

遺伝性，代謝性心疾患の分子生物学的研究

研究者および所属機関

松尾 宣武	慶應義塾大学医学部 小児科教授	ターナー症候群
松田 一郎	熊本大学医学部 小児科教授	McCune-Albright 症候群
成沢 邦明	東北大学医学部 病態代謝学講座教授	カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症
衛藤 義勝	慈恵会医科大学 小児科教授	先天性複合糖質代謝異常症ミトコンドリア脳筋症

《研究の概要》

本研究においては、小児期に発症する遺伝性、代謝性心疾患から、ターナー症候群、McCune-Albright 症候群、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症、先天性複合糖質代謝異常症、ミトコンドリア脳筋症をとりあげ、その分子生物学的解析を行なった。

ターナー症候群では、心大血管奇形を含む特徴的な奇形が、リンパ管低形性によってひきおこされたものであること、その責任遺伝子が X 染色体短腕の p11.4 領域と Y 染色体短腕の ZFY-DYS255 領域に限局されること、この責任遺伝子の変異に合致する症例が存在すること、が示された。近い将来その遺伝子のクローニングが期待される。

McCune-Albright 症候群では、ヒト ESP1/CRP2 遺伝子の cDNA1 記列が決定され、それが新造において強く発現していることが示された。現在、この遺伝子の機能解明が進行中である。

カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症では、心疾患を伴う複数の症例において、責任遺伝子の変異が同定された。また、同遺伝子の polymorphism も見いだされた。これによって、本疾患を遺伝子レベルから診断しえるようになった。

先天性複合糖質代謝異常症とミトコンドリア脳筋症では、ゴーシェ病の遺伝子解析、ムコ多糖症の遺伝子治療、ファブリー病の心筋障害の機序が大きく発展した。今後、この領域の包括的診断および治療法の確立が視野に入ってきた。

以上、本研究においては、現在不明とされる心大血管障害の発症機序の一端を明らかにしえた。今後、遺伝子レベルにおける益々の進展が期待される。

分担研究課題名：ターナー症候群

所属機関：慶應義塾大学医学部小児科

研究者名：松尾宣武

研究協力者：緒方勤

I. 研究目的

ターナー症候群は、性染色体異常症の代表であり、低身長、性腺異形成などの症状の他に、大動脈縮窄を主とする心大血管奇形を含むさまざまな奇形徴候を有する疾患である。しかし、この臨床的特徴は広く知られているが、その発症機序は不明である。

本研究の目的は、心大血管奇形を含むターナー徴候の発症機序を明らかとし、その責任遺伝子のクローニングを進展させることである。これにより、ターナー徴候の成因が明確となり、より正確な遺伝相談や治療法の確立が可能になると期待される。

II. 研究計画および材料と方法

1. ターナー徴候の成因

以下の3つを行なった。第一に、文献に報告された非モザイクの性染色体異常症患者計455例において、核型-表現型解析を行なった。また、ターナー徴候の原因となりうる奇形について検索した。第二は、数例の患者において、リンパ管シンチを行ない、リンパ管低形成の有無とターナー徴候の関連を検討した。第三に、正常核型と大動脈縮窄を有する患者99例において、ターナー症候群に特徴的な外表奇形の有無を検討し、目的とする遺伝子変異に合致する症状を呈する患者の有無を検討した。

2. 責任遺伝子の限局化

X染色体の部分欠失を有する15例およびY染色体の部分欠失を有する31例を国内外から集積し、ターナー徴候の観点から、核型-表現型解析および遺伝子型-表現型解析を行った。染色体解析では、高精度分染法、FISH法、R-banding法（複製パターンの検討）を行なった。遺伝子型解析では、サザンブロット解析およびPCR解析を用いて、Ypの23個の座位を検討した（Xpの座位は現在解析中）。

III. 研究成果

1. ターナー徴候の成因

今回の解析結果から、心大血管奇形を含む特徴的なターナー症候群の奇形は、リンパ管低形性によってひきおこされた変形として最もよく説明されることが判明した。すなわち、ターナー症候群ではリンパ管低形成が存在し、文献に報告された455症例の奇形徴候がリンパ管低形成による変形と見做しうるということが明らかとなった。さらに、リンパ管シンチにおけるリンパ管低形成の有無とターナー徴候の有無が一致し、目的とする遺伝子変異に合致する患者が2例見いだされた。

