflet に存在する膜脂質で、細胞内外のシグナル伝達にかかわる生体膜上の超分子構造「脂質ラフト」の構成成分として注目されている。GSL の発現は合成と分解の代謝バランスによって厳格にコントロールされており、その代謝異常は様々な疾患と関連している。中でも、ライソゾームにおける GSL の分解異常はスフィンゴリピドーシスと呼ばれる、主として小児期に重篤な神経症状で発症する希少難病を引き起こす。

近年、スフィンゴリピドーシスの一つであるグルコシルセラミド (GlcCer) の分解異常症であるゴーシェ病の責任遺伝子 GlcCer- β -glucosidase (GBA) のヘテロ接合性変異がパーキンソン病の危険因子であることが明らかになり (Sidransky E, et al. N. Engl. J. Med. 2009)、Rare disease であるスフィンゴリピドーシスと Common disease である様々な神経変性疾患との関係が注目されている。GSL 代謝とパーキンソン病の関連については、多くの研究者が、ゴーシェ病の責任遺伝

子である GBA、その活性化タンパク質である SAP-C あるいは蓄積物質である GlcCer との関係に着目して研究を行っている。

我々は SAP-C KO、SAP-D KO に加え、PSAP-Tg を世界に先駆けて作製・解析しており、本研究によって、SAP-D KO はパーキンソン病の疾患モデルマウスとして有用であることを見出した。現在、マウス脳組織およびマウス胎児線維芽細胞 (MEF)、iPS 由来ドーパミンニューロンを用いて、PSAP および SAPs の蓄積と黒質 - 線条体のドーパミンニューロンの変性・脱落のメカニズムの解明に取り組む準備を進めている。

NCL は視力障害がほぼ必発の神経変性疾患で、現在 14 個 の原因遺伝子が同定されている。しかし、その神経病態は十分には解明されておらず、有効な治療法も存在しない。NCL の少なくとも 3 つにおいて SAPs の蓄積が指摘されているが、その病態への関与は不明である。本研究で見出した PSAP-Tg における網膜視細胞死は、網膜での PSAP の発現量の上昇が NCL における網膜視細胞死、視力障害を惹起している事を示唆しており、PSAP-Tg は NCL の病態における SAPs/PSAP の関与を解明する糸口になる有用なモデルマウスであるといえる。

E . 結論

本研究によって、SAP-D KO はパーキンソン病の疾患モデルマウスとして、PSAP-Tg は NCL の疾患モデルマウスとして有用であることを見出した。

今後は、PSAP および SAPs によるパーキンソン病および NCL 発症のメカニズムを個体レベル、細胞レベルで解明することに取り組む。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) **松田純子**: シアリドーシス 神経症候群 . 日本臨牀 . 2014 年 6 月 20 日発行別冊 p.792-795.
- 2) Yoneshige A, Muto M, Watanabe T, Hojo H, **Matsuda J**. The effects of chemically synthesized saposin C on glucosylceramide- β -glucosidase. *Clin Biochem*. 2015, 48 (16-17): 1177-1180.
- 3) **松田純子**. 糖鎖蓄積症 . 糖鎖の新機能開発

・応用ハンドブック． - 創薬・医療から食品開発まで - .(株)エヌ・ティ・エス , 2015年8月12日発行 p.215-220.

- 4) Yamamoto T, **Matsuda J**, Dateki S, Ouchi K, Fujimoto W. Numerous intertriginous xanthomas in infant: A diagnostic clue for sitosterolemia. *J Dermatol.* 2016, 43 (11):1340-1344.
- 5) Ono S, **Matsuda J**, Saito A, Yamamoto Y, Fujimoto W, Shimizu H, Dateki S, and Ouchi K. A case of sitosterolemia due to compound heterozygous mutations in ABCG5: clinical features and treatment outcomes obtained with colestimide and ezetimibe. *Clin Pediatr Endocrinol*, 2017, 26 (1), 17-23.

2. 学会発表

- 1) **松田純子** : スフィンゴ糖脂質の機能と疾患 - 遺伝子改変マウスから見えてきたこと - 第9回香川先天代謝異常症研究会 特別講演 2014年11月7日 高松 .
- 2) **松田純子**、小野公嗣、武藤真長、米重あづさ . : プロサポシン過剰発現マウスは網膜視細胞変性を呈する . 第87回日本生化学会大会 . 2014年10月15-18日 京都 .
- 3) 小野公嗣、武藤真長、米重あづさ、**松田純子** . : プロサポシンノックアウトマウス網膜の組織病理学的解析 . 第87回日本生化学会大会 . 2014年10月15-18日 京都 .
- 4) 久樹晴美、只野 - 有富桂子、宮川誠、大熊 - 栗林恵美子、内田俊也、**松田純子**、戸田年総、岡崎具樹 . : Saposin D 欠損マウスは腎尿細管性アシドーシスを引き起こす - 炭酸脱水酵素(CA2)の異常が原因か? 第87回日本生化学会大会 . 2014年10月15-18日 京都 .
- 5) **松田純子** : スフィンゴ糖脂質のセラミド骨格の構造多様性が担う生物機能 . 第56回 日本脂質生化学会 . 2014年6月6-7日 大阪 .
- 6) 小野佐保子、**松田純子**、齋藤亜紀、山本剛伸、藤本亘、近河日智、森内浩幸、伊達木澄人、尾内一信 . : コレスチミド/エゼチニブ併用療法が有効であったシトステロール血症の1歳女児例 . 第118回日

本小児科学会学術集会 2015年4月16-19日 大阪 .

- 7) **松田純子**、小野公嗣、武藤真長、米重あづさ、吉村 眞一 : プロサポシン過剰発現マウスは網膜視細胞の変性脱落を呈する . 第57回 日本脂質生化学会 . 2015年5月28-29日 東京 .
- 8) **Matsuda J**, Ono K, Watanabe T, Yoneshige A, Muto M, Suzuki A. : Central nervous system pathology in the phytosphingolipid-deficient mouse. 25th Biennial Meeting of the International Society for Neurochemistry. August 23-27, 2015, Cairns, Australia.
- 9) Ono K, Muto M, Yoneshige A, Yoshimura S, **Matsuda J** . : Role of prosaposin in retinal degeneration. 25th Biennial Meeting of the International Society for Neurochemistry. August 23-27, 2015, Cairns, Australia.
- 10) **松田純子**、小野公嗣、渡辺 昂、鈴木明身 : スフィンゴ糖脂質セラミド骨格の構造多様性が担う生物機能の解明 . 第20回日本ライソゾーム病研究会 2015年10月2-3日 東京 .
- 11) 小野佐保子、**松田純子**、齋藤亜紀、山本剛伸、藤本亘、近河日智、森内浩幸、伊達木澄人、尾内一信 : コレスチミド・エゼチニブ併用療法が有効であったシトステロール血症の1歳女児例 . 第49回日本小児内分泌学会学術集会 2015年10月8-10日 東京 .
- 12) **松田純子** : スフィンゴ脂質代謝異常症の基礎と臨床 . 第5回 岡山ライソゾーム病セミナー (特別講演) 2015年11月12日 岡山 .
- 13) **松田純子** : スフィンゴ糖脂質の機能と疾患 - 遺伝子改変マウスから見えてきた生物機能 - . 第5回 岡山ライソゾーム病セミナー (招待講演) 2015年11月26日 倉敷 .
- 14) **松田純子**、小野公嗣、鈴木衣子、鈴木明身 . : フィトスフィンゴ脂質欠損マウス中枢神経系の病態解析 . BMB2015 (第87回日本生化学会大会と第38回日本分子生物学会年会の合同大会) 2015年12月1-4日 神戸 .

- 15) **松田純子**：スフィンゴ脂質の構造多様性が担う生物機能 .東北薬科大学 分子生体膜研究所セミナー(招待講演)2015年12月14日 仙台 .
- 16) **松田純子**：スフィンゴ糖脂質の機能と疾患. 第1回 稀少疾患セミナー(特別講演)2016年3月5日 立命館大学 BKC キャンパス .
- 17) **松田純子**：スフィンゴ脂質代謝異常の基礎と臨床 ~ Rare disease から Common disease へ ~ 第51回 順天堂大学 神経学セミナー(招待講演)2016年7月8日 東京 .
- 18) 小野佐保子、**松田純子**、河野美奈、赤池洋人、荻田聡子、升野光雄、尾内一信：Septo-Optic Dysplasia の2症例. 第50回日本小児内分泌学会学術集会 2016年10月16-17日 東京 .
- 19) 森本優一、河野美奈、寺西英人、赤池洋人、宮田一平、**松田純子**、升野光雄、寺田喜平、尾内一信：症候性低血糖のコントロールに難渋した3番染色体長腕部分トリソミー、9番染色体短腕部分モノミーの一例 .第68回 中国・四国小児科学会 2016年10月29-30日 高松 .
- 20) **松田純子**：スフィンゴ糖脂質の機能と疾患 ~ Rare disease から Common disease へ ~ 第89回 日本小児科学会 岡山地方会(教育講演)2016年12月4日 岡山 .

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

ペルオキシソーム病診断実績と副腎白質ジストロフィーガイドラインの作成

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）

研究要旨: ペルオキシソーム病患者の診断調査研究については平成 26 年 1 月から平成 28 年 12 月までの三年間に、副腎白質ジストロフィー (ALD) では小児大脳型 16 例、思春期大脳型 3 例、成人大脳型 8 例、AMN 10 例、小脳脳幹型 2 例、アジソン型 5 例、女性保因者 38 例、発症前 9 例の計 91 例を、ALD を除くペルオキシソーム病では Zellweger 症候群 6 例、乳児型レフサム病 1 例、根性点状軟骨異形成症 1 例、ペルオキシソーム二頭酵素欠損症 1 例、ペルオキシソーム形成異常症の臨床亜型 3 例、病態未確定のペルオキシソーム代謝異常症を 5 例の併せて 108 症例のペルオキシソーム病を診断し、調査研究に繋げた。さらに平成 26 年度末には ALD とペルオキシソーム病 6 疾患の計 7 疾患の診断基準を含む手引きを作成、平成 28 年度末には副腎白質ジストロフィー (ALD) 診療ガイドライン 2017 を作成した。以上により、当初に策定した 3 つの研究目的は三年間で確実に達成した。

研究協力者氏名
所属機関名及び所属機関における職名

高島茂雄・岐阜大学ゲノム研究分野・助教
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
武本祥子・岐阜大学ゲノム研究分野・
技術補佐員

A．研究目的

稀少難病である ALD&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、診断基準・ガイドラインを作成する。

B．研究方法

1. ペルオキシソーム病国内診断実績：

全国の医療機関より依頼されたペルオキシソーム病疑いの患者診断依頼に関しては、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、診断スクリーニングの上、細胞、タンパク、遺伝子レベルでの解析

にて、出来るだけ迅速に確定診断を行い、診断結果を治療も含めた診療情報とともに提供し、調査研究に繋げる。

2. ペルオキシソーム病診断の手引きの作成

ALD、ペルオキシソーム形成異常症、ペルオキシソーム酸化系酵素欠損症、レフサム病、プラスマローゲン合成系酵素欠損症、原発性高シユウ酸尿症型、アカタラセミアの 7 疾患に関して、疾患概要、臨床病型、診断基準、鑑別診断、補足説明の 5 項目について原案を作成の上、研究班内のペルオキシソームグループに属する分担研究者とも検討した。

3. ALD 診療ガイドラインの作成

日本造血細胞移植学会の 3 名の国内 ALD の移植エキスパートを研究協力者に加えて、執筆・編集委員 5 名、システマティックレビュー委員 3 名、担当委員 7 名の計 15 名からなる ALD 診療ガイドライン作成委員会を構成し、編集作業を進めた。

(倫理面への配慮)

学内倫理委員会の承認のもとに調査研究を進めている。

C．研究結果

1. ペルオキシソーム病国内診断実績：

平成 26 年 1 月から平成 28 年 12 月までの三年間

に、副腎白質ジストロフィー(ALD)では小児大脳型16例、思春期大脳型3例、成人大脳型8例、AMN10例、小脳脳幹型2例、アジソン病5例、女性保因者38例、発症前患者9例の計91例を、ALDを除くペルオキシソーム病では Zellweger 症候群6例、乳児型レフサム病1例、根性点状軟骨異形成症1例、ペルオキシソーム二頭酵素欠損症1例、ペルオキシソーム形成異常症の臨床亜型3例、病態未確定のペルオキシソーム代謝異常症を5例の併せて108症例のペルオキシソーム病を診断し、調査研究に繋げた。

2. ペルオキシソーム病診断の手引きの作成

ALDおよび6つのペルオキシソーム病において、診断基準を含む5つの項目からなる診断の手引きを作成し、2015年3月発刊の「ライソゾーム病・ペルオキシソーム病診断の手引き」58-70ページに掲載した。

3. ALD診療ガイドラインの作成

診療ガイドラインは、治療に関する4つのCQと推奨、推奨の強さ、エビデンスレベルを含む以下の項目からなる41ページの「副腎白質ジストロフィー(ALD)診療ガイドライン2017」を作成し、2017年3月に発刊予定である。

I. 疾患概要

- 定義
- 疫学
- 病因・病態
- 症状
- 予後

II. 診断基準

- 主要症状および臨床所見
- 参考となる検査所見
- 鑑別診断
- 確定診断

III. 治療

- 治療に関するクリニカルクエスチョン
 - CQ1 ALDにロレンツォオイルの投与は推奨されるか？
 - CQ2 小児・思春期大脳型の移植をどのように判断したらよいか？
 - CQ3 発症前の移植をどのように判断したらよいか？
 - CQ4 成人大脳型の移植をどのように判断したらよいか？

V 早期診断・発症前診断の推奨

VI 予後・療育

VII 最近のトピックス

- ・引用文献
- ・関連資料・リンク先
- ・ALD診療支援・相談に関する情報

D. 考察

ペルオキシソーム病患者の国内診断機能は順調に稼働し、診断の参考となる手引きも作成した。ALD診療ガイドラインに関しては班会議の中でも希少疾患に対するガイドライン作成に対しての問題点が提示された。その中で、今回作成したガイドラインに関しては、文献によるエビデンスと国内エキスパートオピニオンも考慮した上で、設定したクリニカルクエスチョンに対しては、文献レビューに基づき全ての症例を検討、アウトカムを評価し、推奨の作成から全体の編集を進めた。

E. 結論

国内ALD&ペルオキシソーム病診断施設として、3年間に108例のペルオキシソーム病国内症例を診断し、最新の診療情報を提供するとともに調査研究に繋げた。さらに平成26年度末には7つのペルオキシソーム病を含む診断の手引きを作成、平成28年度末には副腎白質ジストロフィー診療ガイドライン2017を作成し、当初の研究目的に掲げた3項目を達成した。

F. 研究発表

1. 研究成果出版物

・診断の手引き

「ライソゾーム病・ペルオキシソーム病診断の手引き」厚生労働省難治性疾患克服研究事業ライソゾーム病に関する調査研究班(編). 診断と治療社. 2015年3月発行

・診療ガイドライン

「副腎白質ジストロフィー(ALD)診療ガイドライン2017」厚生労働省難治性疾患克服研究事業ライソゾーム病に関する調査研究班(監). 副腎白質ジストロフィー(ALD)診療ガイドライン作成委員会(編). 診断と治療社. 2017年3月発行予定

2. 論文発表(ALD&ペルオキシソーム病関連)

Isogawa M, Yoshida S, Shimozaawa N.
Evaluation of fourier transform
infrared spectroscopy for diagnosis of

peroxisomal diseases with abnormal very-long-chain fatty acid metabolism. *Am J Analytical Chemistry* 5; 359-366, 2014.

Ohkuma Y, Hayashi T, Yoshimine S et al. Retinal Ganglion Cell Loss in X-linked Adrenoleukodystrophy with an ABCD1 Mutation (Gly266Arg). *Neuro-Ophthalmology*, 38(6): 331-335, 2014.

Komatsuzaki S, Ogawa E, Shimozawa N et al. First Japanese case of Zellweger syndrome with a mutation in PEX14. *Pediatrics International* 57: 1189-1192, 2015.

Matsunami M, Shimozawa N, Fukuda A et al. Living-donor liver transplantation from a heterozygous parent for infantile Refsum disease. *Pediatrics*, 2016; 137 (6): e20153102.

Morita M, Matsumoto S, Okazaki A et al. A novel method for determining peroxisomal fatty acid β -oxidation. *J Inherit Metab Dis* 39 (5): 725-31, 2016.

Motobayashi M, Morita D, Kurata T et al. Serial Monitoring of Plasma Levetiracetam Levels in a Child With Epilepsy Undergoing Cord Blood Transplantation. *Pediatric Neurology* 64: e5-6, 2016.

Takashima S, Toyoshi K, Itoh T et al. Detection of unusual very-long-chain fatty acid and ether lipid derivatives in the fibroblasts and plasma of patients with peroxisomal diseases using liquid chromatography-mass spectrometry. *Molecular Genetics and Metabolism* 2017: S1096-7192 (16): 30180-9.

下澤伸行. ペルオキシソーム病 (副腎白

質ジストロフィー、ペルオキシソーム形成異常症)小児科診療 2014年 77巻増刊号、小児の治療指針 548-551, 2014.

下澤伸行. 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 No28 神経症候群 (第2版) Pp728-736. 日本臨床社. 2014.

下澤伸行. ペルオキシソーム病. 引いて調べる先天代謝異常症 日本先天代謝異常学会編. pp34-37. 診断と治療社. 2014.

下澤伸行. ペルオキシソーム. プロGRESS シブ生命科学 米田悦啓他、編. pp60-63. 南山堂 2014.

下澤伸行. 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 No31 神経症候群 (第2版) . pp229-236. 日本臨床社. 2014.

下澤伸行. 特集・第56回日本小児神経学会学術集会 シンポジウム5: 見逃してはならない治療法のある、あるいは今後期待できる小児神経疾患: 診断と治療の最前線. 副腎白質ジストロフィー. 脳と発達 47(2) 117-121. 2015.

下澤伸行. ペルオキシソーム病(ペルオキシソーム形成異常症). こどもの病気遺伝について聞かれたら. 診断と治療社 pp68-69, 2015.

下澤伸行. 副腎白質ジストロフィー. こどもの病気 遺伝について聞かれたら. 診断と治療社 pp137-139, 2015.

下澤伸行. ペルオキシソーム病. 今日の小児治療指針 第16版 pp.223-224. 医学書院. 2015.

下澤伸行. 副腎白質ジストロフィー. 難病辞典 尾崎承一編 pp485-489. 学研メディカル秀潤社. 2015.

下澤伸行. ペルオキシソーム病. 難病辞典. 尾崎承一編 pp490-492. 学研メディカル秀潤社 2015.

下澤伸行. 副腎白質ジストロフィー. 内分泌シリーズ 難治性内分泌代謝疾患 Update 成瀬光栄、平田結喜緒、田辺晶代編 pp78-80. 診断と治療社. 2015.

下澤伸行. 副腎白質ジストロフィー.

小児科診療 特集 先天代謝異常症-エキスパートによる最新情報- 79(6) 825-831. 2016.

- 21 下澤伸行. ペルオキシソーム病 診断と治療の最前線 -拡大する疾患概念と副腎白質ジストロフィー- 日本小児科学会雑誌 120(9) 1308-1319. 2016.
- 22 下澤伸行. ペルオキシソーム病(副腎白質ジストロフィーを中心に). 遺伝学的検査・診断・遺伝カウンセリングの上手な進めかた 奥山虎之、山本俊至編 pp69-73. 診断と治療社 2016.
- 23 下澤伸行. ペルオキシソーム病(副腎白質ジストロフィー). 小児内科 48(10) 特集 慢性疾患児の一生を診る 1431-1434. 2016.
- 24 下澤伸行. ペルオキシソーム病. 小児内科 48 増刊号、小児疾患診療のための病態生理 3 139-148, 2016.

3. 学会発表等(関連シンポジウム・招待講演)
下澤伸行: ペルオキシソーム機能・代謝異常と疾患シンポジウム「ペルオキシソームと難治性疾患」日本薬学会第 135 年会、神戸、2015.

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「脳を標的とした先天代謝異常症の治療戦略」第 57 回日本先天代謝異常学会、第 13 回アジア先天代謝異常症シンポジウム、大阪、2015.

下澤伸行: ALD&ペルオキシソーム病の診断ガイドラインと診療ネットワーク. ライソゾーム病に関する調査研究班市民フォーラム 2016、東京、2016.

下澤伸行: 副腎白質ジストロフィー(ALD)診療ガイドライン作成に向けて. 特別シンポジウム「ライソゾーム病のガイドラインについて」第 21 回日本ライソゾーム病研究会、東京、2016.

Shimozawa N: Diagnosis and treatment

of Peroxisomal diseases in Japan. The 1st International Plasmalogen Symposium. Fukuoka. 2016.

下澤伸行: ALD&ペルオキシソーム病の診断ガイドライン. ライソゾーム病に関する調査研究班. 第 3 回市民フォーラム. 東京. 2016.

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

ライソゾーム病・ペルオキシソーム病診断の手引きならびに
副腎白質ジストロフィー診療ガイドラインの作成

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：ライソゾーム病・ペルオキシソーム病 診断の手引きならびに副腎白質ジストロフィー（ALD）診療ガイドラインを作成した。最近のトピックスに関して、「病態解明研究の最先端」を執筆した。ライソゾーム病・ペルオキシソーム病 診断の手引きでは、ALD、ペルオキシソーム形成異常症、ペルオキシソームβ酸化系酵素欠損症、レフサム病、プラスマローゲン合成系酵素欠損症、原発性高シュウ酸尿症Ⅰ型、アカタラセミアを取り上げた。ALD 診療ガイドラインでは、クリニカルクエスチョン（CQ）を設定し、科学的根拠に基づく推奨文を作成した。早期診断、早期介入ならびに適切な治療法の選択に有用な内容とした

研究協力者氏名

所属機関名及び所属機関における職名

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

A．研究目的

厚生労働省における難治性疾患等政策研究事業では、特定疾患（難病）についてのガイドラインの策定が求められている。「ライソゾーム病・ペルオキシソーム病 診断の手引き」の作成では、ALD とペルオキシソーム病 6 疾患を取り上げ、科学的根拠に基づく診断基準を作成することを目的とした。ALD 診療ガイドラインの作成では、科学的根拠に基づき、系統的な手法により作成された推奨をもとに、患者と医療者を支援し、エビデンスに基づいた全国共通の診断基準ならびに難治性疾患の医療水準の向上に貢献することを目的とした。

B．研究方法

「ライソゾーム病・ペルオキシソーム病 診断の手引き」の作成では、ALD ならびにペルオキシソーム病に関する文献調査と、これまでの研究班での基礎研究成果ならびに診断と治療実績を踏まえ、診断基準を作成した。ALD 診療ガイドラインの作成では、文献検索と関連資料をも

とに、クリニカルクエスチョン（CQ）を設定し、科学的根拠に基づく推奨文を作成した。文献数や症例数の少なさから、評価、選定の難しさがあったが、可能なかぎり Minds の精神に沿うように努めた。

（倫理面への配慮）

学内倫理委員会の承認のもとに調査研究を進めた。

C．研究結果

1. ライソゾーム病・ペルオキシソーム病 診断の手引き

診断基準がエビデンスに基づくことを考慮し、疾患の概要、臨床病型、診断基準、鑑別診断、補足説明の項目立てとした。記載すべき内容を精査した。以下に主な点を示す。

ALD

I. 疾患概要

病因が *ABCD1* 遺伝子の異常によること、病態が小児大脳型から adrenomyeloneuropathy (AMN) など多様性を示すことを記載した。

II. 臨床病型

小児大脳型、思春期大脳型、AMN、成人大脳型、小脳・脳幹型、アジソン型、女性発症者について特徴をまとめた。

III. 診断基準

主要臨床所見（神経症状、知的機能障害、眼科的所見、歩行障害、錐体路徴候、耳鼻科的所見、感覚障害、自律神経障害、副腎不全症状）、診断の参考になる検査所見（画像診断、神経生理的検査、副腎機能検査）診断の根拠となる検査（血中極長鎖脂肪酸分析、*ABCD1* 遺伝子解析）を記載した。

IV. 鑑別診断

小児と成人に分け、該当する疾患をあげた。

ペルオキシソーム形成異常症

I. 疾患概要

PEX 遺伝子異常による神経症状と全身臓器障害を記載した。

II. 臨床病型

変異する *PEX* 遺伝子の違いと病態より、ツェルバーガースペクトラムと肢根型点状軟骨異形成症（*RCDP1* 型）に分類した。

III. 診断基準

ツェルバーガースペクトラムでは、主要臨床所見（筋緊張低下、進行性白質ジストロフィー）診断の参考となる所見（血中極長鎖脂肪酸の蓄積、プラスマローゲンの低下等）診断の根拠となる検査（免疫染色）確定診断（*PEX* 遺伝子の解析）を記載した。*RCDP1* 型では、同様の項目で、近位優位な対称性の四肢短縮症と関節の点状石灰化、血中プラスマローゲンの減少、*PEX7* 遺伝子解析等を記載した。

IV. 鑑別診断

ツェルバーガースペクトラムと *RCDP1* 型と類似した疾患をあげた。

ペルオキシソーム 酸化系酵素欠損症

I. 疾患概要

ペルオキシソームにおける脂肪酸 酸化系諸酵素と代謝産物の異常について記載した。

II. 臨床病型

報告されているペルオキシソーム脂肪酸 β 酸化系酵素の欠損別に、アシル CoA オキシダーゼ（*AOX*）欠損症、二頭酵素（*DBP*）欠損症、ステロールキャリアプロテイン X（*SCPx*）欠損症、2-methylacyl-CoA racemase（*AMACR*）欠損症に分類した。

III. 診断基準

4つの酵素欠損症について、主要臨床所見としては、新生児から乳児期の臨床症状を記載し

た。*SCPx* 欠損症と *AMACR* 欠損症については成人例についても触れた。また4種の欠損症について、画像診断、血中ペルオキシソーム代謝産物の測定を記載した。診断の根拠となる検査にはイムノプロット法、各酵素の遺伝子診断をあげ、確定診断は、臨床所見と上記検査を合わせて診断することを示した。

IV. 鑑別診断

他のペルオキシソーム病や白質ジストロフィー等との鑑別を述べた。

レフサム病

I. 疾患概要

ペルオキシソームに局在する脂肪酸 α 酸化系酵素の phytanoyl-CoA hydroxylase (*phyH*) の欠損により血中のフィタン酸が増加すること、早期発症の網膜色素変性症に無嗅覚症、末梢神経障害、難聴、小脳失調、魚鱗癬を特徴とすることを述べた。

II. 臨床病型

レフサム病に加え、*PEX7* 遺伝子異常の中でレフサム様の臨床像を示す症例を *PEX7* 遺伝子関連レフサム病として分類した。

III. 診断基準

主要臨床所見（網膜色素変性症による夜盲、嗅覚障害、多発ニューロパチー、聴力障害、小脳失調、魚鱗癬等）診断の参考となる検査所見（髄液タンパクの増加）診断の根拠となる検査所見（血中フィタン酸の測定、*PHYH* または *PEX7* 遺伝子解析）について記載した。確定診断としては、主要臨床所見で述べた項目と血中フィタン酸の増加をあげた。

IV. 鑑別診断

網膜色素変性症、難聴、成人発症の末梢神経障害や小脳失調、魚鱗癬や、フィタン酸の蓄積を認めるペルオキシソーム病をあげた。

プラスマローゲン合成酵素系酵素欠損症

I. 疾患概要

ペルオキシソームに局在するプラスマローゲン合成の第1段階を触媒する dihydroxyacetonephosphate (*DHAP*) acyltransferase と、第2段階を触媒する alkyl-DHAP synthase の欠損症であること、血中や組織のプラスマローゲンの低下と、近位肢型点状軟骨異形成症（*RCDP*）を呈することを記載した。

II. 臨床病型

近位肢型点状軟骨異形成症 2 型 (RCDP 2 型) と同 3 型 (RCDP 3 型) に分類した。

III. 診断基準

主要所見 (近位肢型点状軟骨異形成症の臨床像、異常顔貌、白内障、重度の精神運動発達遅滞) 診断の参考となる検査所見 (骨レントゲン像、血中・組織のプラスマローゲン含量の低下) 診断の根拠となる検査所見 (線維芽細胞を用いたプラスマローゲン合成系酵素活性の低下、RCDP 2 型では DHAP acyltransferase 活性、3 型では alkyl-DHAP synthase 活性の低下、DHAP acyltransferase、alkyl-DHAP synthase 遺伝子解析) を基準することを示した。確定診断は、主要臨床所見、血中や組織のプラスマローゲン含量の低下、DHAP acyltransferase または alkyl-DHAP synthase の活性低下ならびに DHAP acyltransferase または alkyl-DHAP synthase の遺伝子変異を認めることとした。

V. 鑑別診断

臨床像からの鑑別としては骨系統疾患、RCDP 1 型との鑑別はフィタン酸の蓄積やペルオキシソームに局在する 3-ketoacyl-CoA thiolase のプロセッシングに異常を認めないこととした。ツェルバーガー症候群との鑑別は極長鎖脂肪酸の蓄積や免疫染色で catalase などのペルオキシソーム局在化異常を認めないこととした。

原発性高シュウ酸尿症 I 型

I. 疾患概要

肝臓内にシュウ酸の前駆物質であるグリオキシル酸ならびにシュウ酸が蓄積する常染色体劣性遺伝性疾患であることを説明した。

II. 臨床病型

肝臓のペルオキシソームに存在する AGT 酵素欠損による原発性高シュウ酸尿症 1 型 (PH1)、肝臓のサイトゾルに局在するグリオキシル酸還元酵素/ヒドロキシピルビン酸還元酵素 (GRHPR) の欠損によりグリオキシル酸が蓄積する原発性高シュウ酸尿症 2 型 (PH2)、4-hydroxy-2-oxoglutarate aldolase 1 をコードしている *DHDPSL* 遺伝子の変異による原発性高シュウ酸尿症 3 型 (PH3) に分類した。

III. 診断基準

主要臨床所見 (尿路結石の典型的症状である腎仙痛、尿路結石を繰り返しての腎石灰化症、腎不全、末期の腎不全) 診断の参考となる検査

所見 (尿一般検査、腎エコー) 診断の根拠となる検査 (生化学的検査、肝生検による AGT 酵素活性の測定、*AGXT* 遺伝子解析) をあげた。確定診断は、主要臨床所見、尿中シュウ酸、グリコール酸排泄量、血中シュウ酸値の上昇、肝生検による AGT 酵素活性の低下 *AGXT* 遺伝子変異を認めることとした。

IV. 鑑別診断

繰り返す尿路結石や腎石灰化を来す疾患。

アカタラセミア

I. 疾患概要

カタラーゼ (catalase) が欠損する常染色体劣性遺伝性疾患で、カタラーゼ遺伝子変異をホモ接合で有しているアカタラセミア、カタラーゼ遺伝子変異をヘテロ接合に有するヒポカタラセミアについて説明した。

II. 臨床病型

アカタラセミアでは、臨床的には進行性の壊疽性口腔炎から歯槽膿漏を呈すること、ヒポカタラセミアでは、2 型糖尿病の発症リスクとの相関が報告されていることを述べた。

III. 診断基準

主要臨床所見 (幼少期に歯肉部に発症する口腔壊疽、進行性で歯肉辺縁の潰瘍から歯周組織全般の壊疽) 診断の根拠となる検査所見 (血中カタラーゼ活性の測定、カタラーゼ遺伝子解析) 確定診断 (主要臨床所見で述べた項目、血中カタラーゼ活性の低下、カタラーゼ遺伝子変異の同定) をあげた。

IV. 鑑別診断

進行性壊疽性口内炎、歯槽膿漏。

2. ALD 診療ガイドライン

ガイドライン作成にあたっては、国内外の文献、各委員による国内診療実績、班会議における議論などを踏まえ、エキスパートオピニオンを主体とし、ライソゾーム病・ペルオキシソーム病「診断の手引き」や厚生労働省の診断基準、指定難病医向けテキストの内容も取り入れた。治療に関する 2 つの項目について 4 つのクリニカルエスチョン (CQ) を設定し、症例対象研究や症例報告の文献レビューと、難治性疾患等政策研究事業 先天代謝異常症に対する移植療法の確立とガイドラインの作成に関する研究班 (加藤班) で得られたデータおよびエキスパ

ートオピニオンをもとに推奨文を作成した。以下に主な点を示す。

I. 疾患概要 (定義、疫学、病因・病態、症状、予後) II. 診断基準 (主要症状および臨床所見、参考となる検査所見、確定診断) については、「ライソゾーム病・ペルオキシソーム病 診断の手引き」を参考にし、改訂した。

III. 治療については、ロレンツォオイル、造血幹細胞移植、AMN および女性発症者、副腎皮質ホルモン補充療法に分類した。

IV. 治療に関する CQ は、以下の4点とした。
CQ1 副腎白質ジストロフィーにロレンツォオイルの投与は推奨されるか？

ロレンツォオイルの投与はいずれの病型の副腎白質ジストロフィー患者に対しても積極的には推奨されない。(推奨の強さ 2, エビデンスレベル C)

CQ2: 小児・思春期大脳型の移植をどのように判断したらよいか？

小児・思春期大脳型では発症後、できるだけ早期の移植が推奨される。そのためには発症後の迅速な診断と家系解析による発症前診断も重要である。(推奨の強さ 1, エビデンスレベル B)

CQ3: 発症前の移植をどのように判断したらよいか？

大脳型発症前症例では、定期的な神経学的所見、脳 MRI 画像等により大脳型発症を確認次第、速やかに移植を実施することが推奨される。(推奨の強さ 1, エビデンスレベル B)

CQ4: 成人大脳型の移植をどのように判断したらよいか？

成人大脳型においても発症早期の移植は推奨される。(推奨の強さ 2, エビデンスレベル C)

V. 早期診断・発症前診断の推奨では、発症後早期診断の推奨、発端者の家系解析から at risk 患者診断の推奨、発症前患者の長期フォローアップ指針の項目でまとめた。

VI. 予後・療育では、患者 QOL 改善の観点からまとめた。

VII. 最近のトピックスでは、造血幹細胞移植後のミエロパチーの発症、ALD の遺伝子治療、ALD の新生児マススクリーニング、病態解明研究の最先端のトピックのうち、病態解明研究の最先端を執筆した。

D. 考察

希少疾患である ALD 診療ガイドライン作成にあたっては、エビデンスが少ない中で Minds の手法に従い科学的根拠を示すことに難しさがあった。また、医療における実際の治療の視点を考慮し、科学的根拠のみでは判断が困難な状況も考慮して作成した。

E. 結論

ALD では早期治療が極めて重要である。そのため、ALD の疾患情報を広く周知して早期診断につなげるとともに、発症前診断の重要性を共有する内容とした。また、ALD の診療では多岐にわたる専門領域の連携が重要であることから、最新の診療情報と国内診療ネットワーク情報を提供することにより、国内のどの地域における医療関係者も ALD を正しく理解し、最新知見に基づく診療が選択され、患者の予後改善につなげることを目的に作成した。

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

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

副腎白質ジストロフィーのガイドライン作成

分担研究者： 小林 博司（東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター）

研究要旨：

副腎白質ジストロフィー（ALD）のマイズに基づくガイドライン作成に分担研究者として参加した。主に造血幹細胞移植、ロレンツォオイルの治療に対する評価を中心に討議し、clinical question（CQ）設定後主要論文を集めてエビデンス評価し、推奨文作成のうえでガイドラインを作成し出版準備した。

所属機関名及び所属機関における職名

東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター

准教授

A．研究目的

副腎白質ジストロフィー（ALD）の最新の報告に基づくエビデンス性の高い、実用的な診療ガイドラインを作る。

B．研究方法

本研究事業内に ALD 診療ガイドライン作成委員会を設置し、作成方針を共有して、以下の内容で編集作業を進めている。治療における推奨文の項目では、ロレンツォオイルに関しては国内外の全ての報告例を対象にレビューし、造血幹細胞移植に関しては東海大学加藤俊一先生、名古屋第一赤十字病院加藤剛二先生の協力のもと、国内外の出来るだけ多くの移植例を対象にした集計結果をもとに推奨文を作成する

内容
1. 疾患概要：a. 定義 b. 疫学 c. 病因・病態
d. 症状 e. 予後

2. 診断：a. 診断基準 b. 鑑別診断

3. 治療：a. ロレンツォオイル b. 造血幹細胞移植
c. adrenomyeloneuropathy と女性発症者
d. 副腎ホルモン補充療法

4. 治療における CQ と推奨文：a. ロレンツォオイルの評価
b. 造血幹細胞移植の評価

5. 早期診断、発症前診断の推奨：a. 発症後早期診断の推奨
b. 発症者の家系解析から at

risk 患者診断の推奨 c. 発症前患者の長期フォローアップ指針

6. 最近のトピックス：a. 造血幹細胞移植後 myelopathy の発症
b. 遺伝子改変自己造血幹細胞移植
c. マスクリーニング
d. 病態解明研究の最先端

7. 予後・療育

8. 関連資料・ガイドライン・リンク等

9. 引用文献

C．研究結果 D．考察

作成されたガイドラインは個々の症例に対する診療の適否を拘束するものではなく、治療計画はあくまで主治医が患者を総合的に判断して決定するものとして、その際の参考指針となることを想定している。今後、新たな研究成果、エビデンスの輩出により、より推奨度の高いガイドラインに更新されていくことが期待される。

E．結論

上記推奨文を含め診療ガイドラインを作成し出版準備する。

F．研究発表

1. 論文発表 主任研究者・下澤伸行教授の項参照

2. 学会発表 主任研究者・下澤伸行教授の項参照

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

分担研究者： 加我 牧子 （東京都立東部療育センター院長）

研究要旨

小児大脳型副腎白質ジストロフィー症(ALD)の安静閉眼時における脳波を使って、デルタ波の出現とその部位をしらべることにより未発症型の臨床型を推測できる可能性が示され、ALDの早期の発症部位の推定に役立つ可能性があると考えた。

造血幹細胞移植後長期に観察しえた15症例の検討から神経学的に無症状とされていた症例も、治療前すでに神経心理学的異常、神経生理学的異常が高率に見られ、事実上発症していた症例も多いのではないかと推察された。発症前に粗大な神経学的所見がない症例、特にMRI異常がみられなかった症例では治療後に、基本的な認知機能は維持または改善されることが明らかとなった。一例のみ小児大脳型ALDの進行は停止し安定している症例で、治療後10年以降に副腎ミエロニューロパチー(AMN)が発症した症例があった。

研究協力者

軍司敦子 横浜国立大学大学院教育学研究科特別支援教育専攻准教授

崎原ことえ 帝京大学医療技術学部臨床検査学科講師

中村雅子 神尾記念病院人工聴覚室室長

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長

加藤俊一 東海大学細胞移植再生医療科

A. 研究目的 小児副腎白質ジストロフィー症(ALD)における小児大脳型は発症後数年以内に死に至ることが知られている。遺伝子治療はまだ治験段階であることから、発症早期の造血幹細胞移植が現実的な唯一の治療法である。ALDは大部分が伴性劣性遺伝で、家族歴から新生児期にALDと診断される症例もある。すなわち臨床所見、臨床検査の詳細な検討と経過の確認に基づく早期診断は早期治療のためきわめて重要である。我々は、粗大な神経学的異常が明らかでなく、MRIで脱髄病変が確認される前段階で神経

心理学的・神経生理学的検査に異常を生じる症例の存在を明らかにした。これらの群は視覚誘発電位VEPの高振幅が指摘され、脳波における局在性徐波の有用性について注目してきた。

現在、発症前の極早期に、より簡便に診断できる検査が求められている。本研究では3年間に、一般の脳波検査法で局在性徐波による病変部位を推定可能か、また汎用性について検討し、ALDの早期診断と発症部位の推定に貢献しうるかどうか検討することにした。さらに造血幹細胞移植後長期間観察しえた症例について、発症前の神経学的症状、MRI病変の有無、神経心理学的神経生理学的評価と治療の長期予後について検討し、造血幹細胞移植の意義についても検討する。

B. 研究方法

脳波の解析は、造血幹細胞移植治療前後の神経生理・心理評価のために当院に紹介された5~21歳の小児ALD23例を対象とした。うちわけは前頭(F)型4例、後頭(O)型11例、未発症(A)型8例とした。解析対象とした頭皮上脳波

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（頭頂部緩反応）時と、ルーチン脳波検査で実施されている安静閉眼時における、4カ所の電極（前頭部Fz、中心部Cz、頭頂部Pz、後頭部Oz）において記録されたデジタル脳波について、デルタ波、シータ波、アルファ波、ベータ波、ガンマ波（2-45Hz）の周波数帯域毎にフーリエ解析を行い、含有量を求めた。特にデルタ波の含有量は電極の脳表前部（FzとCz）と後部（PzとOz）に分けて分析した。眼球運動や体動などのアーティファクトが混入している脳波は除外した。

さらに造血幹細胞移植実施後5年以上の経過が判明している15症例を対象として、各症例については神経学的所見の有無のほかWechsler式知能検査や各種認知機能検査を用いた神経心理学的検査、聴性脳幹反応や視覚誘発電位、体性感覚電位、各種事象関連電位などの神経生理学的検査により児の認知機能を評価した。この結果を、症例の治療前の神経学的所見およびMRI異常の有無と比較した。

（倫理面への配慮）臨床検査の実施については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、検査について説明し、同意を得たうえで実施した。研究内容についてはいずれも研究施設内倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1)既発症例の脳波のデルタ波含有量は、前頭型では課題中にFz,Czにより多く認められた。後頭型では課題中および閉眼時に共通してPz,Ozにより多く認められた。

未発症型では前頭型疑いの症例3例のうち1例は、課題中および安静閉眼時でFz,Czにデルタ波含有量が多く認められ、2例では前頭部と後頭部の両方にデルタ波の分布が認められた。前頭部と後頭部の両方にデルタ波が認められた2例について、後頭部に認められたデルタ波は視覚野由来のアルファ波の影響を受けている可能性があるため、開眼時と閉眼時とでアルファ波含有量を比較した。後頭部のアルファ波含有量は開眼によって減弱し典型的なアルファブロッキングが認められた。これと同様に、後頭部のデルタ波含有量も開眼によって減弱が認められた。

未発症例で後頭型疑いの症例3例では、課題中

および閉眼時のいずれでもPz,Ozでデルタ含有量が多く認められた。この3例のうち2例で、アルファ波含有量を開眼時と閉眼時で比較したところ、いずれも開眼によって後頭部のアルファ含有量は減弱しアルファブロッキングが認められた。しかしながら、後頭部のデルタ波含有量は開眼による影響を受けなかった。3例のうち残り1例について、治療後2年6か月後と4年6か月後とで、デルタ含有量を比較したところ、課題中および閉眼時とともに、分布は変わらずに、4年6か月後のほうが2年6か月後よりもデルタ波含有量が低下していた。未発症型で8例中2例では、この2例中1例では課題中も閉眼時もデルタ波含有量が認められず、残り1例では閉眼時のみでデルタ波含有量が後頭部型に似たパターンを示した。