2. 責任遺伝子の限局化

Xpのp11.4領域およびYpのZFY-DYS255領域の欠失が特徴的なターナー徴候を生じてい

た。一方、同領域を保持する性染色体異常症は、ターナー徴候を伴っていなかった。

IV. 考察

今回の研究から、心大血管奇形を含むターナー徴候の成因とその責任遺伝子の局在が明確になった。ターナー徴候の成因については、一見複雑なターナー徴候がリンパ管形成遺伝子を責任遺伝子とする単一遺伝子疾患と見做しうることが明らかとなった。したがって、ターナー徴候はリンパ管低形性を発症因子とする malformation sequence であると考えられる。責任遺伝子については、ターナー徴候遺伝子と見做されるリンパ管形成遺伝子が、Xp11.4 領域と Yp の ZFY-DYS255 領域に存在する相同遺伝子であることが示された。Xp11.4 領域は、X の不活化を受けない遺伝子が集積している部位であり、これは、リンパ管形成遺伝子が X の不活化を受けないことに一致する。Yp の局在は、遺伝子のポジショナルクロニングの第一歩となるもので、今後の展開が期待される。

以上、本研究において、ターナー徴候の成因とその責任遺伝子の局在に関する世界で初めての成果をあげることができた。今後、責任遺伝子が同定され、心大血管奇形の発症機序が明確となり、遺伝相談や治療の進歩に結びつくようになると思われる。

V. 研究成果の発表

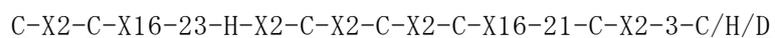
1. Ogata T, Matsuo N. Turner syndrome and female sex chromosome aberrations: deduction of the principal factors involved in the development of clinical features. *Human Genetics* 95, 607-629, 1995
2. Hasegawa T, Ogata T, Hasegawa Y, Honda M, Nagai T, Fukushima Y, Matsuo N. Coarctation of the aorta and renal hypoplasia in a boy with Turner/Noonan surface anomalies and a 46, XY karyotype: a clinical model for the possible impairment of a putative lymphogenic gene(s) for Turner somatic stigmata. *Human Genetics* 97, 564-567, 1996
3. Ogata T, Hasegawa T, Matsuo N. Further clinical model for the possible impairment of a putative lymphogenic gene(s) for Turner stigmata. *Human Genetics* (in press).

I 研究目的

本研究は、LIM ドメインをもち、各種臓器の中で心臓に最も強く発現する ESP1/CRP2 と呼ばれる蛋白質をコードする cDNA をクローニングし、その塩基配列および遺伝子座位を決定して心臓病の基礎研究に役立てることを目的とする。

II 研究計画及び材料と方法

1. LIM ドメインは、一部の転写因子・細胞骨格のコンポーネント・プロトオンコジーンなどの蛋白質に存在する特異な構造で、システインとヒスチジンが特有な配置を取り、亜鉛を結合している。その構造は次のようになる。



(下線の C-ミノステインと H-ヒスチジンが、LIM ドメインの中心となるアミノ酸である。X はその他のアミノ酸で、数字はその数を示す。)

2. 我々は、LIM ドメインを 1 個有することが知られているラットの LIM ドメイン蛋白質、Cystein-rich intestinal protein (CRIP) の cDNA を、プローブにしてヒトの cDNA ライブラリーをスクリーニングし、これまで報告されていない ESP1/CRP2 と呼ばれる LIM ドメイン蛋白質遺伝子を単離した。次に、得られた cDNA をプローブとして、ノーザンブロット解析を行いヒト組織でのこの遺伝子産物の発現の分布を調べた。さらにその染色体上の遺伝子座位を決定した。

III 研究成果

1. ヒト ESP1/CRP2 遺伝子の cDNA の塩基配列を決定した。ESP1/CRP2 蛋白質は、208 個のアミノ酸からなり、LIM ドメインを 2 個有し、CRIP とは異なる蛋白質であることが明らかになった。各々の LIM ドメインは、ラットの CRIP と、アミノ酸レベルで、それぞれ、77%と 79%のホモロジーが認められた。また、LIM ドメインを 2 個有するヒト CRP (cysteine-rich protein) とは 35.1%のホモロジーを示した。本研究を遂行中に、我々とは独立に、ラットの CRP2 についての報告がなされた。ヒト ESP1/CRP2 とラット CRP2 を比較すると、アミノ酸レベルで 93%のホモロジーが認められ相同な蛋白質であると考えられた。