2)造血幹細胞移植後、5年以上長期に観察できた症例は15例であった。評価時年齢は12歳0か月から31歳1か月、平均（±標準偏差）は19歳7か月（±4歳9か月）、骨髓移植時年齢は9歳10か月（±4歳7か月）、観察期間は5年0か月から20年6か月で、平均9年7か月（±4年9か月）であった。

15例のうち造血幹細胞移植後に紹介を受けた方が4名あり、当科初診時に1)軽度知的障害、2)中等度知的障害+下肢優位の両側四肢麻痺+視覚障害、3)知的障害+視覚認知障害+聴覚認知障害、4)中枢性視覚障害+知的障害がみられていた。このうち2)の症例は治療後10年をすぎて足底の知覚低下から始まる副腎白質ミエロパチーを発症した。当科初診時に未治療であった12例のうち神経心理学的検査、神経生理学的検査に明らかな異常を認めなかった症例は2例であり、10例はなんらかの異常が確認された。家族歴や副腎不全症状から神経学的には無症状のALD（発症前男児）と診断されていた症例が8例あったがMRIの変化を待って「造血幹細胞移植に至った方が5名、MRIに所見が認められない状態で造血幹細胞移植を受けた方は3名であった。

診断施設における初診時にすでに神経学的症状が明らかであった6症例のうち造血幹細胞移植後、3例は疾患の進行停止あるいは症状の進行

がみられたが発達に伴う改善と考えられる所見が得られた。

また3例は重症心身障害となりこのうち1例は、治療後10年経過後、他合併症のため死去された。

ALD診断時に診断施設で神経症状がないと考えられていた7例では、術後も認知機能は保たれていた。ただし術前に神経心理学的検査、神経生理学的検査ともに明らかな異常を認めなかった症例は1例であり、他の6例では術後の観察時にも変化は基本的に残存するものの、明らかな悪化はなくむしろ改善がみられるものが多かった。ただし1例では斜視の進行と痙攣発作がみられ、なお詳細な経過観察が必要である。治療前にMRIに異常がなかった3症例は、治療後も認知機能の低下はなく通常の学校生活、職業生活を送っている。

D. 考察

前頭型の発症例は例数が少ないため、課題中と閉眼時でのデルタ波含有量の分布の比較については症例数を増やして今後検討する必要がある。後頭型疑い例は課題中と閉眼時でも同様の分布を示したことから、一般臨床脳波検査でもデルタ波の含有量が適応できる可能性が示唆された。

未発症例の前頭型疑いの症例では、課題中は前頭部と後頭部の両方にデルタ波が認められたが、開眼により後頭部のデルタ波含有量のみが減弱したことから、後頭部のデルタ波は視覚野のアルファ波の影響を受けたものと考えられた。閉眼時では後頭部のデルタ波は、後頭部のアルファ波の影響を受けやすいことを考慮すると、閉眼時と同時に開眼時の脳波も解析対象として、アルファ波の影響を除く必要がある。未発症例の後頭型疑いの症例についても同様に、開眼時と閉眼時でのデルタ波含有量を比較し、開眼時に認められたデルタ波のみを発症部位の推定のため活用できると考えられる。未発症例の後頭型疑いのうち1例では、治療後年数を経過するとデルタ波含有量が低下していたことから、未発症ではあるものの、治療の効果を推測する一指標となるのではないかと考えられる。

頭皮上脳波のデルタ波含有量とその分布は、早期診断と局在性の推定に有用である可能性が示され、かつ一般脳波検査を用いて抽出できるため汎用性があると期待できる。今後は、未発症例での治療前後の病態評価についても指標として使えるかどうかを検討する必要がある。

造血幹細胞移植後5年以上経過し、認知機能の評価が可能であった小児ALD15症例の検討で神経学的に無症状とされていた症例も、治療前すでに神経心理学的異常、神経生理学的異常が高率に見られ、今回の症例でも治療前の認知機能正常といえたのは1名のみであり事実上発症していた可能性も高い。発症前に神経学的所見をとらえられていなかった症例では治療後も基本的な認知機能は維持または改善されることが明らかとなった。これらの症例ではその他の面でも明らかな進行が起こった症例はなかった。また造血幹細胞移植を実施する時点でのMRI所見は必ずしも確実に評価できないが、MRIに異常がなかった3症例については神経心理学的所見は認められたものの日常生活の困難は一切なく、治療後も認知機能の低下は見られず通常の学校生活、職業生活を送っており、早期診断、早期治療の有用性が改めて確認された。

E. 結論

安静閉眼時における脳波を使って、デルタ波の出現とその部位をしらべることにより未発症型の臨床型を推測できる可能性が示され、ALDの早期の発症部位の推定に役立つ可能性がある。造血幹細胞移植後長期に観察しえた15症例の検討から神経学的に無症状とされていた症例も、治療前すでに神経心理学的異常、神経生理学的異常が高率に見られ、事実上発症している症例も多いのではないかと推察された。発症前に粗大な神経学的所見がない症例、特にMRI異常がみられなかった症例では治療後に、基本的な認知機能は維持または改善されることが明らかとなった。一例のみ小児大脳型ALDの進行は停止し安定している症例で、治療後10年以上に副腎ミエロパチーが発症した症例があった。

F. 研究発表

(1) 論文発表

1. Furushima W, Kaga M, Nakamura M, Gunji A, Inagaki M. Auditory agnosia as a clinical symptom of childhood adrenoleukodystrophy. *Brain Dev* 2015;37:690-7.
2. Yasumira A, Kokubo N, Yamamoto H, Yasumura Y, Nakagawa E, Kaga M, Hiraki K, Inagaki M: Neurobehavioral and hemodynamic evaluation of Stroop and reverse Stroop interference in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Brain Dev* 2014;36:97-106.
3. Inoue Y, Ito K, Kita Y, Inagaki M, Kaga M, Swanson JM. 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 Dev* 2014;36:700-6.
4. Kaga M, Inagaki M, Ohta R. Epidemiological study of Landau-Kleffner syndrome (LKS) in Japan. *Brain Dev* 2014;36:284-6.
5. Yamamoto A, Ide S, Honzawa S, Masuyama T, Iwasaki Y, Kaga M. The usefulness of low-dose oral contraceptive in the treatment of women of reproductive age with severe motor and intellectual disabilities: Five case reports. *J Nursing Care* 2014;3:197. doi: 10.4172/2167-1168.1000197
6. Kaga M: Neurophysiological Markers of Language Development. James D Wright ed. *International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences*, Second Edition, 2015;708-13.
7. Suzuki K, Kobayashi T, Moriyama K, Kaga M, Hiratani M, Watanabe K, Yamashita Y, Inagaki M. Development and Evaluation of a Parenting Resilience Elements Questionnaire (PREQ) Measuring Resiliency in Rearing Children with Developmental Disorders. *PLOS ONE* 10(12):DOI:10.1371/journal.pone.0143946 Dec 3, 2015.
8. Suzuki K, Kita Y, Kaga M, Takehara K, Misago C, Inagaki M. The Association between Children's Behavior and Parenting of Caregivers: A Longitudinal Study in Japan. *Frontiers in Public Health* 2016;4:17. doi: 10.3389/fpubh.2016.00017.
9. 小林朋佳, 稲垣真澄, 山崎広子, 北洋輔, 加我牧子, 岡明: 視覚誘発電位を用いた大細胞系機能評価と読字能力の関連性. *脳と発達* 2014;46(6):424-8.
10. 中村雅子, 加我牧子, 稲垣真澄: 発達性読み書き障害児における漢字書字訓練 意味情報を付加する聴覚法の有用性. *精神保健研究* 2015;61:81-6.
11. 山本晃子, 井手秀平, 岩崎裕治, 加我牧子, 有馬正高: 遷延する paroxysmal sympathetic hyperactivity を呈した小児例. *脳と発達* 2016;48:127-31.
12. 山崎広子, 柴玉珠, 関根久恵, 岩淵一馬, 稲垣真澄, 加我牧子: 臨床報告 国府台病院眼科における知的障害者 専門外来: 開設後10年の状況. *臨眼* 2016;70(10):1565-70.
13. 加我牧子: ランドー・クレフナー症候群. *臨床精神医学* 2015;44:255-8.
14. 加我牧子: 発達性読み書き障害 (Dyslexia) 診断と治療の進歩: 医療からのアプローチ 先人の歩みから. *脳と発達* 2015;47:25-8.
15. 野口ひとみ, 加我牧子: Landau-Kleffner 症候群. *小児内科* 2015;47:1595-9.
16. 加我牧子, 森山花鈴: 自殺に関する概況と子

どもの自殺をめぐって 希死年慮のある子ども
どもの小児神経科外来での対応の経験を含
めて．社会と倫理 2016;31:133-46.

17. 加我牧子：ランドー・クレフナー症候群
(Landau-Kleffner syndrome; LKS) の特徴と
診療の実際．新薬と臨床 2017;66(1): 80-4.
18. 山本晃子，加我牧子．聴覚誘発電位
(ABR, MLR, SVR, OAE)．加我牧子，相原正男，
稲垣真澄編．小児の臨床神経生理 - ベッドサ
イドで役立つ見方・考え方 - 診断と治療社
東京，2015;60-6.
19. 加我牧子．N400．加我牧子，相原正男，稲垣
真澄編．愉しく学ぼう 小児の臨床神経生理
- ベッドサイドで役立つ見方・考え方 - 診
断と治療社 東京，2015;114.
20. 井上祐紀，加我牧子．各論 事象関連電位
NoGo 電位 加我牧子，相原正男，稲垣真澄編．
小児の臨床神経生理 - ベッドサイドで役立つ
見方・考え方 - 診断と治療社 東京，
2015;115-8.
21. 加我牧子．知的障害．社会福祉学習双書編集
委員会編：社会福祉学習双書 2016 第 14 巻
医学一般 人体の構造と機能及び疾病保健
医療サービス．社会福祉法人全国社会福祉協
議会 東京，2016;132-5.

(2) 学会発表

(国外)

1. Kaga M, Yamamoto A, Arai Y, Murata K,
Inagaki M:
Otoacoustic emission, auditory brainstem
response and mismatch negativity in
two patients with Pelizaeus-Merzbacher
disease. 24th Biennial Symposium of
International Evoked Response
Audiometry Study Group, Korea, May,
2015.
2. Kaga M, Nakamura M, Furushima W,
Gunji A, Sakihara K, Inagaki M: Auditory

function in patients with
adrenoleukodystrophy. 11th European
Paediatric Neurology Society Congress,
Wien, Austria, May, 2015.

3. Kaga M, Nakamura M, Gunji A, Sakihara
K, Inagaki M, Suzuki M:
Forty nine-years follow-up of a patient
with Landau-kleffner syndrome.
14th International Child Neurology
Congress 2016 at Amsterdam RAI
Convention Center in Amsterdam, the
Netherlands May, 2016.
4. Kaga M Inagaki M, Oana S: Evaluation of
the cognitive function in the middle aged
Down syndrome with severe intellectual
disabilities.
2016 IASSIDD 15th World Congress,
Melbourne, Australia, August, 2016.

(国内)

1. 中村雅子，加我牧子，鈴木聖子，古島わか
な，軍司敦子，稲垣真澄，加我君孝．小児
型副腎白質ジストロフィー
(Adrenoleukodystrophy, ALD) の聴覚機
能．第 19 回認知神経科学会学術集会 2014
年 7 月 (東京)
2. 加我牧子．小児の誘発脳波 聴覚誘発電位を
中心に．
第 44 回日本臨床神経生理学会学術大会・
達人に学ぶ 2014 年 11 月 (福岡)
5. 加我牧子．小児副腎白質ジストロフィー症の
早期診断と治療予後をめぐって
ロレンツオを救うには? ．第 29 回桐仁
会講演会 2017 年 1 月 (東京)
6. 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

副腎白質ジストロフィーガイドラインの作成

分担研究者： 横山 和明（帝京大学薬学部教授）

研究要旨：ペルオキシソーム病である、ペルオキシソーム形成異常症、副腎白質ジストロフィー(ALD)、RCDP2,3、Refsum 病、ベータ酸化系酵素欠損症、原発性高シュウ酸尿症型、アカタラセミア、の7疾患について診断基準を策定した。さらにMindsに基づき、ALDに対するロレンツォオイル療法と造血幹細胞移植法の診断基準を作成した。

研究協力者氏名

所属機関名及び所属機関における職名
濱弘太郎・帝京大学薬学部・講師
藤原優子・帝京大学薬学部・助教

A．研究目的

稀少難病である副腎白質ジストロフィー(ALD)をはじめとす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、診断基準・ガイドラインを作成する。

B．研究方法

Mindsに基づき、日本造血細胞移植学会の2名の国内ALDの移植エキスパートを研究協力者に加えて、執筆・編集委員4名、システマティックレビュー委員3名、担当委員8名からなるALDガイドライン作成委員会を構成し、作業を分担した。

（倫理面への配慮）

学内倫理委員会の承認のもとに調査研究を進めている。

C．研究結果

（平成26年度）

ペルオキシソーム病である、ペルオキシソーム形成異常症、副腎白質ジストロフィー、RCDP2,3、Refsum病、ベータ酸化系酵素欠損症、原発性高シュウ酸尿症型、アカタラセミア、の7疾患について診断基準を策定した。

（平成27年度）

Mindsに基づき、エビデンスとなるロレンツォオイル療法の文献を検索し収集したところ、内外の176報が対象となった。実際に内容を確認したところ、多くが除外され、検討対象となったのは39報であった。記載された症例は発症前を含む各種亜型に及び、血中極長鎖脂肪酸濃度の低下は見込めるものの、血小板数が低下する傾向にあり、ALDの神経症状の発症予防に対する効果は認められなかった。以上の知見を元にロレンツォオイル療法の診療ガイドラインを策定した。

（平成28年度）

前年と同様の手法により造血幹細胞移植法に関する文献を収集したところ、外国論文194報、国内論文68報となった。ただし今年度は日本造血細胞移植学会の2名の参加を得て、国内すべての症例を検討することが可能となったため、まず国外の文献を調査することとし、実際の検討対象は56報となった。各委員の調査結果を集計すると、発症前Loes値の記載がある個別症例が107例あった。これを対象に発症前Loes値でランク分けして、移植後の各CQの予後を集計した。さらにCQ全体を俯瞰し、患者個人にとっての移植の効果を改善、維持、悪化（死亡を含む）で評価して集計した。国内症例40例も同様に評価し集計表に加えた。各CQについて詳細な記載がある症例は極めて少なく、個別のCQに対する評価は十分に出来なかったが、患者個人にとっての移植の効果という観点からは評価が可能であった。その結果、移植はLoes値の高

低に関わらず行われていたが、予後は低値の症例ものほどよい傾向があり、9未満で実施した場合には維持や改善がある程度期待できる結果だった。9以上になると悪化例が多くなり、15以上では全例で悪化していた。また拒絶反応と病状の悪化によるものを含めると、Loes値の高低に関わらず死亡例が報告されていた。以上の知見を元にALDIに対する造血幹細胞移植法の診療ガイドラインを策定した。

D. 考察

(平成26年度)

ペルオキシソーム病7疾患の診断基準を策定したことで、全国の専門医がいない施設でも、早期発見が広まることが期待される。

(平成27年度)

ALDIに対するロレンツォオイル療法は極長鎖脂肪酸のレベルは下げるものの、神経症状の発症に対する効果が乏しく、積極的に推奨されない。

(平成28年度)

ALDIに対する造血幹細胞移植法はLoes値が低いうちに実施した方が、維持または改善が期待でき推奨される。ただし移植のリスクも十分考慮する必要がある。なお家族歴がない新規患者の場合、Loes値が高くなった段階での確定例が多いことから、現実化するためには行政を含めた体制作りが必要であると考えられた。

E. 結論

(平成26年度)

ALDをはじめとするペルオキシソーム病7疾患の診断基準を策定した。

(平成27年度)

ALDIに対するロレンツォオイル療法の診療ガイドラインを策定した。

(平成28年度)

ALDIに対する造血幹細胞移植法の診療ガイドラインを策定した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Molecular species of phospholipids in brain of Abcd1-deficient mice (投稿準備

中)

Qualitative and quantitative method for sphingomyelin species by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry (投稿準備中)

Simultaneous analysis of glycosphingolipids using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry (執筆中)

2. 学会発表

Molecular Species of Phospholipids in the Brain of Abcd1-deficient Mice. Kazuaki Yokoyama 他、Lipid Maps Annual Meeting 2016、abstract book p93, 2016

Abcd1 ノックアウトマウスの脳のスフィンゴミエリン分子種の解析、濱弘太郎、横山和明他、第58回日本脂質生化学会、脂質生化学研究 58, p97, 2016

多段階 MRM モードを用いた生体サンプル中のスフィンゴ糖脂質の解析、藤原優子、横山和明他、第58回日本脂質生化学会、脂質生化学研究 58, p132, 2016

Abcd1 ノックアウトマウスの脳のリン脂質解析、黒木秀悟、横山和明他、Pharmaco-Hematology 2016

Abcd1 ノックアウトマウスの脳のスフィンゴミエリン分子種の解析、濱弘太郎、横山和明他、第89回日本生化学会、プログラム集, p113, 2016

らい菌感染マクロファージに蓄積するトリアシルグリセロール分子種の同定、谷川和也、横山和明他、第89回日本生化学会、プログラム集, p168, 2016

Abcd1 ノックアウトマウスの脳のスフィンゴミエリン分子種の解析、濱弘太郎、横山和明他、第41回日本マスマススペクトル学会、脂質生化学研究 58, p97, 2016

多段階 MRM モードを用いた生体サンプル中のスフィンゴ糖脂質の解析、藤原優子、横

山和明他、第 58 回日本先天代謝異常学会、
日本先天代謝異常学会雑誌 32, p181, 2016

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当無し

2. 実用新案登録

該当無し

3. その他

該当無し

ライソゾーム病（ファブリ病含む）に関する調査研究

遊離シアル酸蓄積症の診断基準作成

「ムコ多糖症 II 型の診療ガイドライン・診断基準に準拠した診療マニュアル」
、「ポンペ病の診療ガイドライン」の作成

Gaucher 病 I 型患者の骨病変に対する酵素製剤の効果についての検討

分担研究者：渡邊 順子（久留米大学 准教授）

研究要旨

まれな疾患ではあるが、統一された診断基準が必要とされた遊離シアル酸蓄積症の診断基準を作成した。ライソゾーム病の中で頻度の高いムコ多糖症 II 型、およびポンペ病については、クリニカルクエスチョンを設定し、システムティックレビューから推奨文、ガイドラインの作成を行った。特にムコ多糖症 II 型については、従来行われてきた造血幹細胞移植との比較を行った。臨床研究として Gaucher 病 I 型患者の骨病変に対する酵素製剤の効果について検討した。

研究協力者氏名

川口 巧 久留米大学内科・講師
福井香織 久留米大学小児科・助教

2) アウトカムの選定

3) 関連論文の収集

4) システムティックレビュー

5) 推奨文の作成

A. 研究目的

遊離シアル酸蓄積症の診断基準作成を行う。
ムコ多糖症 II 型、ポンペ病の診療ガイドラインの作成を行う。

Gaucher 病 I 型患者の骨病変に対数 r 酵素製剤の治療効果の検討する。

(1) ムコ多糖症診療ガイドラインの作成において、以下の CQ5、CQ11 を担当した

I. ムコ多糖症 II 型の酵素補充療法は、
CQ5：骨・関節症状を改善するか。

II. ムコ多糖症 II 型の骨髄移植、臍帯血移植などの造血幹細胞移植は

CQ11：骨・関節症状を改善するか。

B. 研究方法

従来の症例報告および国内外の論文を比較検討し、現段階での最先端の医療にもとづき診断基準案を作成した。

(2) ポンペ病ガイドラインの作成においては以下の CQ8-、CQ9- を担当した。

CQ8-：酵素補充療法はポンペ病の神経合併症である脳血管障害を改善するか、CQ8-：酵素補充療法はポンペ病の神経合併症である白質病変を改善するか、CQ8-：酵素補充療法はポンペ病の神経合併症である難聴を改善するか

CQ9-：酵素補充療法はポンペ病の合併症である難治下痢を改善するか、CQ9-：酵素補充療法はポンペ病の合併症である構音障害を改善するか

ムコ多糖症 II 型およびポンペ病の診療ガイドラインを作成した。MINDS のガイドライン作成手法を基本として、以下のプロセスでガイドラインの作成を複数の分担研究者と共同して開始した。

1) クリニカルクエスチョンの選定

CQ8-：酵素補充療法はポンペ病の合併症である難聴を改善するか

CQ9-：酵素補充療法はポンペ病の合併症である難治下痢を改善するか、CQ9-：酵素補充療法はポンペ病の合併症である構音障害を改善するか

CQ9-：酵素補充療法はポンペ病の合併症である構音障害を改善するか

改善するか

摘脾術後の Gaucher 病 I 型の 59 歳女性を対象として、イミグルセラゼからベラグルセラゼ α に変更し、製剤の変更による骨症状の改善効果を評価した。

C . 研究結果

診断基準（遊離シアル酸蓄積症）、診断ガイドライン（ムコ多糖症 II 型、ポンペ病）については別冊文書を参照。

Gaucher 病 I 型患者に認めた骨症状の増悪、血小板の低下、血清マーカーの上昇は、酵素製剤を変更することにより改善を認めた。酵素製剤に対する抗体が生じた症例では効果が限定的となるが、他酵素製剤へ変更することにより、治療効果が得られた。

D . 考察

希少疾患のガイドライン作成においては、エビデンスレベルに基づいたガイドラインであると同時に、症例を多く経験したエキスパートの意見も反映されたものが臨床の場では有用と考える。また、診断基準が作成されたことは、国内での未診断例の診断に有用と考える。

長期の酵素補充療法中に出現する抗酵素製剤抗体は治療への反応性を低下させるため、治療戦略の見直しが必要となる。

E . 結論

希少疾患の診断、治療に有用となる診断基準、ガイドライン作成を行った（遊離シアル酸蓄積症、ムコ多糖症 II 型、ポンペ病）。

Gaucher 病 I 型の長期酵素補充療法の問題点、治療の選択肢の再検討の重要性を提示した。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Nakajima Y, Meijer J, Dobritzsch D, Ito T, Meinsma R, Abeling NG, Roelofsen J, Zoetekouw L, Watanabe Y, Tashiro K,

Lee T, Takeshima Y, Mitsubuchi H, Yoneyama A, Ohta K, Eto K, Saito K, Kuhara T, van Kuilenburg AB. Clinical, biochemical and molecular analysis of 13 Japanese patients with β-ureidopropionase deficiency demonstrates high prevalence of the c.977G > A (p.R326Q) mutation. *J Inherit Metab Dis.* 2014 Sep;37(5):801-12.

2. 渡邊順子：同胞の突然死を契機に診断された、グルタル酸血症 II 型の一例. 特殊ミルク情報 No.49. p52-55. 2014.
3. Ohba C, Kato M, Takahashi N, Osaka H, Shiihara T, Tohyama J, Nabatame S, Azuma J, Fujii Y, Hara M, Tsurusawa R, Inoue T, Ogata R, Watanabe Y, Togashi N, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Tanaka F, Saitsu H, Matsumoto N. De novo KCNT1 mutations in early-onset epileptic encephalopathy. *Epilepsia.* 2015 Sep;56(9):e121-8.
4. 田代 恭子、猪口 隆洋、青木 久美子、稲場 美佐、井上 かおり、柳内 千尋、鈴谷 由吏、石井 宏美、木下 幸恵、但馬 剛、依藤 亨、重松 陽介、前田 康博、中島 葉子、松石 豊次郎、渡邊 順子. 当施設で診断した軽症型プロピオン酸血症 8 症例の検討 *日本マス・スクリーニング学会誌* 2015. Vol.25 No.3 (p295-302)
5. Ambroxol chaperone therapy for neuronopathic Gaucher disease: A pilot study. Narita A, Shirai K, Itamura S, Matsuda A, Ishihara A, Matsushita K, Fukuda C, Kubota N, Takayama R, Shigematsu H, Hayashi A, Kumada T, Yuge K, Watanabe Y, Kosugi S, Nishida H, Kimura Y, Endo Y, Higaki K, Nanba E,

- Nishimura Y, Tamasaki A, Togawa M, Saito Y, Maegaki Y, Ohno K, Suzuki Y. *Annals of Clinical and Translational Neurology*. 2016 ; 3: 3, 200-215.
6. Severe Acute Subdural Hemorrhages in a Patient with Glutaric Acidemia Type 1 under Recommended Treatment. Ishige M, Fuchigami T, Ogawa E, Usui H, Kohira R, Watanabe Y, Takahashi S. *Pediatric Neurosurgery*. 2016; 52: 1, 42-46.
 7. 上原舞美, 山香修, 長井孝二郎, 森田敏夫, 渡邊順子, 今井徹朗, 中村篤雄, 高須修, 山下典雄, 坂本照夫. メープルシロップ尿症急性増悪に血液浄化療法を施行した2症例. *日本急性血液浄化学会雑誌* 2016;7(2):134 ~ 137.
2. 学会発表
 1. 渡邊順子, 関 祥孝, 柳 忠宏, 水落 建樹, 竹内 孝仁, 岩本 二郎, 猪口 隆洋, 矢野 正二, 鹿毛 政義, 松石 豊次郎. 原因不明の脂肪肝, 低血糖, ケトosis, 高乳酸血症, 高脂血症を呈する乳児例. 第 117 回日本小児科学会 2014.4.19-21 (名古屋市) ポスター
 2. Watanabe Y, Ozono S, Sugie H, Fukuda T, Yano S, Matsuishi T. Phosphoglycerate kinase-1 (PGK-1) deficiency presenting as neonatal onset hemolytic anemia, rhabdomyolysis, and mild developmental delay. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism 2014.9.2-5 (Innsbruck) ポスター
 3. 石毛美夏, 小川えりか, 碓井ひろみ, 米沢龍太, 小平隆太郎, 渡邊順子, 淵上達夫, 高橋昌里. 治療中に急性硬膜下出血をきたしたグルタル酸血症 I 型の 1 例. 第 56 回日本先天代謝異常学会 2014.11.13-15 (仙台市)
 4. 鈴谷由吏, 田代 恭子, 稲場 美佐, 青木 久美子, 但馬 剛, 依藤 亨, 重松 陽介, 猪口 隆洋, 松石 豊次郎, 渡邊順子. 当施設で診断した軽症型プロピオン酸血症 7 症例の検討. 第 56 回日本先天代謝異常学会 2014.11.13-15 (仙台市) ポスター
 5. 中島 葉子, Judith Meijer, Doreen Dobritzsch, 渡邊順子, 久原とみ子, 三淵 浩, 李 知子, 衛藤 薫, 伊藤哲哉, Andre Van Kuilenburg. β ウレイドプロピオナーゼ欠損症の臨臨床的・生化学的・分子生物学的検討と p.R326Q 変異頻度. 第 56 回日本先天代謝異常学会 2014.11.13-15 (仙台市) 口演
 6. 八戸由佳子, 田中玄師, 田中征治, 渡邊順子, 松石豊次郎, 長井孝二郎, 坂本照夫, 岡田純一郎. 学童期の急性発作に対し血液浄化療法が有効であったメープルシロップ尿症の 1 例. 第 482 回日本小児科学会福岡地方会 2014.12.13 (久留米市) 口演
 7. 渡邊順子, 但馬 剛, 依藤 亨, 重松陽介, 前田康博, 中島葉子, 猪口隆洋, 松石豊次郎. 最軽症型プロピオン酸血症 8 症例の検討 第 118 回日本小児科学会総会 2015.4.17-19 (大阪市)
 8. 福井香織, 青木久美子, 稲場美佐, 井上かおり, 柳内千尋, 鈴谷由吏, 石井宏美, 木下幸恵, 猪口隆洋, 戸田絢子, 竹島泰弘, 渡邊文雄, 渡邊順子. 新生児マススクリーニングを契機に診断された母体のビタミン B12 欠乏症 第 42 回日本マス・スクリーニング学会 2015.8.21-22 (東京都)
 9. 柳内千尋, 渡邊順子, 福井香織, 田代恭子, 稲場美佐, 鈴谷由吏, 青木久美子, 小林弘典, 猪口隆洋, 内村直尚. 新生児マススクリーニングにおける遊離カルニチン低値症例の検討. 第 57 回日本先天代謝異常学

- 会 2015.11.12-14 (大阪市)
10. 福井香織、井上 忠、屋宮清仁、田中悠平、後藤憲志、田中征治、河野 剛、長井孝二郎、田代恭子、渡邊順子. EB ウイルス感染を契機に血球貪食症候群を発症し、血液浄化を要したメチルマロン酸血症の 一男児例第 57 回日本先天代謝異常学会 2015.11.12-14 (大阪市)
 11. Watanabe Y, Tashiro K, Aoki K, Inaba M, Yanagiuchi C, Suzutani Y, Ishii H, Tajima G, Yorifuji T, Shigematsu Y, Maeda Y, Nakajima Y, Inokuchi T, Matsuishi T. A long term follow-up study of 8 individuals with asymptomatic propionic acidemia Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism 2015.8.30-9.8 (Lyon) ポスター
 12. Watanabe Y, Unno M, Mitsuo M, Nakagawa S, Ozono S, Ueda K, Yoshino Y, Harada N, Fukui K, Yano S. Neonatal hemolytic anemia and multiple congenital anomalies due to deletions of 5q33, 6q24, and 14q23. The 65th Annual Symposium of the American Society of Human Genetics 2015.10.6-10 (Baltimore) ポスター
 13. 先天代謝異常症に対する血液浄化の経験 ~ 経管栄養の積極的併用の試み ~ Experience of HD/F in patients with inborn errors of metabolism: Effects of tube-feeding. 福井香織, 渡邊順子, 井上 忠, 八戸由佳子, 江崎拓也, 岡田純一郎, 河野剛, 長井孝二郎, 田中征治, 山下裕史朗.第 119 回日本小児科学会 2016.5.13-15 (札幌市)
 14. 肝機能異常と大量腹水を契機に先天性グリコシル化異常症の診断に至った乳児例. 江田慶輔, 高木祐吾, 吉塚梯子, 荒木潤一郎, 下村 豪, 弓削康太郎, 福井香織, 渡邊順子, 岡本伸彦, 水落建輝. 第 33 回日本小児肝臓研究会 2016.7.2-3 (岐阜市)
 15. 手術時の低血糖を契機に診断にいたったシトリン欠損症の 2 歳女児例. 鈴谷由吏, 渡邊順子, 福井香織, 石井宏美, 田代恭子, 青木久美子, 芳野博臣, 菊池敦夫, 呉 繁夫, 猪口隆洋, 内村直尚, 第 43 回日本マス・スクリーニング学会. 2016.8-25-27 (札幌市)
 16. オルニチントランスカルバミラーゼ(OTC)欠損症の出生前診断. 原田 なをみ, 福井香織, 斎藤仲道, 渡邊順子. 第23回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会 2016.9.24(長崎市)
 17. AGC1 欠損症の兄弟例: 髄中有機酸の検討. 矢野正二、才津浩智、バチキアン アーサー、モスリー キャサリン、ブレム ステファン、渡邊順子、松本直通. 第 58 会日本先天代謝異常学会 2016.10.27-29 (東京都)
 18. 肝機能異常と大量腹水を契機に先天性グリコシル化異常症の診断に至った乳児例. 江田慶輔, 高木祐吾, 吉塚梯子, 荒木潤一郎, 下村 豪, 弓削康太郎, 福井香織, 渡邊順子, 岡本伸彦, 水落建輝. 第 58 会日本先天代謝異常学会 2016.10.27-29 (東京都)
 19. 手術時の低血糖を契機に診断に至ったシトリン欠損症の 2 歳女児例. 鈴谷由吏、渡邊順子、福井香織、石井宏美、田代恭子、青木久美子、芳野博臣、菊池敦生、呉 繁夫、猪口隆洋. A 2-year-old female with citrin deficiency presented with hypoglycemia during surgery. 第 58 会日本先天代謝異常学会 2016.10.27-29 (東京都)
 20. Watanabe Y, Fukui K, Harada N, Tashiro K, Tajima G, Yorifuji T, Shigematsu Y, Maeda Y, Nakajima Y,

Inokuchi T, Uchimura N. A long term follow-up study of 8 individuals with asymptomatic propionic academia. The 13th International Congress of Human Genetics (ICHG) 2016.4.3-7 (Kyoto, Japan)

21. Watanabe Y, Fukui K, Harada N, Tashiro K, Inokuchi T, Yano S, Yamashita Y. Two sibling cases of aspartate-glutamate carrier 2 (Citrin) deficiency: Does diet affect diagnosis? Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism 2016.9.6-9.9 (Roma)

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

- 1 . 特許取得 無し
- 2 . 実用新案登録 無し
- 3 . その他 無し

希少疾病の診療ガイドライン作成

分担研究者： 石垣 景子（東京女子医科大学医学部 小児科 講師）

研究要旨 科学的根拠に基づき、系統的な手法により推奨を作成する「Minds 方式」により、ムコ多糖症 II 型治療ガイドライン、ポンペ病診療ガイドラインを作成した。希少疾病のガイドライン作成の問題点は、メタアナリシスやランダム化比較試験（RCT）などのエビデンスレベルの高い論文がほとんどない点であり、2 つの希少疾病のガイドライン作成を通して、その問題点と対策を検討する。

研究協力者氏名

衛藤 薫（東京女子医科大学医学部 小児科 助教）
森 まどか（国立精神・神経医療研究センター 神経内科 医長）

A．研究目的

既存のライソゾーム病のガイドラインは、欧米ガイドラインの翻訳またはエキスパートオピニオンの集約に近く、EBM に則って作成されたものではなかった。今回、科学的根拠に基づき、系統的な手法により推奨を作成する、所謂「Minds 方式」により、ムコ多糖症 II 型治療ガイドライン、およびポンペ病診療ガイドラインを作成することとした。

B．研究方法

統括委員、作成委員、システマティックレビュー（SR）委員が作成にあたる。重要臨床課題からクリニカルクエスチョン（CQ）作成を行い、各 CQ 担当者がアウトカムとキーワードの設定（PICO の記載）を作成、一次、二次文献検索を行う。SR 委員が各 CQ に選別された文献をメタアナリシス、無作為化盲検試験などエビデンスレベルの高いものから症例報告まで情報を集め、システマティックレビューを行い、その結果をもとに推奨文を作成する。

（倫理面への配慮）

ガイドライン作成のため、倫理的問題はないと考える。

C．研究結果

2014 年は、希少疾病であるライソゾーム病全 30

疾患における診断指針作成を行った。この診断指針は、EBM に則ってはいるが、システマティックレビュー（SR）は行っていない。翌 2015 年 4 月より、ムコ多糖症の「治療」ガイドライン、および 2016 年 4 月よりポンペ病の「診療」ガイドラインの作成が開始された。ムコ多糖症 II 型のガイドラインは治療に主眼を置いたが、今回のポンペ病ガイドラインでは、病理診断の意義、酵素活性測定での問題点など、診断に関する CQ をとりあげることとした。統括委員、作成委員、SR 委員に分かれ、重要臨床課題を議論し、クリニカルクエスチョン（CQ）作成を行った。一次、二次文献スクリーニングを経て、SR 委員は SR を行い、作成委員は推奨文作成を行った。SR 担当者は Minds のセミナーに参加し、SR に関する訓練を受けた。SR 委員は、SR レポートを作成し、集約したが、2 疾患ともに RCT は数件しか報告がなく、多くは観察研究であった。2017 年の班会議において、推奨文の推敲、推奨度を最終決定し、最終化から発刊に至った。

D．考察

Minds 方式を利用しての、希少疾病のガイドラインを作成する際の問題は、希少疾病の場合、メタアナリシスや RCT などのエビデンスレベルの高い論文は非常に限られ、多くが後ろ向き研究や症例報告などであることがあげられる。Minds 方式は、エビデンスの高い論文が多い Common disease には適しているが、エキスパートオピニオンが主体となり、推奨度の決定が時に困難となるため、希少疾病には向かないとの

意見も多く、実際、今回の検討でも同様の意見はよく聞かれた。希少疾病のガイドラインは、2007年度版 Minds 方式による「Duchenne 型筋ジストロフィー診療ガイドライン」および「重症筋無力症診療ガイドライン」が例としてあげられる。前者では、エビデンスレベルが低くともエキスパートが強く推奨したい場合には、高い推奨度を示す方針がとられ、後者では比較的エビデンスレベルに従った推奨度とした。希少疾病のガイドラインでは難しい問題ではあるが、ガイドライン使用者にとっては曖昧な推奨よりも、明快なエキスパートオピニオンが求められる場合もあり、どちらの方針をとるかは、作成者に任された重要な問題提起である。

今回のガイドラインでは、作成委員が臨床的に重要と考え、強く推奨したいと意見が一致した場合には、エビデンスレベルが弱くとも推奨を強くする形とした。このような方針に関しては、賛否両論あると考えるが、曖昧にするよりも、エキスパートして意見を明瞭にした方が、利用者が理解しやすいと考えてのことである。今後、パブリックコメントや患者会の評価を頂き、検討していく予定である。

希少疾病であっても、今現状あるエビデンスを把握し、客観的に評価を行う材料提示の意味でも、科学的根拠に基づき、系統的な手法により推奨を作成する「Minds 方式」のガイドライン作成は意義があると考えられる。

E．結論

科学的根拠に基づき、系統的な手法により推奨を作成する「Minds 方式」により、希少疾病 2 疾患のガイドライン作成を行った。

F．研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

(1)石垣景子「希少疾病におけるガイドライン作成の問題点～ポンペ病診療ガイドライン作成に関して～」第 21 回日本ライソゾーム病研究会特別シンポジウム「ライソゾーム病・ペルオキシゾーム病のガイドラインについて」2016 年 10 月 1 日、於：東京

(2)石垣景子「II．診断ガイドライン ポンペ病」ライソゾーム病（ファブリー病含む）に関

する調査研究 第 3 回市民公開フォーラム 2017 年 1 月 15 日、於：東京

G．知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
 2. 実用新案登録
- 該当しない

ライソゾーム病の診断、治療のガイドライン調査研究
新規治療法の開発（シャペロン療法）

分担研究者： 成田 綾（鳥取大学医学部脳神経小児科 助教）

研究要旨

ライソゾーム病・ペルオキシソーム病の早期診断、早期介入に繋げるために、診断基準・ガイドラインを作成した。また、現在これらの疾患の中枢神経症状に対する有効な治療法がないため、新規治療法（シャペロン療法）の開発と、その有効性を評価するのに必要な疾患バイオマーカーならびに自然歴調査研究を実施した。 初年度は患者QOLを改善する為に、早期

研究協力者氏名

井田博幸（東京慈恵会医科大学小児科）
辻省次（東京大学医学部神経内科）
小林博司（東京慈恵会医科大学遺伝子治療研究部）
櫻井謙（東京慈恵会医科大学小児科）
下澤信行（岐阜大学生命科学総合研究支援センター）
加我牧子（東京都立東部療育センター）
鈴木康之（岐阜大学医学教育開発センター）
横山和明（帝京大学薬学部）
今中常雄（富山大学大学院医学薬学研究部）
難波栄二（鳥取大学生命機能研究支援センター）
小林正久（東京慈恵会医科大学小児科）
高橋勉（秋田大学小児科）
酒井規夫（大阪大学大学院医学研究科保健学科）
加藤俊一（東海大学医学部）
加藤剛二（名古屋第一赤十字病院）

A．研究目的

稀少難病であるライソゾーム病ならびにペルオキシソーム病を国内に周知し、早期診断、早期介入に繋げるために診断基準・ガイドラインを作成する。また、現在ライソゾーム病の中枢神経系に対して現在有効な治療法がないため、低分子を用いたシャペロン療法の開発を行う。

B．研究方法

診断・専門診断施設への迅速な連携を可能とする一助として診断基準を作成する事である。当グループでは、ライソゾーム病3疾患（ゴーシェ病、マンノシドーシス、フコシドーシス）を担当する。方法は、国内外の症例報告、ガイドライン等を参考とし、本邦の実情に沿った診断基準を作成する。全体の統一を図る為に、班会議で検討を行い、事務局で最終的に取りまとめを行い、診断の手引きとして発刊する。

次年度はペルオキシソーム病の副腎白質ジストロフィー（ALD）のガイドラインの作成を行う。前年度に作成した指定難病テキスト、診断の手引きに加え、日本造血細胞移植学会のガイドライン等を参考とし、治療に関する2つの項目（造血肝細胞移植とロレンツォオイル）についてクリニカルクエスチョンを設定し、国内外の文献のシステマティックレビューを行い、推奨文を作成し、Minds診療ガイドライン作成の手引き2014に基づいてエビデンスの質および推奨の強さを分類する。内容は班会議で検討を行い、事務局で最終的に取りまとめを行い、診断の手引きとして発刊する。

最終年度は、今後診断・治療ガイドラインを作成予定であるライソゾーム病2疾患（ゴーシェ病、ニーマンピック病C型）について、初年度から上記ガイドライン作成と平行して行っている患者実態調査を実施し、新規治療法の開発

を促進するため、神経症状の自然歴や現在の治療の利点ならびに限界を整理し、診断精度を上げていくために現行の診断法の評価等を実施する。

本研究の全ての作業は学内倫理委員会の承認のもとに調査研究を進めた。

C. 研究結果

初年度は診断基準を作成し、「ライソゾーム病・ペルオキシソーム病診断の手引き」を出版した。次年度から最終年度にかけて、副腎白質ジストロフィー診療ガイドライン2017を作成し、出版の運びとなっている。また、ライソゾーム病2疾患（ゴーシェ病、ニーマンピック病C型）の患者実態調査については、2017年1月31日までに25名のゴーシェ患者ならびに17名のニーマンピック病C型患者に対して後ろ向き調査を行った。ゴーシェ病に関しては現在データ解析中である。ニーマンピック病C型の診断に関する問題点として、標準的検査（遺伝学的検査と培養皮膚線維芽細胞を用いたFilipin染色）は侵襲性や結果が出るまでに時間を要することがある。それを解決するために、尿や血清を用いた新規バイオマーカーによるスクリーニングの確立が進められている。本研究にて、臨床症状が非特異的な成人型症例の診断には、いずれの検査に関しても単独での診断に難渋する症例が多く、現行検査法によるスクリーニングの限界が示された。

D. 考察

ライソゾーム病ならびにペルオキシソーム病はいずれも稀少難病であることから専門領域以外の医療従事者の診断への敷居は高く、診断症例に関しても治療法の選択に難渋する場合が多い。しかしながら、両疾患とも新規治療法の開発は進んできていることから、診断基準や診療ガイドラインの作成は疾患の啓蒙とスムーズな医療連携、適切な患者管理の一助になると考える。

また、これらの疾患は臨床的異質性に富んでいることから、特に中枢神経系に対する新規治療法の開発には短期的なエンドポイントである疾患バイオマーカーの開発と同時に、長期的な

エンドポイントである神経学的予後の改善を評価する臨床指標の開発が重要となってくる。今後は引き続きこれらの課題の解決に努める。

E. 結論

本研究を通してライソゾーム病ならびにペルオキシソーム病の疾患啓蒙と診断・管理の改善および新規治療法開発に向けた検討課題を整理した。今回これらの課題を解決していくことで、早期発見・診断と中枢神経治療法開発の促進に繋ることが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

Suzuki Y, Ohno K, Narita A. Chaperone therapy: new molecular therapy for protein misfolding diseases with brain dysfunction. *Curr Bioinform* 2016;11:421-429.