2. ESP1/CRP2 の組織分布をノーザンブロット法を用いて調べたところ、心臓に最も強く発現していた。肺、胎盤、腎臓、その他の臓器にも発現が認められた。このうち精巣には、サイズの大きい転写産物が発現しており、臓器特異的な転写機構の存在が示唆された。ESP1/CRP2 の組織発現のパターンは、これまでラットもしくはマウスで報告されている CRP や CRIP のパターンとは明らかに異なっていた。このことから、LIM ドメインを有する蛋白質の中で、ESP1/CRP2 が心臓に於て何らかの重要な機能を担っている可能性が考えられる。

3. また ESP1/CRP2 の mRNA の 3' 非翻訳領域には、転写産物の安定性に関連することが報告されている ATITA の配列が認められ、この蛋白質の細胞内での代謝回転が早いことが示唆された。

4. さらにその染色体上の遺伝子座位は 14q32.3 に位置することが判明した。この領域は免疫グロブリン重鎖をコードする遺伝子座があり、また、悪性リンパ腫を含む種々の腫瘍において、しばしば染色体の転座が観察される領域としても知られている。

IV 考察

我々は、ESP1/CRP2 と呼ばれる LIM ドメインをもつ蛋白質 (LIM ドメイン蛋白質) をコードするヒトの cDNA をクローニングし、心臓に最も強く発現することを明らかにした。現在のところ、ESP1/CRP2 の機能は明らかでない。これまでの報告によると、その他の LIM ドメイン蛋白質は、組織の発生・分化・増殖に関与することが示唆されている。また LIM ドメインの機能は、蛋白質-蛋白質間の相互反応、または、蛋白質-核酸間の相互反応に重要な役割を果たすと考えられている。ESP1/CRP2 は、LIM ドメインの機能を介して、心臓において重要な機能を果たしていると推定され、ヒトの心臓疾患における病態にも関与している可能性がある。最近、QT 延長症候群や肥大型心筋症などの遺伝性心疾患の原因について、分子遺伝学的研究が報告されつつある。本研究で得られた結果は、将来的には、今だ原因不明の遺伝性心疾患の解析の糸口となる可能性がある。

今後の計画として、この蛋白質の一部 (ペプチド) を合成して、これに対する抗体を作成したので、組織染色法で各種臓器での正常と病的状態での差異を調べたり、ヒトでのこの蛋白と発癌との関連を検討したい。つぎに、ヒトの遺伝子の構造を解析し、組織特異的な発現や異なるサイズの転写産物生じるメカニズムについても明らかにしたい。さらに、この遺伝子を発現するトランスジェニックマウスやノックアウトマウス等を作成し、心臓を含む種々の臓器に対する作用も検討していきたい。

V 研究成果の発表

1. Mohammad Azharul Karim, Kohji Ohta, Masayuki Egashira, Yoshihiro Jinno, Norio Niikawa, Ichiro Matsuda, and Yasuhiro Indo. Human ESP1/CRP2, a member of the LIM domain protein family: characterization of the cDNA and assignment of the gene locus to chromosome 14q32.3 *Genomics* 31: 167-176, 1996.
2. 犬童康弘、松田一郎、McCune-Albright 症候群、ホルモンと臨床 Vol 42: 781-787, 1994.
3. Y. Indo and I. Matsuda. Molecular defects of the branched-chain α -keto acid dehydrogenase complex: Maple syrup urine disease due to mutations of the E1 α or E1 β subunit gene. *Alpha-keto acid dehydrogenase complexes*. 227-247. M. S. Patel, T. E. Roche and R. A. Harris (eds) Birkhauser Verlag Basel/Switzerland, 1996.
4. Yasuhiro Indo, Motoko Tsuruta, Yumi Hayashida, Mohammad Azharul Karim, Kohji Ohta, Tomoyasu Kawano, Hiroshi Mitsubuchi, Hidefumi Tonoki, Yutaka Awaya and Ichiro Matsuda. Mutations in the TRKA/NGF receptor gene in patients with congenital insensitivity to pain with anhidrosis. *Nature Genetics* 13: 485-488, 1996.