Narita A, Shirai K, Itamura S, et al. Ambroxol chaperone therapy for neuronopathic Gaucher disease: A pilot study. *Ann Clin Transl Neurol* 2016; 3(3):200-215.

2. 学会発表

The 39th Annual SIMD Meeting 2016.4.3-6 (USA): pH-responsive pharmacological chaperones for lysosomal storage diseases

第58回日本小児神経学会学術集会
2016.6.3(東京)ランチョンセミナー5 治療可能なライソゾーム病の診断と治療

第27回日本小児科医会総会フォーラム
2016.6.12(鳥取)教育セミナー:日常診療で遭遇するライソゾーム病 - その診断と治療 -

第58回日本先天代謝異常症学会学術総会
2016.10.27(東京)シンポジウム1 希少疾患治療薬の臨床開発の現状と未来

ゴーシェ病に対するシャペロン療法

第37回臨床薬理学会学術総会 2016.12.12(鳥取)シンポジウム16 進むオーファンドラッグ(希少疾患用医薬品)に対する創薬
ゴーシェ病に対するシャペロン療法の開発

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）
平成 26 年度～28 年度総合研究報告書

ALD、MLD 等のライソゾーム病遺伝子治療調査研究

分担研究者： 大橋 十也 （東京慈恵会医科大学）

研究要旨

副腎白質ジストロフィー(ALD) 異染性脳白質変性症(MLD)の造血幹細胞を標的としたレンチウイルスベクターを用いての当該正常遺伝子の導入による遺伝子治療の臨床試験の世界的な状況を論文、国内、国外学会の聴講、学会主催などにより調査研究した。その結果、両試験とも非常に良好な結果であり、早期の本邦への導入が期待された。

研究協力者氏名 大橋十也

所属機関名及び所属機関における職名

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、同大小児科 教授

(倫理面への配慮)

該当なし

A．研究目的

現在小児期発症の代表的疾患である。
MLD,ALDへのレンチウイルスベクターを用いた造血幹細胞を標的とした遺伝子治療の臨床試験が欧米で進んでいる。しかしながら本邦では、これら臨床試験は進んでいない。この問題点を明らかにするため、論文の精読、国内外の関連学会を聴講、当該研究者へのインタビューにより最新情報を集め現状を分析した。

B．研究方法

論文はPub Medなどを利用して検索した。
また聴講した遺伝子治療関連学会は以下の通りである。

1. 日本遺伝子細胞治療学会
(2014,2015,2016)
2. 欧州遺伝子細胞治療学会(2015,2016)
3. 第58回日本先天代謝異常学会(2014,2015,2016)
4. 第7回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム(2015,2016,2017)

C．研究結果

3年間の纏めとして28年度報告書に記載。

D．考察

3年間の纏めとして28年度報告書に記載。

E．結論

3年間の纏めとして28年度報告書に記載。

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

なし

「ムコ多糖症 II 型の診療ガイドライン」
「ポンペ病の診療ガイドライン」
「ファブリー病診療ガイドライン」
に関する研究

分担研究者： 小林 正久（東京慈恵会医科大学小児科）

研究要旨

ライソゾーム病において、酵素補充療法が開発承認されているムコ多糖症 II 型、ポンペ病、ファブリー病の診療ガイドライン作成を試みた。ムコ多糖症 II 型、ポンペ病の診療ガイドラインについては、診療におけるクリニカルクエスチョン（CQ）を選定し、システマティックレビュー、推奨文の作成を行い、原案を作成した。今後、パブリックコメントでの評価後、日本先天代謝異常学会の承認を得る方針である。

ファブリー病の診療ガイドラインについては、平成 28 年 9 月より作成統括委員会を発足し、作成委員の選定、CQ の選定を行った。今後、各 CQ についてのシステマティックレビュー、推奨文の作成を行う予定である。

A．研究目的

ライソゾーム病に対する酵素補充療法（ERT）が開発され、一部のライソゾーム病では根本治療が可能となった。その代表的疾患が、ムコ多糖症 II 型、ポンペ病、ファブリー病である。現在、ERTは標準的な治療法となっており、その治療効果と限界についてのエビデンスが集積してきている。また、ERT以外の治療法についても研究がすすみ、同様にエビデンスが集積されている。このような背景の中で、わが国での標準的な治療指針を確立するために、診療ガイドラインの作成を行った。

B．研究方法

ガイドライン作成のプロセスは、MINSの「診療ガイドライン作成の手引き2014」に従い、

- 1) クリニカルクエスチョンの作成
- 2) アウトカムの選定
- 3) 関連論文の収集
- 4) システマティックレビュー
- 5) 推奨文の作成

6) 診療ガイドライン草案の作成

7) 外部評価（パブリックコメント募集）

8) 公開。

を手順とした。

C．研究結果

ムコ多糖症 II 型については平成 27 年 4 月より、ポンペ病については平成 28 年 4 月より、ガイドライン作成を開始し、下記の CQ についてシステマティックレビュー、推奨文の作成、診療ガイドラインの草案の作成を行った。筆者は、ムコ多糖症については、各 CQ のシステマティックレビュー、ポンペ病については推奨文の作成を担当した。

・ムコ多糖症 II 型

I. ムコ多糖症 II 型に対する ERT は

- CQ1：呼吸機能を改善させるか
- CQ2：歩行機能を改善させるか
- CQ3：生命予後を改善させるか
- CQ4：神経症状を改善させるか
- CQ5：骨・関節症状を改善させるか
- CQ6：心機能・弁機能を改善させるか

II. ムコ多糖症 II 型に対する骨髄幹細胞移植は

- CQ7: 呼吸機能を改善させるか
- CQ8: 歩行機能を改善させるか
- CQ9: 生命予後を改善させるか
- CQ10: 神経症状を改善させるか
- CQ11: 骨・関節症状を改善させるか
- CQ12: 心機能・弁機能を改善させるか

・ポンペ病

- CQ1: 診断に病理学的検索は推奨できるか
- CQ2: 診断に濾紙血 GAA 活性測定は有用か
- CQ3: 発症前治療は有効か
- CQ4: ERT は予後を改善させるか
- CQ5: ERT は呼吸機能を改善させるか
- CQ6: ERT は運動機能を改善させるか
- CQ7: ERT は心筋症を改善させるか
- CQ8 : ERT は脳血管障害を改善させるか
- CQ8 : ERT は白質病変を改善させるか
- CQ8 : ERT は難聴を改善させるか
- CQ9 : ERT は難治性下痢を改善させるか
- CQ9 : ERT は構音障害を改善させるか
- CQ10: ERT 開始時期は有効性に影響するか
- CQ11: 遺伝子型は ERT の効果に影響するか
- CQ12: 食事療法は推奨できるか
- CQ13: 理学療法は推奨できるか
- CQ14: 人工呼吸は生命予後を改善させるか
- CQ15: 経過観察に骨格筋画像は有効か

ファブリー病については、平成 28 年 9 月より作成を開始し、筆者はガイドライン作成統括委員を担当し、下記の CQ を選定した。

I. ファブリー病に対する ERT は

- CQ1: 生命予後を改善させるか
- CQ2: 疼痛を改善させるか
- CQ3: 被角血管腫、発汗障害を改善させるか
- CQ4: 眼科的所見を改善させるか
- CQ5: 消化器症状を改善させるか
- CQ6: 循環器障害を改善させるか
- CQ7: 腎障害を改善させるか
- CQ8: 脳血管障害、精神障害を改善させるか
- CQ9: 耳鼻科的障害を改善させるか

II. ファブリー病に対する対症療法は

- CQ10: 疼痛を改善させるか
- CQ11: 循環器障害を改善させるか
- CQ12: 腎障害を改善させるか
- CQ13: 耳鼻科的障害を改善させるか

D. 考察

ライソゾーム病は稀少疾患であるために、エビデンスレベルの高い介入研究は非常

に少なく、ほとんどが酵素補充療法の治験の報告、あるいは観察研究であった。CQ によっては、システマテックレビューに採用すべき論文がないものもあった。そのため、エビデンスレベルの高い推奨文を作成できたCQは限られ、他のCQではエキスパートオピニオンが主体となった。そのようなCQでは、エキスパートオピニオンをもとにガイドライン作成委員のなかで協議し、推奨文を作成した。

E. 結論

ムコ多糖症II型、ポンペ病の診療ガイドラインの草案を作成した。今後、外部評価（パブリックコメントの募集）を行い、ガイドラインを公開する予定である。ファブリー病の診療ガイドラインについては、今後システマテックレビュー、推奨文の作成を行い、ガイドライン草案を作成する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Higuchi T, **Kobayashi M**, Ogata J, Kaneshiro E, Shimada Y, Kobayashi H, Eto Y, Maeda S, Ohtake A, Ida H, Ohashi T. Identification of cryptic novel -Galactosidase A gene mutations: abnormal mRNA splicing and large deletions. JIMD Rep. 2016; 30: 53-72

2) Kono Y, Wakabayashi T, **Kobayashi M**, Ohashi T, Eto Y, Ida H, Iguchi Y. Characteristics of cerebral microbleeds in patients with Fabry disease. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2016; 25: 1320-1325

3) Saito O, Kusano E, Akimoto T, Asano Y, Kitagawa T, Suzuki K, Ishige N, Akiba T, Saito A, Ishimura E, Hattori M, Hishida A, Guili C, Maruyama H, **Kobayashi M**, Ohashi T, Matsuda I, Eto Y. Prevalence of Fabry disease in dialysis patients: Japan Fabry disease screening study (J-FAST). Clin Exp Nephrol. 2016; 20: 284-293

4) Nakano S, Tsukimura T, Togawa T, Ohashi T, **Kobayashi M**, Takayama K, Kobayashi Y, Abiko H, Satou M, Nakahata T, Warnock DG, Sakuraba H, Shibasaki F.

Rapid immunochromatographic detection of serum anti- α -Galactosidase A antibodies in Fabry patients after enzyme replacement therapy. *POis One* 2015; 10: e0128351

該当なし
3.その他
該当なし

5) Kobayashi M, Ohashi T, Iizuka S, Kaneshiro E, Higuchi T, Eto Y, Ida H. Frequency of de novo mutations in Japanese patients with Fabry disease. *Mol Genet Metab Rep.* 2014; 1: 283-287

2. 学会発表

- 1) M Masahisa Kobayashi, Toshiyuki Fukao, Toya Ohashi, Hiroyuki Ida. The first neonatal case with HSD10 disease in Japan. The 4th Asian Congress for Inherited Metabolic Disease. Taipei, Taiwan
- 2) Masahisa Kobayashi, Toya Ohashi, Yoshikatsu Eto, Hiroyuki Ida. Mutation spectrum of Japanese patients with Fabry disease - Correlation between genotype and phenotype. 13th International Congress of Human Genetics. April 3-7, 2016, Kyoto, Japan
- 3) 小林正久、笹井英雄、深尾敏幸、石毛信之、大橋十也、井田博幸. C5-OH 高値が持続する超低出生体重児の一例 - タンデムマス・スクリーニング陽性例での遺伝子解析の有用性. 第 58 回日本先天代謝異常学会. 2016.10.27-29.
- 4) 尾形仁、小林正久、金城栄子、樋口孝、衛藤義勝、大橋十也、井田博幸. 日本人ファブリー病患者の遺伝子変異と臨床病型の相関についての研究. 第 58 回日本先天代謝異常学会. 2016.10.27-29.

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録

Pompe 病の調査研究

分担研究者： 福田 冬季子（浜松医科大学小児科 准教授）

研究要旨

Pompe 病は酸性 グルコシダーゼ欠損症であり、組織のライソゾームにグリコーゲンが蓄積し、筋力低下、肝腫大、心筋症などを発症する。酵素補充療法の導入により Pompe 病は治療可能な疾患となり、確実な診断のために平成 26 年度に診断基準の作成を行い、平成 28 年度には診療ガイドラインの作成を行った。

また、酵素補充療法を受けた Pompe 病患者に診られる新たな表現型果を文献的に解析し、生命予後が改善した乳児型 Pompe 病の運動機能障害や中枢神経の異常などが抽出された。難聴や脳血管病変が QOL や生命予後を左右する可能性があり、注意が必要である。

研究協力者氏名

杉江秀夫 常葉大学保健医療学部 教授

A．研究目的

酵素補充療法の導入により治療可能な疾患となったPompe病に対し、確実な診断を行うために、新しい診断基準の作成が急務である。また、診療におけるCQに対するエビデンスに基づく診療ガイドラインを作成する。

酵素補充療法を受けたPompe病の表現型を分析し、診療において行うべき介入を明らかにするために、文献的な解析を行う。

B．研究方法

1. Pompe病の診断基準の作成

自験例および国内外の報告を収集し、解析した。本研究班の研究分担者と連携協力し、診断基準を作成した。

2. Pompe病の調査研究

Pompe病の国内外の症例報告、文献を収集し、酵素補充療法を受けたPompe病の臨床像について分析した。

（倫理面への配慮）

Pompe 病の酵素診断、遺伝子解析については浜松医科大学遺伝子解析研究倫理委員会の承認を得て行っており、倫理的に十分な配慮を

して研究を行っている。

C．研究結果

1．前述の手続きにより、診断基準を以下のように策定した。

I．疾患概要

Pompe 病はライソゾーム酵素、酸性 - グルコシダーゼ (G A A) の遺伝子 (GAA) 変異により発症する常染色体劣性遺伝形式の先天代謝異常症である。G A A の基質であるグリコーゲンが骨格筋、肝、心筋などのライソゾームに蓄積し、筋力低下、肝腫大、心筋症などを発症する。

II．臨床病型

乳児型 (古典型): 生後 2 か月頃～数か月に全身の著明な筋緊張低下 (フロッピーインファント)、筋力低下、心拡大、肥大型心筋症、肝腫大などを発症し、呼吸困難、哺乳障害、発育不全をきたす。自然歴では、多くは呼吸不全、心不全や呼吸器感染症により 1 歳未満に死亡する。

遅発型: 乳児期以降に緩徐進行性の近位筋優位の筋力低下、運動発達遅滞、歩行障害や易疲労を発症する。一般に心肥大を認めないが、2 歳未満に発症する例では心肥大を認めることがある。

III．診断基準

A. 主要臨床所見

乳児型:

- a 数か月以内に出現する全身の著明な筋緊張低下(フロッピーインファント)、全身の筋力低下、運動発達遅滞
- b 数か月以内に出現する心拡大、肥大型心筋症
- c 呼吸困難、哺乳障害、発育不全
- d 肝腫大、巨舌
- e 同胞が本疾患と診断されている

遅発型:

- a 乳児期以降に出現する近位筋優位の緩徐進行性の筋力低下、運動発達遅滞、歩行障害、易疲労性
- b 乳児期以降に発症する呼吸筋筋力低下による呼吸障害、早朝の頭痛
- c 同胞が本疾患と診断されている

B 診断の参考となる検査所見

乳児型:

- a 高CK血症
- b 血中BNP高値
- c 胸部X線:心拡大
- d 心エコー:心室壁や心室中隔の肥厚、左室流出路狭窄、駆出率低下
- e 心電図:高いP波、PR時間短縮、QT時間延長、QT dispersionの増加、左室肥大、QRS波増高、T波逆転、ST低下
- f 腹部エコー、腹部CT:肝腫大、肝CT値上昇

遅発型:

- a 高CK血症
- b 呼吸機能検査:肺活量低下、努力肺活量低下

C. 診断の根拠となる検査

- a リンパ球、線維芽細胞、または筋組織中のGAA酵素活性の低下(乳児型;正常の1%未満、遅発型;40%未満)
- b GAA遺伝子解析で病原性のある遺伝子変異を認める
- c. 生検骨格筋病理:乳児型ではヘマトキシリンエオジン染色で筋線維内に大きな空胞が見られ、空胞は、酸ホスファターゼ強陽性でPAS染色陽性。電子顕微鏡所見で、ライソゾームのグリコーゲン蓄積および自己貪食空胞 (autophagic vacuoles with sarcolemmal features:AVSF)の存在。

D. 確定診断

乳児型:

発症後の診断では、A、B項目のいずれか1つ

以上の陽性所見を認め、かつC項目の1または2を認めた場合。

発症前の診断では、C項目1または2で乳児型を引き起こす変異を認めた場合、または、家系内遺伝子検索で、家系内の乳児型と同型変異を認めた場合。

遅発型:

A、B項目においていずれか1つ以上の陽性所見を認め、かつ、C項目の2を認める場合または下記のいずれか一つを認める場合。

- a C項目の1を認め、pseudodeficiencyが存在しない
- b C項目の1を認め、C項目の3で酸性ホスファターゼ活性の上昇またはAVSFが存在

IV. 鑑別診断

乳児型:脊髄筋萎縮症I型など

遅発型:肢帯型筋ジストロフィーなど

V. 補足説明

A 主要臨床所見

筋症状:乳児型では顔面筋が罹患する。遅発型では肢帯筋の筋力低下に比べて、呼吸筋症状が有意に出現することがある。鼻声、Gowers'徴候、翼状肩甲などが出現する。

心病変:乳児型および一部の小児型では、グリコーゲンが心筋や刺激伝導系に蓄積することにより、心肥大、心筋症、うっ血性心不全、不整脈(Wolff-Parkinson-White症候群など)が出現する。心不全が出現すると、呼吸数や心拍数の増加、哺乳不良がみられるようになる。心肥大のない小児型では、時に非特異的な再分極所見を認める。

血管病変:平滑筋にもグリコーゲンが蓄積する。脳血管病変障害をきたした症例の報告がある。

骨病変:筋力低下による二次的な変化として、脊柱側弯症をきたす。

難聴:難聴を認める症例がある。

B 診断の参考となる検査所見

乳児型および遅発型の血清CK値は、多くの場合10,000IU/L未満である。

遅発型の呼吸機能検査は、座位での測定値に比して仰臥位での測定値がより低下する。

遅発型では筋電図で筋原性変化、ミオトニー放電を認めることがある。

遅発型の筋CTでは筋CT値の上昇や低吸収、筋萎縮をみとめることがある。

C. 診断の根拠となる検査

G A A 酵素活性の測定

スクリーニングとして乾燥濾紙血のG A A 活性を測定する方法が普及している。リンパ球、線維芽細胞、骨格筋のG A A 活性を測定し、酵素活性の低下を証明することにより、診断が確定する。

注意：Pompe 病では、G A A 活性を正常の 10 ~ 15 % に低下させる pseudodeficiency (p.G576S, p.E689K) が存在するので、遅発型の診断においては、酵素活性の解釈は、骨格筋病理と酵素活性検査を組み合わせる必要がある。

遺伝子解析

我が国では、GAA 遺伝子好発変異は認めない。新規の遺伝子変異の場合には、病原性を確認する必要がある。

生検骨格筋病理：成人型では前述の空胞がほとんど見られないこともある。

V I 鑑別診断

乳児型：脊髄筋萎縮症 I 型、甲状腺機能低下症、心内膜線維弾性症、心筋炎、先天性筋ジストロフィー、先天性ミオパチー、糖原病 III 型・IV 型、ミトコンドリア病、脂質蓄積ミオパチー、ペルオキシゾーム病など

遅発型：肢帯型筋ジストロフィーなど、Becker 型筋ジストロフィー、脊柱硬直症候群、重症筋無力症、脊髄筋萎縮症、多発筋炎、皮膚筋炎、糖原病 III 型、糖原病 IV 型、Danon 病、ミトコンドリア病、先天性筋強直性ジストロフィーなど

2. Pompe 病の調査研究

文献を収集し、酵素補充療法を受けた Pompe 病の新たな表現型について分析した。

酵素補充療法を受け、生命予後が改善した乳児型 Pompe 病の新たな臨床像として、循環器症状では WPW 症候群などの不整脈、持続または進行する運動機能障害、白質の異常や前頭葉機能障害などの中枢神経の異常、難聴や開鼻声が出現している。

1) 乳児型Pompe病

乳児型Pompe病の長期間酵素補充療法を施行された患者の表現型について、Prater SN、(Genet Med14, 2012) Kishnani PS, (Am J

Med Genet C Semin Med Genet. 2012) などの症例蓄積報告から、以下の点が明らかである。心筋においては、左室肥大が改善するがWPWなどの不整脈が見られる。ほとんどの症例で筋力が低下し、特徴的な肢位をとる。二次的な整形外科的問題が生じる。鼻声と聴力障害が高頻度に見られる。誤嚥が見られる。

2年以上治療を実施された本邦の乳児型Pompe病 8症例(報告時2歳~9歳、治療期間24~112か月)について、症例報告や抄録のreviewを行った。独歩可能症例は4例、ABRの異常や聴力障害 5例、頭部MRIの白質病変を有する症例は4例であった。早期に治療を開始し、独歩が可能となった症例においても重度難聴が発症していた (Matsuoka Tら。Mol Genet Metab Rep. 2016)。聴力障害が長期生存が可能となった乳児型Pompe病症例のQOLに影響を与えている現状が明らかになった。

2) 遅発型Pompe病

遅発型Pompe病の長期間酵素補充療法の効果に関しては、2/3の症例で症状の悪化を阻止または改善し、その多くで、治療開始後1~2年間は改善。その後安定するが、治療開始後2~3年で悪化する症例が 約10%に存在すると報告されている (Regnery C ; J Inherit Metab Dis35,35:2013, Toscano A ; J Neurol, 260: 2013)。Schoser Bらによるメタアナリシス (J Neurol. 2016) では、酵素補充療法は生命予後の改善と運動機能の維持や呼吸機能の悪化を防ぐ効果があると結論づけている。

遅発型Pompe病の長期間酵素補充療法を施行された患者では、特徴的な歩容異常を認めることや眼瞼下垂が見られることが報告されている。さらに、注目すべきことに、遅発型Pompe病の拡張性のarteriopathyの報告が増加している。Pompe病に血管性病変が存在することは、以前から知られていたが、酵素補充療法施行中の症例において、動脈瘤の破裂や虚血発作を発症した症候性拡張性arteriopathyの報告相が次いでいる。

遅発型Pompe病では動脈瘤や脳底動脈の異常拡張やDolichoectasiaなどの脳内血管の異常が60%以上に見いだされ、その60%でラクナ梗塞を認める (Montagnese F, 2016)。酵素補充療法施行中の症例における症候性arteriopathyの報告の頻度は不明であるが、多くの

報告が蓄積され、本邦においても数例報告されている。

脳内血管のみでなく大動脈瘤の解離や破裂をきたす報告も蓄積されている。遅発型Pompe病の脳動脈や大動脈の血管病変について、特に注意を払うべきである。

D. 考察

長期間酵素補充療法を施行されたPompe病患者の表現型について、従来から知られていたが、進行をきたす自然経過においては注意を払われなかった所見の重要性を増している。なかでも、頻度の高い難聴と、頻度は明らかではないが、出血や梗塞により生命をおびやかす脳動脈および大動脈の血管病変の評価や血管障害の予防が重要である。

難聴の病態は明らかではないが、蝸牛の機能不全や口蓋帆張筋の筋力低下や中枢性の異常などが考えられている。

拡張性arteriopathyは血管内皮細胞にグリコーゲンが蓄積し、血管内腔の狭小化したり、小血管が蛇行がみられること、さらに血流の制御に影響を及ぼし、また、血管壁の脆弱性がもたらされることにより、大血管および小血管の出血、梗塞、解離を生じると考えられている。

E. 結論

長期生存が可能となった、酵素補充療法を施行されているPompe病患者において、難聴に対する対応や、脳血管異常に対する検査、外科的な手技を考慮する必要がある。酵素補充療法下に認められるこれらの症状をも改善する新たな治療法の開発が今後の課題である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 福田 冬季子 見逃してはならない治療法のある、あるいは今後期待できる小児神経疾患診断と治療の最前線 Pompe 病の治療と autophagy。脳と発達 47、2015.