分担研究者：成澤邦明

(東北大学医学部病態代謝学講座)

研究協力者：松原洋一、綿谷かおる、赤沼 順

I. 研究目的

長鎖脂肪酸は、心筋において重要なエネルギー源であり、そのミトコンドリア内への輸送にはカルニチン転送系が必要である。このカルニチン転送系において重要な役割を果たす酵素として、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ II (CPT II) が知られている。CPT II 欠損症は常染色体劣性遺伝形式を示す疾患で、臨床的には、長時間の運動後などに筋痛・ミオグロビン尿症などの筋症状で発症する筋型と、感染や飢餓時にライ様症候で発症して心筋障害を伴う肝・心型の 2 つの型に分類される。後者の重症型では、致死的な心筋障害をひきおこすケースも報告されている。これまで、長鎖脂肪酸代謝やカルニチンと心筋障害発症機構との関連について、分子生物学的な検索を行った研究はほとんど知られていない。本研究の目的は、CPT II 欠損症の病態を分子レベルで明らかにすることによって、臨床病型と遺伝子変異の関連を検討するとともに、CPT II 欠損症の発症予防・早期診断・早期治療のために遺伝子診断法を確立することである。

II. 研究計画および材料と方法

研究対象としては、互いに血縁関係のない日本人 CPT II 欠損症患者 3 名を用いた。症例 1 は長時間の立ち作業後に筋症状で発症した 17 才女性で、症例 2 と 3 はいずれも感染症罹患時にライ様症候で発症した肝・心型の乳幼児例である。症例の 1 および 2 では、いずれも第 1 子がライ様症候で乳幼児期に死亡しており、同じく CPT II 欠損症に罹患していた可能性が高いものと推測された。

まず、各症例のリンパ芽球細胞株を樹立し、CPT II 活性を測定した。つぎに細胞株からゲノム DNA および mRNA を抽出した。mRNA から RT/PCR によって CPT II cDNA を増幅した後、ddT ベクターにサブクローニングして、蛍光オートシーケンサーで塩基配列を決定した。また、ゲノム DNA を鋳型として CPT II の各エキソンを増幅し、ゲノム DNA の塩基配列の決定をあわせておこなった。

同定された塩基置換が病因であるかどうかを検討するために、塩基置換を導入した cDNA をサイトメガロウイルスのプロモーターを有する発現ベクターに組み込み、COS 細胞に導入して CPT II 活性を測定する発現実験をおこなった。

遺伝子変異およびポリモルフィズムの簡便な遺伝子診断を行う目的で、ミスマッチプライマーを用いた PCR-制限酵素消化法を考案し、これを用いて家族内遺伝子変異伝播の検索と正常日本人 50 人におけるポリモルフィズムのスクリーニングを行った。

III. 研究成果

培養リンパ芽球を用いて測定した各々の症例の CPT II 活性は正常対象の 2-6% で、CPT II 欠損症であることが確認された。なお同時に測定した CPT I 活性は正常を示した。

核酸シーケンスの結果、筋型である症例 1 では 1036 番目の塩基 g が a に置換していた。これは 174 番目のアミノ酸がグルタミン酸からリジンに置換する変異 E174K で、症例 1 はこの変異のホモ接合子であった。また肝・心型である症例 2 では 1664 番目の塩基 t が a に置換していた。これは 383 番目のアミノ酸がフェニルアラニンからチロシンに置換する変異 F383Y で、症例 2 はこの変異のホモ接合子であった。同じく乳幼児型を呈した症例 3 は、前述の E174K と F383Y 変異をそれぞれのアレルに持つ複合ヘテロ接合子であることが判明した。

ゲノム DNA を用いた症例 2 の家族検索では、両親が F383Y 変異の保因者であることが、また症例 3 では父が F383Y の、また母が E174K 変異の保因者であることが判明した。

次に、発現実験によって、これらの変異が病因であるかどうかを検討した。各々の変異をもつ CPT II cDNA を発現ベクターに組み込み、COS 細胞に導入して CPT II 活性を測定した結果、F383Y 変異は残存 CPT II 活性を 4.3% に低下させ、また E174K 変異は活性を 10.8% に低下させたことから、いずれも病因変異であると考えられた。症例 3 に相当する E174K と F383Y の 2 種類のプラスミドを導入した系では、残存活性は 10-11% を示した。

以上の病因変異の他に、遺伝子変異の解析中に点変異によりアミノ酸置換を伴う F352C が同定された。この変異は 352 番目のフェニルアラニンをシステインに変化させたが、発現実験では酵素活性を低下させず、遺伝子多型と考えられた。これまでに、CPT II 遺伝子には 2 つの遺伝子多型 V368I と M647V が同定されている。今回同定された F352C とこれら 2 つの多型を組み合わせ、健常日本人 50 人 100 アレルのハプロタイプを決定したところ、日本人は 5 つのハプロタイプに分類された。

IV. 考察

日本人 CPT II 欠損症 3 例の遺伝子解析を行い、筋型に E174K 変異を、肝型に F383Y 変異を同定した。E174K 変異と F383Y 変異の複合ヘテロ接合体である症例 3 は、肝型の臨床像を呈していた。発現実験の結果からは、残存活性の低い遺伝子型 (F383Y) ではより重篤な臨床病型 (肝・心型) をとることが示された。しかしながら、複合ヘテロ接合体の症例 3 が肝・心型を示し、また、筋型の症例 1 に、肝・心型と考えられる同胞が存在したことから、病型を規定する残存酵素活性の閾値は狭く、環境要因や性差によって臨床症状が修飾されている可能性が示唆された。

今回同定された F352C は、健常日本人 50 人 100 アレル中 21 アレルに存在する頻度の高い遺伝子多型であることが判明した。一方、この F352C は欧米人では観察されず、日本人に特有のポリモルフィズムと考えられた。

ハプロタイプ分類では、いずれの家系においても、E174K 変異はタイプ 1 のアレルに、また F383Y 変異はタイプ 7 のアレルに存在していた。このことから、2 つの病因変異は同一の起源をもつ可能性が示唆された。異なる家系に同一の変異が見いだされたことを併せて考えると、日本人 CPT II 欠損症における遺伝子変異は、比較的数少ない変異によって生じている可能性が推測された。本研究で考案した簡易遺伝子診断法は、今後、CPT II 欠損症の遺伝子診断に有用と考えられる。

分担研究課題名： 小児の遺伝性心筋症並びに虚血性心疾患の分子生物学的研究

所属機関 東京慈恵会医科大学小児科

分担研究者名 衛藤義勝

研究概要

小児の遺伝性心筋症並びに虚血性心疾患の分子生物学的研究に関して特に遺伝性脂質、ムコ多糖代謝異常症の心筋障害を遺伝子解析し、心弁膜、心筋を障害する遺伝子異常をゴーシェ病で見い出した。その変異は D409H と同定した。また multiple sulfatase deficiency では ceramide lactoside sulfate, ceramide lactose などの蓄積を患者心筋での蓄積を見い出した。ムコ多糖の代謝異常症の動物モデルとして Sly 病マウスを用いてアデノウイルスベクターを用いて遺伝子治療を行い、患者肝、脾臓などでのムコ多糖の蓄積を補正し、かつ正常化した。その有効期間は約 1 カ月であった。Fabry 病患者保因者でも心筋障害をおこすことを明らかにした。

研究目的：

小児期或は成人期での虚血性心疾患、心筋症は遺伝的素因に起因することが多い。成人期のこれら疾患の遺伝的背景を解明する為に以下の遺伝的因子に関する研究を行った。本研究では特にゴーシェ病、マルチプルスルファターゼ欠損症、ムコ多糖症、Fabry 病等の先天性脂質並びにムコ多糖代謝異常症での脂質分析並びに分子遺伝学的解析を行い病態との関連を検討し、成人期での心筋症、虚血性心疾患の病因に関して検討した。

研究計画、および方法：

- 1) 遺伝子解析：患者白血球、培養皮膚線維芽細胞より DNA をフェノール抽出し、患者 DNA 抽出し、常法に従い、SSCP、ASO により DNA 異常を解析すると共に異常患者では PCR 法は、PCR Prep を用いて増幅し、DNA シークエンスキットで塩基配列をシークエンスした。
- 2) 脂質の分析：常法に従い患者組織、尿より脂質を抽出し、薄層クロマトにより脂質を解析した。
- 3) 遺伝子治療に関する研究：SLY 病マウス、あるいは患者皮膚線維芽細胞への遺伝子導入は MFG ベクターあるいはアデノウイルスベクターを用いて human beta-glucuronidase cDNA を組み込みこれを患者細胞にトランスフェクションした。