2) Shioya A, Takuma H, Yamaguchi S, Ishii A, Hiroki M, Fukuda T, Sugie H, Shigematsu Y, Tamaoka A. Amelioration of acylcarnitine profile using bezafibrate and riboflavin in a case of adult-onset glutaric acidemia type 2 with novel mutations of the electron

transfer flavoprotein dehydrogenase (ETFHDH) gene. J Neurol Sci. 15; 350-2. 2014

3) 福田 冬季子 神経症候群 先天代謝異常糖質代謝異常症 日本臨床別冊神経症候群 III 587-591, 2014.

4) 福田 冬季子 てんかん症候群 先天代謝異常糖質代謝異常症 日本臨床別冊神経症候群 VI 190-194, 2014.

5) 福田 冬季子【小児の治療指針】代謝 ライソゾーム病 Pompe病(糖原病II型) 小児科診療 77 巻増刊 543-544, 2014.

6) 河野 香, 安達 昌功, 朝倉 由美, 室谷 浩二, 鹿間 芳明, 赤城 邦彦, 田中 祐吉, 福田 冬季子, 杉江 秀夫 非進行性肝型と考えられる糖原病 IV 型の 1 例 日本小児科学会雑誌 11 ; 12 ; 1883-1887, 2013.

7) 福田 冬季子 各論 1 筋型グリコ ゲン代謝異常症 診断の進め方 42-45、代謝性ミオパチー(杉江秀夫編集) 診断と治療社 2014

8) 福田 冬季子 各論 1 筋型グリコ ゲン代謝異常症 糖原病 II 型 (Pompe 病) 48-49、代謝性ミオパチー(杉江秀夫編集) 診断と治療社 2014

9) 福田 冬季子 各論 1 筋型グリコ ゲン代謝異常症 糖原病 III 型 (Cori 病) 50-51、代謝性ミオパチー(杉江秀夫編集) 診断と治療社 2014

10) 福田 冬季子 各論 1 筋型グリコ ゲン代謝異常症 Second wind 現象 代謝性ミオパチー(杉江秀夫編集) 診断と治療社 58, 2014

11) 福田 冬季子 各論 1 筋型グリコ ゲン代謝異常症 糖原病 XII 型 代謝性ミオパチー(杉江秀夫編集) 診断と治療社 77-78, 2014

12) 福田 冬季子 総論 筋型グリコ ゲン代謝異常症 代謝性ミオパチー 基本的事項 検査 筋生化学検査 型 代謝性ミオパチー(杉江秀夫編集) 診断と治療社 13-16, 2014

13) 福田 冬季子, 杉江 秀夫 糖質代謝異常症引いて調べる先天代謝異常症 (日本先天代謝異常学会編集) 診断と治療社 2-7, 2014

14) 福田 冬季子, 杉江 秀夫【酵素補充療法】ポンペ病の酵素補充療法 長期的な治療効果と課題 神経研究の進歩 67、1091-1098, 2015.

15) Matsuoka T, Miwa Y, Tajika M, Sawada M, Fujimaki K, Soga T, Tomita H, Uemura S, Nishino I, Fukuda T, Sugie H, Kosuga M,

Okuyama T, Umeda Y. Divergent clinical outcomes of alpha-glucosidase enzyme replacement therapy in two siblings with infantile-onset Pompe disease treated in the symptomatic or pre-symptomatic state. *Mol Genet Metab Rep.* 18;9:98-105, 2016

16) Natsume J, Hamano SI, Iyoda K, Kanemura H, Kubota M, Mimaki M, Niiijima S, Tanabe T, Yoshinaga H, Kojimahara N, Komaki H, Sugai K, Fukuda T, Maegaki Y, Sugie H. New guidelines for management of febrile seizures in Japan. *Brain Dev.* 39:2-9, 2017

17) Ishigaki H, Hiraide T, Miyagi Y, Hayashi T, Matsubayashi T, Shimoda A, Kusunoki S, Fukuda T. Childhood-Onset Multifocal Motor Neuropathy With Immunoglobulin M Antibodies to Gangliosides GM1 and GM2: A Case Report and Review of the Literature. *Pediatr Neurol.* 62:51-7, 2016

18) Asahina M, Endoh Y, Matsubayashi T, Fukuda T, Ogata T. Novel RAB3GAP1 compound heterozygous mutations in Japanese siblings with Warburg Micro syndrome. *Brain Dev.* 38:337-40, 2016;

19) 平野 恵子, 福田 冬季子 頭部 MRI arterial spin labeling(ASL)画像で脳血流分布の異常を認めた有熱時けいれん重積の3例 脳と発達 48: 213-217, 2016.

20) 福田 冬季子 慢性疾患児の一生を診る 先天代謝異常症 糖原病 小児内科 48: 1415-1419, 2016.

21) 福田 冬季子 知っておきたい遺伝性疾患 糖原病 小児内科 48:893-896, 2016.

22) 福田 冬季子 糖原病 肝型糖原病を中心に 小児疾患診療のための病態生理 3 改訂第5版 小児内科 48 増刊号、2016

23) 福田 冬季子 内分泌性ミオパチー 小児疾患診療のための病態生理 3 改訂第5版 小児内科 48 増刊号、2016

24) 福田 冬季子 小児の筋疾患 update 非福山型先天性筋ジストロフィー 小児内科 48 巻12号

2. 学会発表

1) 石垣 景子, 小林 博司, 杉江 秀夫, 福田 冬季子, 成田 綾, 衛藤 薫, 永田 智, 大澤

真木子, 衛藤 義勝, 埜中 征哉 本邦の Pompe 病患者における骨格筋画像の特徴 脳と発達 47 S S237, 2015.

2) 福田 冬季子 見逃してはならない治療法のある、あるいは今後期待できる小児神経疾患 診断と治療の最前線 Pompe 病の治療と autophagy 脳と発達 46 S137、2014

3) 杉江 秀夫, 杉江 陽子, 福田 冬季子, 武関 美香簡易血糖検査器を用いたベッドサイドでの Pompe 病スクリーニング 脳と発達 46 S409, 2014.

4) 田鹿 牧子, 三輪 善之, 藤巻 孝一郎, 松岡 孝, 曾我 恭司, 梅田 陽, 上村 茂, 奥山 虎之, 福田 冬季子, 杉江 秀夫 治療開始時期により異なる経過を辿った乳児型ポンペ病の姉妹例 日本小児科学会雑誌 118 404, 2014.

5) 大園 秀一, 渡邊 順子, 西村 美穂, 中川 慎一郎, 上田 耕一郎, 稲田 浩子, 福田 冬季子, 杉江 秀夫, 松石 豊次郎 横紋筋融解症・溶血性貧血を認めた Phosphoglycerate kinase 欠損症の一例 日本小児科学会雑誌 118 403, 2014.

6) 福田冬季子, 大竹 明, 荻原康子, 中富明子, 濱田悠介, 熊田知浩, 藤井達哉, 酒井規夫, 深尾敏幸, 杉江秀夫糖原病 III 型の心筋および骨格筋症状に対する治療法の検討第58回日本先天代謝異常学会 日本先天代謝異常学会雑誌 32,147、2016.

7) 志村 優, 前田朋子, 税所純也, 鈴木慎二, 西亦繁雄, 笹井英雄, 福田冬季子, 杉江秀夫, 深尾敏幸, 河島尚志 ケトン性低血糖症における PHKA2 G991A の意義 2 ~ 新生児期より繰り返すケトン性低血糖症の 2 男児例 ~ 第58回日本先天代謝異常学会 日本先天代謝異常学会雑誌 32,1927、2016.

8) 笹井英雄, 大塚博樹, 志村 優, 小林弘典, 坂本 修, 但馬 剛, 沼倉周彦, 福田冬季子 杉江秀夫, 深尾敏幸ケトン性低血糖症における PHKA2 G991A の意義 1 ~ Overview ~ 第58回日本先天代謝異常学会 日本先天代謝異常学会雑誌 32,147、2016.

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）
平成 26 年度～28 年度総合研究報告書

ファブリー病（Fabry Disease）の診断指針の研究

分担研究者： 中村公俊（熊本大学大学院生命科学研究部小児科学分野 准教授）

研究要旨

ファブリー病の診断には血液中や白血球の ガラクトシダーゼ酵素活性の測定や、遺伝子解析が用いられており、確定診断に有効である。特徴的な症状から臨床診断を進めることが困難であることが多いため、主治医がファブリー病を疑って確定診断を進めることが重要である。本研究ではファブリー病の診断指針を策定し、早期診断の環境を整える。

研究協力者

三淵 浩 熊本大学医学部附属病院新生児学寄
附講座 特任教授
松本志郎 熊本大学医学部附属病院総合周産期
母子医療センター 講師
百崎 謙 熊本大学医学部附属病院小児科診療
助手
遠藤文夫 くまもと江津湖療育医療センター
総院長

A．研究目的

ファブリー病（Fabry Disease）の診断指針を作成する。

B．研究方法

これまで発表されている報告や成書を集約し、本疾患に関する情報を渉猟した。
（倫理面への配慮）診断基準作成につき倫理的問題はないと考える。

C．研究結果

ファブリー病（Fabry Disease）の診断指針の診断指針

．疾患概要

ファブリー病はライソゾーム内の加水分解酵素である α ガラクトシダーゼ(α -galactosidase, EC 3.2.1.22)の活性の低下によって、糖脂質が組織や体液中に蓄積し、心不全、腎不全、脳血管障害など多彩な臨床症状を呈する遺伝性疾患である。その診断には血液中や白血球の α ガラク

トシダーゼ酵素活性の測定や、遺伝子解析が用いられており、確定診断に有効である。特徴的な症状から臨床診断を進めることが困難であることが多いため、主治医がファブリー病を疑って確定診断を進めることが重要である。またヘテロ接合体の女性では、X 染色体不活化の程度の違いによって、無症状から、心臓、腎臓などの単一臓器の障害、古典型と同様の複数の臓器にわたる障害までさまざまな病型を示すことに注意が必要である。

る紙血検体の α ガラクトシダーゼ活性測定による新生児スクリーニングの試みは、イタリア、台湾、日本などで行われており、男児における頻度は、約 4,000～9,000 人に 1 人と推定されている。また、古典型の頻度はおよそ 30,000～40,000 人に 1 人とされている。これまでのわが国での新生児スクリーニングでは、われわれが 47 万人の新生児検体を検査し、6 名の古典型の患者を発見し、そのうち 2 名は治療が開始されている。また、すでに発症しているファブリー病患者を発見するためのハイリスクスクリーニングは、腎障害、心肥大、脳梗塞などの症状を呈する患者を対象に試みられている。ハイリスク患者におけるファブリー病の頻度は、0.2～5%と、報告によってさまざまである。これまでのわが国でのハイリスクスクリーニングでは、腎障害患者の 0.2%、心障害患者の 0.5%にファブリー病が発見され、痛みを主訴とする患者では約 6%にファブリー病が発見されている。

ファブリー病の男性患者では、四肢末端の痛みや、被角血管腫と呼ばれる皮疹、低汗症や無

汗症、角膜の混濁などが出現する。さらに尿蛋白などの腎臓機能低下、心肥大、不整脈などの心臓機能低下、脳梗塞などの脳血管障害が出現する。これらの症状は異なった時期に、または単独で現れることがある。また、消化器症状、自律神経障害、精神症状や聴覚障害がみられることがある。

女性患者では、無症状から男性患者と同様の重篤な症状まで様々な重症度が存在し、臓器ごとに症状の程度が異なることが多い。

・臨床病型

本症には古典型と遅発型の2つの病型がある。残存酵素活性の程度により分かれ、若年発症ほど症状は重症である。

古典型は四肢末端の痛みを含めた、上にあげたすべての症状が出現する事がある。

遅発型は腎症状や心症状など一部の症状に限られる。

ヘテロ接合体の女性では、無症状から、心臓、腎臓などの単一臓器の障害、古典型と同様の複数の臓器にわたる障害までさまざまな病型を示す。

・診断基準

1) 主要臨床所見

幼児期以降から出現し、運動や発熱により増強する四肢末端痛。

幼児期以降から出現する発汗障害、または被角血管腫。

思春期以降に発症する進行性の腎機能障害。

成人期以降から出現する心障害（心肥大、不整脈、心臓弁膜症や虚血性心疾患）。

成人期以降から出現する脳血管障害。

2) 診断の参考となる検査所見

眼科診察で渦状角膜混濁を認める。

タンパク尿、あるいは進行性の腎機能障害を認める。

心電図の異常、あるいは心エコーで心肥大所見を認める。

頭部 MRI 検査で大脳白質病変や脳梗塞所見を認める。

光学顕微鏡所見で空胞状変化を認める、または電子顕微鏡所見でゼブラボディを認める。

血漿あるいは尿中に Gb3 あるいはグロボトリアオシルスフィンゴシン (lyso-Gb3) の蓄積を認める。

3) 診断の根拠となる検査

ろ紙血検体、白血球 (リンパ球) 培養線維芽細胞中の α -ガラクトシダーゼ A 活性測定。
 α -ガラクトシダーゼ A の遺伝子解析。

4) 確定診断

男性患者

上記 1) および 2) 項目において、いずれか 1 つ以上の陽性所見を認め、3) 項目の で α -ガラクトシダーゼ A 活性の著しい低下を認める場合。

女性患者

上記 1) および 2) 項目において、いずれか 1 つ以上の陽性所見を認め、3) 項目の で病原性のある遺伝子変異を認める場合、あるいは家族歴から女性患者であることが明らかな場合。

・鑑別診断

- ◆ 四肢末端痛：膠原病や肢端紅痛症など。
- ◆ 被角血管腫：フコシドーシス、神崎病やガラクトシアリドーシスなど。
- ◆ 進行性の腎障害、肥大型心筋症および若年性脳梗塞を発症する疾患。

D . 考察

診断の根拠となる培養繊維芽細胞内の酵素活性の測定や、 α ガラクトシダーゼ遺伝子変異検索が本邦では研究室へ依頼して行う検査であることが問題と思われる。

酵素補充療法のほかに基質合成阻害薬やシャペロン療法などの開発が進んでおり、これまでにまして早期診断の重要性が増している。

E . 結論

本診断基準を利用して、早期診断を行なわれる環境が整うようにする必要がある。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Nakamura K*, Kido J, Matsumoto S, Mitsubuchi H and Endo F Clinical manifestations and growth of patients with urea cycle disorders in Japan J.

- Hum. Genet. 61: 613-616 (2016)
2. Yoshida S, Kido J, Matsumoto S, Momosaki K, Mitsubuchi H, Shimazu T, Sugawara K, Endo F, Nakamura K* Prenatal diagnosis of Gaucher disease using next-generation sequencing. *Pediatrics International* 58:946-949 (2016)
 3. Noguchi A*, Nakamura K, Murayama K, Yamamoto S, Komatsu H, Kizu R, Takayanagi M, Okuyama T, Endo F, Takasago Y, Shoji Y, Takahashi T Clinical and genetic features of lysinuric protein intolerance in Japan. *Pediatrics International* 58:979-983 (2016)
 4. Tanaka K, Nakamura K*, Matsumoto S, Kido J, Mitsubuchi H, Ohura T, Endo F Citrulline administration for urea cycle disorders in Japan. *Pediatrics International* (in press)
 5. Sakamoto R, Nakamura K*, Kido J, Matsumoto S, Mitsubuchi H, Inomata Y, Endo F Improvement in the prognosis and development of patients with methylmalonic acidemia after living donor liver transplant. *Pediatric Transplantation* 20:1081-1086 (2016)
 6. Kido J, Matsumoto S, Momosaki K, Sakamoto R, Mitsubuchi H, Inomata Y, Endo F, and Nakamura K* Plasma exchange and chelator therapy rescues acute liver failure in Wilson disease without liver transplantation. *Hepatology Research* (in press) [IF, 2.208; citation, 0]
 7. Chinen Y*, Nakamura S, Yoshida T, Maruyama H, Nakamura K A new mutation in newborn screening for Fabry disease evaluated by plasma globotriaosylsphingosine levels. *Human Genome Variation* (in press)
 8. Mori H, Momosaki K, Kido J, Tamura H, Tanaka K, Matsumoto S, Nakamura K, Mitsubuchi H, Endo F, Iwai M* Amelioration of Brain Damage by Glycine in Neonatal Rat Brain Following Hypoxia-Ischemia. *Pediatrics International* (in press)
 9. Kido J, Matsumoto S, Sakamoto R, Mitsubuchi H, Endo F and Nakamura K* Pulmonary artery hypertension in methylmalonic acidemia. *Hemodialysis International* Nov 1. doi: 10.1111/hdi.12506. [Epub ahead of print] (2016)
 10. Kido J, Mitsubuchi H, Ito F, Yoshida T, Matsumoto S, Sakamoto R, Endo F and Nakamura K* Advanced endometrial cancer in phenylketonuria. *Medical Science Case Reports* 3:108-111 (2016)
 11. Honda T, Itoh F, Nakamura K, Ohba T and Katabuchi H A case of gradually manifesting McCune–Albright syndrome with a 10-year follow-up. *Reprod Med Biol* 15: 261 (2016)
- G . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得
先天性代謝異常症6疾患の同時スクリーニング検査法 発明者：中村公俊、遠藤文夫、久米田幸介、吉田真一郎 出願国：日本 出願日：2016年12月22日 出願番号：2016-249903 (出願中)
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

ムコ多糖症 II 型における重症度予測因子に関する調査研究
分担研究者： 濱崎 考史（大阪市立大学医学部小児科）

研究要旨

ムコ多糖症 II 型の重症型では中枢神経障害を来し発達予後が不良となる。しかし臨床症状の重症度には幅があり生活の質に大きな影響を及ぼす。近年、中枢病変に対する新規治療法の開発が進歩し、効果を評価する上で、発達予後予測が重要となってきた。今回、後方視的な自然歴調査により心理発達予後に関与する因子について調査した。

A．研究目的

ムコ多糖症 II 型の臨床症状の重症度には幅があり、重症型では中枢神経障害を来し発達予後が不良となる。近年、中枢病変に対する新規治療法の開発の進歩により、ムコ多糖症 II 型における発達予後予測が治療の有効性の評価するにあたり重要となってきた。ムコ多糖症 II 型の病因遺伝子である iduronate-2-sulfatase (IDS) 遺伝子変異型と表現型との相関関係は未確定であり、よりの確な発達予後予測に必要な根拠となる、自然歴調査が必要である。

B．研究方法

研究調査対象は、当科にて定期的に心理発達検査を施行しているムコ多糖症 II 型重症型の患者に対しておこなった。

（倫理面への配慮）

症例は連結可能な匿名化を行った。

C．研究結果

これまで、当科では、ムコ多糖症 II 型の重症度分類を表 1 に示す基準により分類してきた（表 1）。しかしながら、軽症例において、終始コドンが挿入されるナンセンス変異例において臨床経過として軽症例である症例を複数例発見された。既存の報告例との比較検討により、IDS 遺伝子のエクソン 2～7 の領域での終止コドンの挿入やフレームシフト変異の場合、臨床経過は重症型であったが、それ以外のエクソン 1、8

、9 領域でのナンセンス変異では、精神発達予後が比較的良好な症例が存在することが明らかとなった。アリルスルファターゼの結晶解析結果を基にイズルスルファターゼの構造を予想したところ、活性中心として D45, D46, C84, K135, D334 のアミノ酸が重要であり、それらをコードしている領域がエクソン 2～7 の領域であることが判明した（図 1）。

今回、当科にて、この活性中心の領域内で、IDS 遺伝子に同一の新規ナンセンス変異 (Q272X) を認めた 2 例の自然歴を詳細に検討したところ、発達年齢は 4-5 歳時に 2 歳相当となった後退行し、酵素補充により生命予後は改善するも、成人までには、寝たきりとなる重症型になるものと推定された。

D．考察

ナンセンス変異では、一般的に酵素タンパク質が合成されず、重症型になるものと考えられるが、read through 現象により活性をもつ酵素が一部合成され、軽症化する可能性が示唆された。しかし、酵素活性に重要な領域のナンセンス変異では期待することは難しい。今後、個々の症例において、遺伝子型だけでなく、高感度の残存酵素活性の測定、GAG の蓄積の程度を評価し、自然歴との相関関係を調査する必要がある。また、個々の患者において、なぜ重症度や病状の進行速度の程度が異なるのか、そのメカニズムの解明が望まれる。一例として、責任遺伝子である IDS 遺伝子以外に、進行を遅らせるうる修飾遺伝子が存在し、そ

の多型の違いにより重症度が影響を受ける可能性もある。個々の患者の全ゲノム情報含む表現型を解析できるiPS細胞を用いた疾患モデルは今後、重要な役割を果たすものと期待される。

E . 結論

中枢病変に対する新規治療法の進歩により、ムコ多糖症 II 型における発達予後予測がますます重要となってきた。遺伝子型は予後予測に強い影響を及ぼすが、個々の症例の自然歴の蓄積と酵素活性、生化学的分析、治療への反応性など多角的な検討が必要である。

F . 研究発表

1. 論文発表

- Hamazaki T, El Rouby N, Fredette NC, Santostefano KE, Terada N. Induced Pluripotent Stem Cell Research in the Era of Precision Medicine. *Stem Cells*. 2017 Jan 18. doi: 10.1002/stem.2570.
- Nicholls K, Shankar SP, Sunder-Plassmann G, Koehler D, Nedd K, Vockley G, Hamazaki T et al. Oral Pharmacological Chaperone

Migalastat Compared With Enzyme Replacement Therapy in Fabry Disease: 18-Month Results from the Randomized Phase 3 ATTRACT Study. *J Med Genet*. 2016 Nov 10. pii: jmedgenet-2016-104178.

2. 学会発表

- 春日彩季、濱崎考史、菊池菜摘、野々村光穂、新宅治夫:重症ムコ多糖症 II 型の小児患者 2 例における同一の iduronate-2-sulfatase 遺伝子の新規変異と発達の比較. 第 5 8 回日本先天代謝異常学会 2016.10.27-29 (東京)

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

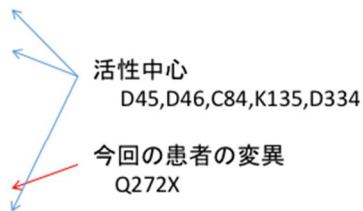
該当なし

表1. ムコ多糖症 II 型の重症度分類

Type	遺伝型	発症	初発症状	知的障害	就学・就業
A: 軽症	ミスセンスやスプライス異常など	学童期	関節拘縮	なし	高校以上も可能
B: 中等症	ミスセンス変異	就学前	関節拘縮 and/or 腹部膨満	なし	小中学可能 高校以上困難
C: 重症	ミスセンス変異	2歳以降	発達遅延、身体症状 (特有顔貌、関節拘縮、腹部膨満)	発語: 12-18 か月 2語文: 2-3歳	小中学困難 高校以上不可能
D: 最重症	フレームシフト、偽遺伝子組換え	2歳未満	発達遅延、身体症状 (特有顔貌、関節拘縮、腹部膨満)	発語: 2歳以降 2語文: 不能	小中学困難 高校以上不可能

図1 ムコ多糖症 II 型のナンセンス・フレームシフト変異と表現型の相関

遺伝子異常	変異部位	表現型
R8X	エクソン1	非重症型
W12X	エクソン1	非重症型
A23fs	エクソン1	非重症型
L24fs	エクソン1	非重症型
Q75X	エクソン2	重症型
Y151X	エクソン4	重症型
R172X	エクソン5	重症型
E177X	エクソン5	重症型
K199fs	エクソン5	重症型
T214fs	エクソン5	重症型
W345X	エクソン7	重症型
V401fs	エクソン9	非重症型
C422fs	エクソン9	非重症型
C441fs	エクソン9	非重症型
R443X	エクソン9	非重症型・重症型
W475X	エクソン9	非重症型
Q531X	エクソン9	非重症型



- 特徴
- ナンセンス変異、フレームシフト変異でも非重症型はある
 - 重症型はエクソン2~7に多い

オートファジーとライソゾーム病の関連について

分担研究者： 柳澤 比呂子（脳神経疾患研究所 先端医療研究センター&遺伝病研究所 研究員）

研究要旨

ライソゾーム病は、病理学的観察、及び分子生物学に基づいた研究成果により、オートファジーとの関連が報告されている。ニーマン・ピック病C型、及びファブリー病の患者由来繊維芽細胞を用いて、オートファジー不全を LC3 turnover assay により、明らかにした。さらに治療薬の効果について、検討した。

A．研究目的

ニーマン・ピック病、ファブリー病のオートファジー動態を解析し、有効な治療薬をオートファジー flux から探索する。

B．研究方法

ニーマン・ピック病、ファブリー病患者由来繊維芽細胞を用いて、オートファジー動態に関わる因子の発現量をウエスタンブロット、またライソゾームの大きさを免疫細胞染色により解析した。

（倫理面への配慮）

細胞は連結可能な匿名化を行った。

C．研究結果

ニーマン・ピック病患者由来繊維芽細胞を血清飢餓にすると、ライソゾームの増大やオートファジー基質であるp62の蓄積が観察された。ロイシン添加により、これらの減少が軽減された。また、LC3 turnover assayにより、オートファジー不全を明らかにした。

ファブリー病の患者由来繊維芽細胞を血清及びアミノ酸飢餓にし、LC3 turnover assayにより、オートファジー不全を明らかにした。また、酵素補充薬の効果を検討し、オートファジー不全が改善されたことを確認した。

D．考察

ニーマン・ピック病患者由来繊維芽細胞を用いた実験により、ロイシン添加によるオートファジー不全の改善を示唆する事ができた。さらに、ロイシンとオートファジーとの関連について研究を進め、他の治療薬の効果についても今後の課題とする。

ファブリー病の患者由来繊維芽細胞を用いた実験により、オートファジー flux を解析する事により、治療薬効果の指標となり得ることがわかった。

E．結論

ライソゾーム病をオートファジー不全という観点から、解析する事により、今後の治療薬開発や既存の治療薬効果の検証に有用であると示唆された。

F．研究発表

1. 論文発表

- 1) Neonicotinoid Insecticides Alter the Gene Expression Profile of Neuron-Enriched Cultures from Neonatal Rat Cerebellum. Kimura-Kuroda J, Nishito Y, Yanagisawa H, Kuroda Y, Komuta Y, Kawano H, Hayashi M. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 13:987. (2016)

- 2) Involvement of oxidative stress and impaired

lysosomal degradation in amiodarone induced schwannopathy. Niimi N, Yako H, Tsukamoto M, Takaku S, Yamauchi J, Kawakami E, Yanagisawa H, Watabe K, Utsunomiya K, Sango K. *Eur J Neurosci*. 44:1723-33. (2016)

- 3) The severe clinical phenotype for a heterozygous Fabry female patient correlates to the methylation of non-mutated allele associated with chromosome 10q26 deletion syndrome. Hossain MA, Yanagisawa H, Miyajima T, Wu C, Takamura A, Akiyama K, Itagaki R, Eto K, Iwamoto T, Yokoi T, Kurosawa K, Numabe H, Eto Y. *Mol Genet Metab*. 17:30012-4. (2017)

2. 学会発表

- 1) ニーマンピック病 C 型におけるオートファジー不全を改善する因子の解析
柳澤比呂子、秋山けい子、石井智裕、渡部和彦、河上江美子、遠藤堅太郎、山元大輔、衛藤義勝。第 58 回日本先天代謝異常学会 2016 年（新宿）
- 2) ニーマンピック病 C 型における治療効果をオートファジー不全から探る
柳澤比呂子、秋山けい子、石井智裕、河上江美子、遠藤堅太郎、山元大輔、渡部和彦、衛藤義勝。第 30 回日本小児脂質研究会 2016 年（品川）
- 3) オートファジーの視点による Fabry 病治療効果
柳澤比呂子、ホセイン・モハンマド・アリフ、宮島任司、秋山けい子、五十嵐純子、衛藤義勝。第 39 回日本分子生物学会 2016 年（横浜）

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

副腎白質ジストロフィーの自然経過の検討、多彩な表現型を規定する遺伝的修飾因子探索研究、エキソーム解析による D-二頭酵素欠損症成人例の診断

分担研究者：辻 省次（東京大学医学部附属病院神経内科教授）

研究要旨：副腎白質ジストロフィー(Adrenoleukodystrophy:ALD)は、*ABCD1* を原因遺伝子とする X 連鎖性劣性の進行性中枢神経障害を認める疾患で、時に副腎不全を来す。発症年齢、臨床症候は多彩で様々な臨床病型を認めるが、遺伝子表現型連関は認めない。当院当科で経過観察中の 24 症例について、その自然歴について検討を行った(H26)。遺伝的表現型修飾因子同定のため、エキソーム関連解析を行った(H27)。D-二頭酵素(D-bifunctional protein: DBP)欠損症はペルオキシソーム脂肪酸β酸化に関わる酵素である DBP をコードする *HSD17B4* を原因遺伝子とする常染色体劣性疾患である。我々は小児期より感音性難聴、言語獲得障害に加え緩徐進行性の小脳失調、末梢神経障害を認めた成人例の DBP 欠損症をエキソーム解析で診断した(H28)。

研究協力者氏名

所属機関名及び所属機関における職名

松川敬志 東京大学神経内科 学術支援専門職員

三井純 東京大学神経内科 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 学術支援専門職員

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

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

当院当科で経過観察中のALD 24症例の自然経過の検討を目的とした。

小児期より感音性難聴、言語獲得障害に加え、緩徐進行性の小脳失調、末梢神経障害を認めた36歳男性の診断を目的とした。

B . 研究方法

ALD 24症例（思春期大脳型1例、Adrenomyeloneuropathy(AMN)から大脳型

への移行例8例、小脳脳幹型から大脳型への移行例1例、小脳脳幹型2例、AMN 9例、アジソン単独型2例、未発症1例)について、神経所見、頭部MRIを含めた経過観察を行った。

緩徐進行性の小脳失調、末梢神経障害を認めた36歳男性の末梢血白血球よりDNAを抽出の上、エキソーム解析を行った。

（倫理面への配慮）

ヒトゲノム・遺伝子解析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。書面による同意を得た。

C . 研究結果

平均経過観察期間は5.5年であった。AMN から大脳型への移行例の中で大脳症状発症までの期間は平均 8.4 年であった。前向き観察によりとらえられた新出の大脳白質の病変は限局性の小さい病変であり、ガドリニウムによる造影効果を伴っていた。

エキソーム解析で、日本人コントロールにおいてアレル頻度が0.005未満である rare variants[非同義置換の single nucleotide variants(SNVs)、スプライスサイト変異、小挿入/欠失変異]は 256 個あり、その中で 7 つの遺伝子において 2 つ以上の rare variants を認めた(常染色体劣性遺伝性疾

患を想定)。その中で *HSD17B4* 変異[既知遺伝子変異 c.394C>T (p.Arg132Trp), 新規遺伝子変異 c.523G>A (p.Ala175Thr)]のみが本症例の臨床像に合致する変異であった。本症例におけるペルオキシソーム代謝産物の解析では血漿スフィンゴミエリン中極長鎖脂肪酸の上昇は認めず、血清フィタン酸は上昇を認め、血清プリスタン酸は正常上限であった。

D . 考察

緩徐進行性の下肢痠性を主体とするAMNの中で、約半数が平均8.4年で大脳型へ移行していた。前向きの観察により早期の段階でGd造影効果を伴う大脳白質病変を捉えることができ、造血幹細胞移植の適応を判断していく上で重要であると考えた。

近年、典型的なDBP欠損症と異なり、小児期に感音性難聴に加え、緩徐進行性の小脳失調、末梢神経障害を呈するDBP欠損症の報告がなされている(Pierce, et al. 2010, MacMillan, et al. 2012, Lieber, et al. 2014, Lines, et al, 2014)。いずれもエキソーム解析で診断がなされ、極長鎖脂肪酸を含めたペルオキシソーム代謝産物の異常を認めないことが多いことから、臨床所見のみから、緩徐進行性のDBP欠損症を診断することは難しいことが示唆される。

E . 結論

緩徐進行性の非大脳型であっても、慎重に経過観察を行い、大脳型への移行を早期に判定することができる。

緩徐進行性のDBP欠損症の報告はまだ限られており、未診断となっている症例も存在すると考えられる。小児期の感音性難聴に加え、緩徐進行性の小脳失調、末梢神経障害、錐体路徴候を示す成人例においてはDBP欠損症の可能性を考慮する必要があると考える。

F . 研究発表

1. 論文発表

Matsukawa T, Koshi KM, Mitsui J, et al. Slowly progressive D-bifunctional protein deficiency with survival to adulthood diagnosed by whole-exome

sequencing. J Neurol Sci. 2017;372:6-10.

2. 学会発表

なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得：なし

2. 実用新案登録：なし

3. その他：なし

日本人ゴーシェ病の臨床表現型、酵素補充療法に関する研究

分担研究者：井田 博幸（東京慈恵会医科大学）

研究要旨：ゴーシェ病はグルコセレブロシダーゼ（GBA）活性低下により発症するライソゾーム病である。神経症状の有無と重症度により1型（非神経型）、2型（急性神経型）、3型（亜急性神経型）に分類されている。現在、酵素補充療法が標準治療として実施されている。当院で診断した日本人ゴーシェ病129例について臨床症状の調査を行った（H26）。また、これら症例について遺伝子解析を行い、臨床症状との相関を検討した（H27）。そして諸外国の症例との臨床症状・遺伝子変異分析を比較検討し、酵素補充療法の効果についても検討した（H28）。

研究協力者氏名

所属機関名及び所属機関における職名

金城 栄子 東京慈恵会医科大学 小児科
研究補助員

若林 太一 東京慈恵会医科大学 小児科
助教

A. 研究目的

日本人ゴーシェ病の臨床症状の検討を目的とした。

日本人ゴーシェ病の遺伝子変異分布の検討を目的とした。

臨床症状・遺伝子変異分布の国際比較の検討を目的とした

日本人ゴーシェ病に対する酵素補充療法の効果を評価することを目的とした。

B. 研究方法

日本人ゴーシェ病129例について神経症状の有無、発症年齢、重症度について病歴を用いて検討した。

末梢血白血球からDNAを抽出し、まず、GBA遺伝子の7つのcommon mutationについてPCR断片を制限酵素切断することによってその有無をチェックした。変異が同定されなかった症例についてはSSCP法を行った後、変異があると推察されるエクソンをシークエンスした。

（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。書面による同意を得た。

C. 研究結果

日本人ゴーシェ病においては1型が54%、2型が24%、3型が22%と神経型の比率が高かった。

日本人ゴーシェ病においてはL444P変異が36.5%、F213変異が17.2%であり、7つのcommon mutationの検討では同定できない例が39.1%存在した。

L444P変異、F213変異以外に日本人ゴーシェ病にcommonな遺伝子変異は存在しなかった。

遺伝子改変ヒト培養皮膚細胞より作成された酵素製剤により治療した日本人ゴーシェ病10例においては抗体産生は1例も認められなかった。

D. 考察

日本人ゴーシェ病においては諸外国に比較して神経型の比率が極めて高いことが明らかとなった（日本人46%vs ユダヤ人2%）。したがってゴーシェ病の診断には小児科医や神経内科医の役割が重要であると考えられた。

日本人の遺伝子変異分布は諸外国と異なることから、日本人ゴーシェ病の遺伝子診断には特有な方策が必要と考えられた。

E . 結論

日本人ゴーシェ病において臨床表現型や遺伝子変異分布が諸外国と異なっていたが、酵素製剤の相違による臨床効果の差異は存在しなかった。

F . 研究発表

1. 論文発表

Ida H, Tanaka A, Matsubayashi T, Murayama K, Hongo T, Hak-Myung Lee, Mellgard B.: A multicenter, open-label extension study of velaglucerase alfa in Japanese patients Gaucher disease: Results after a cumulative treatment period of 24 months. Blood Cells Mol and Dis.59:140-147, 2016

Pastores GM, Turkia HB, Gonzaleth DE, Ida H, T Antony AAG, Qin Y, Dirh Q, Zimran A.: Development of anti-velaglucerase alfa antibodies in clinical trial-treated patients with Gaucher disease. Blood Cells, Mol and Dis. 59:37-43, 2016

Grabowski GA, Zimran A and Ida H: Gaucher disease type 1 and 3. Phenotypic characterization of large populations from the ICGG Gaucher Registry. Am J Hematology 90: 12-18, 2015

井田博幸, 田中あゆみ, 松林朋子, McCauley T, Wang N, Crombez E. 日本人 Gaucher 病患者に対するベラグルセラゼアルファを用いた酵素補充療法の有効性と安全性に関する検討, 小児科診療. 2015 ; 78 : 131-138

2. 学会発表

なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得：なし

2. 実用新案登録：なし

3. その他：なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版年
ムコ多糖症(MPS)型診療ガイドライン作成委員会	ライソゾーム(ファブリ病含む)に関する調査研究班	ムコ多糖症(MPS)型診療ガイドライン2017	株式会社診断と治療社	2017年3月
副腎白質ジストロフィー(ALD)診療ガイドライン作成委員会	ライソゾーム(ファブリ病含む)に関する調査研究班	副腎白質ジストロフィー(ALD)診療ガイドライン2017	株式会社診断と治療社	2017年3月
ボンペ病診療ガイドライン作成委員会	ライソゾーム(ファブリ病含む)に関する調査研究班	ボンペ病診療ガイドライン2017	株式会社診断と治療社	2017年3月
酒井規夫		ライソゾーム病・ペルオキシソーム病診断の手引き	診断と治療社	2015年3月
酒井規夫	大園恵一, 金子一成編	これでOK小児救急ケーススタディ	診断と治療社	2015年3月
酒井規夫	井田博幸編	急性呼吸困難で救急外来受診氏診断されたゴーシェ病I型の1症例, ゴーシェ病症例集	Medical Tribune	2015年5月
酒井規夫	大野耕策編	肝脾腫の特徴, カタプレキシー, ニーマンピック病C型の診断と治療	医薬ジャーナル	2015年6月
酒井規夫	衛藤義勝編	組織障害の軽症な時期からERTを開始することの重要性を示唆する1症例, ファブリー病症例集	Medical Tribune	2015年12月

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kuranobu N, Murakami J, Okamoto K, Nishimura R, Murayama K, Takamura A, Umeda T, Eto Y, Kanzaki S.	Cholesterol ester storage disease with a novel LIPA mutation (L264P) that presented massive hepatomegaly: A case report.	Hepatol Res	2016 Mar; 46(5)	477-82	2016

Yokoi T, Yokoi K, Akiyama K, Higuchi T, Shimada Y, Kobayashi H, Sato T, Ohteki T, Ohtsu M, Nakauchi H, Ida H, Ohashi T.	Non-myeloablative preconditioning with ACK2 (anti-c-kit antibody) is efficient in bone marrow transplantation for murine models of mucopolysaccharidosis type II.	Mol Genet Metab	2016 Nov; 119(3)	232-238	2016
Pastores GM, Turkia HB, Gonzalez DE, Ida H, Tantony AA, G, Qin Y, Dirh Q, Zimran A.	Development of anti-velaglutamase alfa antibodies in clinical trial-treated patients with Gaucher disease.	Blood Cell Dis	Mol and Dis.59	37-43	2016
小林博司	ガングリオシド蓄積症～GM1・GM2ガングリオシドーシス	小児内科2016	vol.48増刊 小児疾患 診療のための 病態生理	p158-164	2016
小林博司	筋型糖原病～Pompe病を中心に	小児内科2016	vol.48 No.12 特集 小児の筋疾患	p1972-1977	2016
Sato Y, Kobayashi H, Higuchi T, Shimada Y, Era T, Kimura S, Eto Y, Ida H, Ohashi T.	Disease modeling and lentiviral gene transfer in patient-specific induced pluripotent stem cells from late-onset Pompe disease patient.	Mol Ther Methods Clin Dev.	2015 Jul 8	2	2015
Saito O, Kusano E, Akimoto T, Asano Y, Kitagawa T, Suzuki K, Ishige N, Akiba T, Saito A, Ishimura E, Hattori M, Hisada A, Guili C, Maruyama H, Kobayashi M, Ohashi T, Matsuda I, Eto Y.	Prevalence of Fabry disease in dialysis patients: Japan Fabry disease screening study (J-FAST).	Clin Exp Nephrol.	2016 Apr	20(2) 284-93	2016
Shimada Y, Wakabayashi T, Akiyama K, Hoshina H, Higuchi T, Kobayashi H, Eto Y, Ida H, Ohashi T.	A method for measuring disease-specific iduronic acid from the non-reducing end of glycosaminoglycan in mucopolysaccharidosis type II mice.	Mol Genet Metab.	2016 Feb;	140-3117(2)	2016
Wakabayashi T, Shimada Y, Akiyama K, Higuchi T, Fukuda T, Kobayashi H, Eto Y, Ida H, Ohashi T.	Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy Corrects Neuroprotective Phenotype in Murine Model of Mucopolysaccharidosis Type II.	Hum Gene Ther.	26(6)	357-66	2015

Hossain MA, Otomo T, Saito S, Ohno K, Sakuraba H, Hamada Y, Ozono K, <u>Sakai N.</u>	Late-onset Krabbe disease is predominant in Japan and its mutant precursor protein undergoes more effective processing than the infantile-onset form.	<i>Gene</i>	534(2)	144-54	2014
Hossain MA, Higaki K, Saito S, Ohno K, Sakuraba H, Nanba E, Suzuki Y, Ozono K, <u>Sakai N.</u>	Chaperone therapy for Krabbe disease: potential for late-onset GALC mutations.	2015 Sep <i>J Hum Genet</i>	60(9)	539-45	2015
Hossain MA, Higaki K, Shinpo M, Nanba E, Suzuki Y, Ozono K, <u>Sakai N.</u>	Chemical chaperone treatment for galactosialidosis: Effect of NOEV on β -galactosidase activities in fibroblasts.	<i>Brain Dev</i>	38(2)	175-80	2016
Shibazaki T, Hirabayashi K, Saito S, Shigemura T, Nakazawa Y, Sakashita K, Takagi M, Shiohara M, Adachi K, Nanba E, <u>Sakai N</u> , Koike K.	Clinical and laboratory outcomes after umbilical cord blood transplantation in a patient with mucopolipidosis II alpha/beta.,	<i>Am J Med Genet A</i>	170A(5)	1278-82	2016
Kato S, Yabe H, Takakura H, Mugiishi H, Ishige M, Tanaka A, Kato K, Yoshida N, Adachi S, <u>Sakai N</u> , Hashii Y, Ohashi T, Sasahara Y, Suzuki Y, Tabuchi K.	Hematopoietic stem cell transplantation for inborn errors of metabolism: A report from the Research Committee on Transplantation for Inborn Errors of Metabolism of the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare and the Working Group of the Japanese Society for Hematopoietic Cell Transplantation.	<i>Pediatr Transplant</i>	20(2)	203-14	2016
Mamada N, Nakamagoe K, Shioyama A, Furuta J, <u>Sakai N</u> , Ishii A, Tamakawa A.	Adult-onset Krabbe disease presenting as acute hemiparesis and progressive demyelination detected by diffusion-weighted imaging.	<i>J Neurol Sci</i>	367	326-8	2016
<u>Sakai N</u> , Otomo T.	Challenge of phenotype estimation for optimal treatment of Krabbe disease.		94(11)	1025-30	2016
Yoshimura A, Kibe T, Irahara K, <u>Sakai N</u> , Yokochi K.	Predominant Corticospinal Tract Involvement in a Late Infant with Krabbe Disease.	<i>Jpn Clin Med</i>	7	23-6	2016

Hughes DA, Nicholls K, Shankar S P, Sunder-Plassmann G, Koeller D, Nedd K, Vockley G, Hamazaki T, Lachmann R, Ohashi T, Olivetto I, <u>Sakai N</u> , Deegan P, Dimmock D, Eyskens F, Germain DP, Goker-Alpan O, Hachulla E, Jovanovic A, Lourenco CM, Narita I, Thomas M, Wilcox WR, Bichet DG, Schiffmann R, Ludington E, Viereck C, Kirk J, Yu J, Johnson F, Boudes P, Benjamin ER, Lockhart DJ, Barlow C, Skuban N, Castelli JP, Barth J, Feldt-Rasmussen U.	Oral pharmacological chaperone migalastat compared with enzyme replacement therapy in Fabry disease: 18-month results from the randomized phase III ATTRACT study.	J Med Genet	2016 Nov 10	pii: jmedgenet-2016-104178	2016
Kondo H, Maksimova N, Otomo T, Kato H, Imai A, Asano Y, Kobayashi K, Nojima S, Nakaya A, Hamada Y, Irahara K, Gurinova E, Sukhomyasova A, Nogovicina A, Savvina M, Yoshimori T, Ozono K, <u>Sakai N</u> .	Mutation in VPS33A affects metabolism of glycosaminoglycans: a new type of mucopolysaccharidosis with severe systemic symptoms.	Hum Mol Genet	2016 Dec 23	pii: ddw377	2016
Nishiumi F, Ogawa M, Nakura Y, Hamada Y, Nakayama M, Mitobe J, Hiraide A, <u>Sakai N</u> , Takeuchi M, Yoshimori T	Yanagihara I. Intracellular fate of Ureaplasma parvum entrapped by host cellular autophagy.	Microbiologyopen	2017 Jan 15		2017
酒井規夫	糖原病Ib, 免疫症候群 (第2版) III	別冊日本臨床新領域別症候群シリーズ	2016.3	p581-583	2016
酒井規夫	ファブリー病 小児科		57(3)	235-240	2016
酒井規夫	Krabbe病, 病態生理 3		Vol 48	p185-188	2016
Matsuoka T, Miwa Y, Tajika M, Sawada M, Fujimaki K, Soga T, Tomita H, Uemura S, Nishino I, Fukuda T, Sugie H, Kosuga M, Okuyama T, Umeda Y.	Divergent clinical outcomes of alpha-glucosidase enzyme replacement therapy in two siblings with infantile-onset Pompe disease treated in the symptomatic or pre-symptomatic state.	Mol Genet Metab Rep	(2016) 9	98-105	2016
Takano H, Ishihara T, Kosuga M, Okuyama T.	A Senile Case of Late-onset Pompe's Disease.	Intern Med	(2016) 55	2723-5	2016

Choy YS, Bhattacharya K, Balasubramaniam S, Fietz M, Fu A, Inwood A, Jin DK, Kim OH, Kosuga M, Kwun YH, Lin HY, Lin SP, Mendelsohn NJ, Okuyama T, Samion H, Tan A, Tanaka A, Thamkunanon V, Thong MK, Toh TH, Yang AD, McGill J.	Identifying the need for a multidisciplinary approach for early recognition of mucopolysaccharidosis VI (MPS VI).	Mol Genet Metab	(2015) 115	41-7	2015
Higuchi T, Kobayashi M , Ogata J, Kaneshiro E, Shimada Y, Kobayashi H, Eto Y, Maeda S, Ohtake A, Ida H, Ohashi T.	Identification of cryptic novel α -Galactosidase A gene mutations: abnormal mRNA splicing and large deletions.	JIMD Rep.	30	53-72	2016
Kono Y, Wakabayashi T, Kobayashi M , Ohashi T, Eto Y, Ida H, Higuchi Y.	Characteristics of cerebral microbleeds in patients with Fabry disease. J Stroke Cerebrovasc Dis.	2016	25	1320-1325	2016
Saito O, Kusano E, Akimoto T, Asano Y, Kitagawa T, Suzuki K, Ishige N, Akiba T, Saito A, Ishimura E, Hattori M, Hishida A, Guili C, Maruyama H, Kobayashi M , Ohashi T, Matsuda I, Eto Y.	Prevalence of Fabry disease in dialysis patients: Japan Fabry disease screening study (J-FAST).	Clin Exp Nephrol.	20	284-293	2016
Matsukawa T, Koshi KM, Mitsui J, et al.	Slowly progressive d-bifunctional protein deficiency with survival to adulthood diagnosed by whole-exome sequencing.	J Neurol Sci	2017. 372	6-10	2017
Konno Y, Takahashi I, Narita A, Takada O, Koizumi H, Tamura M, Kikuchi W, Komatsu A, Tamura H, Tsuchida S, Noguchi A, <u>Takahashi T</u> .	Elevation of Serum Acid Sphingomyelinase Activity in Acute Kawasaki Disease.	Tohoku J Exp Med	237	133-40	2015

付1 研究組織

平成28年度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）に関する調査研究組織

氏名	所属	職名	分担研究課題
研究代表者 衛藤 義勝	東京慈恵会医科大学	名誉教授	総括・診断 治療のガイドラインの調査研究
酒井 規夫	大阪大学大学院医学系 研究科 小児科学講座	教授	臨床疫学的研究
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	臨床疫学的研究
高柳 正樹	帝京平成大学小児科学	教授	臨床疫学的研究、患者のQOLに関する調査
辻 省次	東京大学医学部附属病院 神経内科学	教授	ALDの診断ガイドラインに関する調査研究
難波 栄二	鳥取大学 生命機能研究支援センター	教授	新しい治療法の開発（ケミカル シャペロン法）調査研究
鈴木 康之	岐阜大学 医学教育開発研究センター	教授	ライソゾーム病、ペルオキシソーム病のADL, QOLに関する研究
櫻庭 均	明治薬科大学	教授	リソゾーム病の診断や病態把握 および治療の評価に役立つバイオマーカー調査研究
奥山 虎之	国立成育医療センター 臨床検査部	部長	ライソゾーム病の新生児スクリーニングの研究
坪井 一哉	名古屋セントラル病院 血液内科	センター長	ライソゾーム病のADL, QOLに関する研究
松田 純子	川崎医科大学病態代謝学	教授	新しい治療法の開発（骨髄移植）
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	ペルオキシソーム病&ALDの早期診断、病態解明、治療法の調査研究

今中雄	常	富山大学大学院医学薬学研究部 分子細胞生物学	教授	ペルオキシソーム病 & ALD の分子病態解析と脂質代謝改善薬の探索
小林司	博	東京慈恵会医科大学 遺伝子治療研究部	准教授	新しい治療法の調査（遺伝子治療）
加我子	牧	東京都立東部療育センター	院長	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
横山明	和	帝京大学薬学部	教授	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調査
渡邊子	順	久留米大学医学部小児科学	准教授	バイオマーカーの開発
石垣子	景	東京女子医科大学小児科学	講師	ポンペ病の神経障害の評価
成田綾		鳥取大学医学部脳神経小児科	助教	ライソゾーム病の診断、治療のガイドライン調査研究
井田幸	博	東京慈恵会医科大学 遺伝子治療研究部/小児科	教授	ライソゾーム病の基質合成抑制療法 & 新しい酵素補充療法
大橋也	十	東京慈恵会医科大学 遺伝子治療研究部/小児科	教授	MLD, ALD 等のライソゾーム病遺伝子治療調査研究
小林久	正	東京慈恵会医科大学 小児科	講師	ライソゾーム病の診断と治療のガイドライン作成

ライソゾーム病（ファブリー病含む）に関する調査研究組織

氏名	所属	職名	分担研究課題
大橋也	東京慈恵会医科大学 遺伝子治療研究部/小児科	教授	MLD, ALD 等のライソゾーム病遺伝子治療調査研究
小林久	東京慈恵会医科大学 小児科	講師	ライソゾーム病の診断と治療のガイドライン作成
福田冬季子	浜松医科大学 小児科	准教授	Pompe 病の調査研究

中村 公 俊	熊本大学大学院生命科学研究部小児科学分野	准教授	新しい診断法の調査（マススクリーニング法）研究
濱崎 考 史	大阪市立大学医学部小児科	講師	先天代謝異常症における造血幹細胞移植の後方視的調査研究と標準的移植法確立に関する研究
柳澤比呂 子	脳神経疾患研究所 先端医療研究センター & 遺伝病研究所	研究員	ライソゾーム病、ムコ多糖症の病態解析と治療に関する調査研究

付2 第7回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラムプログラム

第7回国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム

The 7th International Collaboration Forum of Human Gene Therapy for Genetic Disease

Date ● Jan. 19 (Thu.), 2017
 Venue ● The JIKEI University School of Medicine, Tokyo (Daigaku Ichigo-kan, Auditorium, 3rd Floor)
 Registration fee: 3,000 JPY

10:00-10:20 ■開催挨拶
 衛藤義勝 (実行委員長 / 脳神経疾患研究所)
 菱山 豊 (日本医療研究開発機構)
 平岩 勝 (厚生労働省健康局難病対策課長)

10:20-10:40 ■大会長講演
 Gene Therapy in Japan
 小野寺 雅史 (国立成育医療研究センター)

10:40-11:30 ■日本の遺伝子治療
 Continuous improvement of motor and cognitive functions after gene therapy for AADC deficiency
 小島華林 (自治医科大学)
 WAS 遺伝子治療
 内山 徹 (国立成育医療研究センター)

11:30-12:10 ■招待講演 I
 Modifier Genes: Moving from Pathogenesis to Therapy
 Edward RB McCabe (March of Dimes, US)

12:10-13:00 ■教育講演
 Current research tools and manufacturing technology for gene therapy
 塚野英人 (TAKARA BIO INC.)

13:00-15:00 ■海外の遺伝子治療
 Gene replacement therapy for myotubular myopathy
 Ana Buj Bello (GENETHON, Fr)
 Gene Therapy: A UK Perspective
 Terri Gaskell (Catapult, UK)
 Ex-vivo lentiviral mediated gene therapy for the treatment of paediatric neurometabolic disorders
 Jesus Segovia (Orchard Therapeutics, UK)
 Update on Recent Regulatory Developments
 Alison Armstrong (BioReliance, UK)

15:00-15:20 Coffee Brake

15:20-17:00 ■企業関連講演
 Efficient manufacturing: Our experience, knowledge and technologies.
 仲 義宏 (TERUMO CORPORATION)
 前立腺癌に対する遺伝子治療
 那須保友 (岡山大学)
 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の遺伝子治療
 村松慎一 (自治医科大学)
 安全性の高い純国産遺伝子治療用ベクターの開発
 中西真人 (産業技術総合研究所)

17:00-17:40 ■招待講演 II
 Gene therapy in severe immunodeficiency
 Adrian Thrasher (UCL, UK)

17:40-18:40 ■特別講演
 Gene Therapy of Primary Immunodeficiencies. 17 years of experience
 Alain Fischer (Hospital Necker, Fr)

18:40-18:50 ■閉会の辞
 金田安史 (日本遺伝子細胞治療学会理事長 / 大阪大学)
 奥山虎之 (第8回当番幹事 / 国立成育医療研究センター)

主催：国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム実行委員会
 共催：NPO 法人日本ライソソーム病研究センター
 後援：厚生労働科学研究費「難治性疾患克服研究事業」(研究代表者：衛藤義勝)
 日本医療研究開発機構 (AMED) 委託費「難治性疾患実用化研究事業」「医薬品等規制調和・評価研究事業」(研究開発代表者：小野寺雅史)
 日本医療研究開発機構 (AMED) 委託費「早期探索的・国際水準臨床研究事業」(研究開発代表者：奥山虎之)

ALD遺伝子治療推進研究プロジェクト

厚生労働省難治性疾患克服事業“ライソゾーム病
ALD&ベルオキシゾーム病”調査研究班支援事業

ALD遺伝子治療の日本人治験参加者募集について



米ブルーバードバイオ社が開発を行っているALD遺伝子治療薬Lenti-Dの日本人治験参加者を1~2名募集致します。現在17名が治験に参加しており良好な中間結果が報告されています。下記の条件を満たす患者様がおられましたらご協力をお願い致します。

試験対象患者基準

- ✓ 極長鎖脂肪酸の上昇
- ✓ MRIによる中枢神経系異常（ガドリニウム増強、Loes Score 0.5-9.0）*別表①参照
- ✓ Neurological Function Score ≤ 1 *別表②参照
- ✓ 17歳以下の男児
- ✓ インフォームドコンセント

除外基準

- ✓ 同種移植または遺伝子治療の既往あり
- ✓ HLA一致同胞ドナーの可能性あり
- ✓ 極長鎖脂肪酸低下のための、スタチン、ロレンツォオイル、食事療法（対象者は使用を中止しなければならない）
- ✓ 60日前に3ヶ月以内の試験結果に影響する可能性がある試験薬または処置を受けている
- ✓ MRI実施を妨げる条件（麻酔へのアレルギー、造影剤を含む）
- ✓ 末梢血好中球 < 1500cells/mm³ 或 血小板数 < 100,000cells/mm³ 或 ヘモグロビン < 10g/dL 或 出血性疾患
- ✓ AST > 2.5x正常上限 或 ALT > 2.5x正常上限 或 総ビリルビン > 3.0mg/dL ジルベール症候群除く
- ✓ 腎機能異常（クレアチニン・クリアランス < 50mL/min）
- ✓ 左心室駆出率 < 40%
- ✓ 家族性癌症候群の可能性
- ✓ 細菌、ウイルス、真菌、寄生虫感染
- ✓ HIV1、HIV2、B型肝炎、C型肝炎、ヒトT細胞リンパ向性ウイルス1
- ✓ 処置に禁忌を示す、心疾患、肺疾患、その他疾患

【ALD遺伝子治療推進会議】

委員メンバー

- 奥山 虎之 (国立成育医療研究センター)
- 下澤 伸行 (岐阜大学)
- 大橋 十世 (東京慈恵会医科大学)
- 加我 牧子 (都立東部療育センター)
- 衛藤 義勝 (財団法人脳神経疾患研究所)

お問い合わせ

事務局 柏崎 雅代
財団法人脳神経疾患研究所
TEL: 044-322-0654 (電子音後3229)
FAX: 044-966-0133
Mail: m.kashiwazaki@jikei.ac.jp

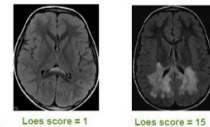
別表① Loes Score

Parietal, occipital white matter (頭頂部、後頭部の白質)	Periventricular (脳質周囲)	1
	Central (中心部)	1
	Subcortical (皮質下)	1
Anterior temporal white matter (前側頭葉の白質)	Periventricular (脳質周囲)	1
	Central (中心部)	1
	Subcortical (皮質下)	1
Frontal white matter (前頭葉の白質)	Periventricular (脳質周囲)	1
	Central (中心部)	1
	Subcortical (皮質下)	1
Corpus callosum (脳梁)	Periventricular (脳質周囲)	1
	Central (中心部)	1
	Subcortical (皮質下)	1
Visual pathway (視覚路)	Optic tract (視索)	1
	Optic radiation (視放射)	1
	Meyer's loop (マイヤー係路)	1
Auditory pathway (聴覚路)	Lateral geniculate body (外側膝状体)	1
	Optic tract (視索)	1
	Medial geniculate body (内側膝状体)	1
Pyramidal system (錐体路)	Brain stem (脳幹)	1
	Internal capsules (内包)	1
	Pyramidal system (錐体路)	1
Cerebellum (小脳)	Cerebellum (小脳)	1
	Atrophy (萎縮)	1
	Basal ganglia (基底核)	1
Anterior thalamus (視床前部)	Anterior thalamus (視床前部)	1
	Branch to inferior colliculus (下丘隆)	1
	Lateral geniculate body (外側膝状体)	1
Global atrophy (広範囲の萎縮)	Moderate global (中等度広範囲)	1
	Severe global (重度広範囲)	1
	Brain stem (脳幹)	1
Severity score (重症度スコア)		34

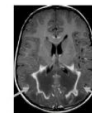
各部位について、原則、所見の有無で、1点加算する。例外は
1. Global atrophyについては1~3点のいずれか
2. 片側性であった場合は0.5点
3. Questionableであり、かつ他の異常が無い場合0.5点の加算とする

「造血細胞移植学会ガイドライン第2巻 [8]先天代謝異常症 (2014年3月)」から引用 (改変)
http://www.jhct.com/guideline/pdf/13n_imd.pdf#search=Loes%20score%20Corpus%20Atrophy%20G

Loes MRI severity score¹⁾: measurement of white matter changes by degree and extent of pathological hyperintense regions (0-34)



Gadolinium enhancement: indicator of active inflammation in untreated patients (+/-)



別表② Neurological Function Score(NFS)

NFS Component	Score	NFS Component	Score
Hearing/auditory processing problems	1	Walking difficulties/spasticity	1
Aphasia/apraxia	1	Spastic gait (needs assistance)	2
Loss of communication	3	Wheelchair dependence	2
Vision impairment	1	No voluntary movement	3
Cortical blindness	2	Episodes of incontinence	1
Swallowing dysfunctions	2	Total incontinence	2
Tube feeding	2	Non-febrile seizures	1
Running difficulties	1	Possible Total	25

* Major Functional Disability(MFDs): 上記の主要症状6項目

【試験方法】

単群のオープンラベル試験 (ALD-102, 第2/3相試験)

本試験では、ALD患者に対しLenti-D (レンチウイルスベクター) を用いて ex vivoにて、ALD患者で欠損しているヒトABCD1蛋白の遺伝子を導入した自家CD34+造血幹細胞の有効性と安全性を評価します。

まず、被験者の造血幹細胞をアフレーションにより採取し、培養します。この培養した幹細胞に、Lenti-Dを用いてヒトABCD1のcDNAを導入します。その間、被験者はアズルファンとシクロホスファミドによる骨髄破壊的前処置を受けます。骨髄破壊的前処置の後、被験者に対してLenti-Dで修飾された自家幹細胞を静脈内に単回投与します。

【主要エンドポイント】

Lenti-D投与後24ヶ月時点でのMajor Functional Disability (MFDs) のない患者の割合

ALD 遺伝子治療に於ける試験スケジュールの概要