研究成果

- ①日本人ゴーシェ病での遺伝子解析：日本人ゴーシェ病 50 例の遺伝子解析を行い約 40% に 1448C グルコセレブロシダーゼ遺伝子の変異が又 1213G 変異が約 10% にみられている。又 D409H 変異は心筋障害、心弁膜の石灰化、水頭症、水晶体混濁がみられており、心障害をゴーシェ病で主徴とする遺伝子変異であることを明らかにした。この変異は日本人では成人型又は若年型の臨床症状を呈しており、アラブ人でも同様な変異と共通する臨床症状を有していた。
- ②マルチプルスルファターゼ欠損症の心筋障害：28 才まで生存した MSD 患者の心筋脂質を

分析したところ Ceramide lactosulfate、Ceramide lactose の著明な蓄積がみられた。又デルマトン硫酸、ヘパラン硫酸の蓄積も見いだされた。

③ムコ多糖症での遺伝子治療に関する基礎的研究

先天性ムコ多糖症では心筋、心弁膜に種々のムコ多糖が蓄積することにより心不全、心肥大症状を呈する。又心不全による突然死もムコ多糖症の死因として大きな病因となっており、心肥大、心弁膜症の治療法の開発が重要である。本研究では先天性ムコ多糖症の動物モデルである Sly 病マウスを用いてレトロウイルスベクター或はアデノウイルスベクターにヒト β -グルクロニダーゼ cDNA をマウス骨髄幹細胞或は直接 in vivo にベクターを注入することによりマウス肝、脾、心筋組織での β -グルクロニダーゼ遺伝子の発現、それに伴う酵素活性の上昇、組織学的改善度に関して検討し、ムコ多糖症での心筋障害を含めた治療法の開発を検討した。ムコ多糖症の動物モデルである Sly 病マウスを用いてマウスにヒトの β -グルクロニダーゼ遺伝子をアデノウイルスベクターに導入してマウスに静注したところ少なくとも1ヶ月間は酵素活性の著明な発現と共に肝、脾、心に蓄積したムコ多糖が消失した。

④Fabry での心筋障害に関する研究

Fabry 病では著明な心肥大に伴う心不全症状が 40~50 才頃よりみられる。又患者の死因の重大な原因となっている。又女性の心虚血性疾患の内かなりのパーセントで Fabry 病の保因者が存在することが推測される。本研究では Fabry 病患者心筋の生化学的分析、並びに女性保因者の心筋代謝に関する臨床的問題、並びにスクリーニング法の開発などが重要である。我々は女性の虚血性心疾患をスクリーニングする為尿より Ceramido trihexoside を定量する方法を検討し、女性の虚血性心疾患の Fabry 病保因者としての位置付けを確立することを試みた。

考案：

- 1) ゴーシェ病の遺伝子解析と心疾患を来たした遺伝子異常の解明日本人ゴーシェ病 50 名の遺伝子解析を行った。この内 40%は 1448C の変異を見出し、又 1213G が 12%を占めた。残りは 20 種余りの変異で日本人ゴーシェ病は極めて遺伝学的にも heterogeneity の強い疾患であることが明らかにされた。又心肥大、心弁膜症、水頭症等を来たす特異なゴーシェ病を見出し、その遺伝子変異はアラブ人に多い D409H の遺伝子変異を同定した。ゴーシェ病に於ても心不全、心肥大を来たすことがあること、又その遺伝子変異を同定したことは意義深い。
- 2) マルチプルスルファターゼ欠損症 (MSD) では心肥大、心弁膜症を来たす。心筋弁膜への含硫脂質、ムコ多糖の蓄積、特にセラミドトリヘキソシド (CTH) 硫酸、デルマトン硫酸、ヘパラン硫酸の蓄積を明らかにした。現在この遺伝子異常に関して検討している。
- 3) 心肥大を来たすムコ多糖症への遺伝子治療の開発：ムコ多糖症は心弁膜症、心肥大を来たす。ムコ多糖症の動物モデルである Sly 病マウスを用いてマウスにヒトの β -グルクロニダーゼ遺伝子をアデノウイルスベクターに導入してマウスに静注したところ少なくとも1ヶ月間は酵素活性の著明な発現と共に肝、脾、心に蓄積したムコ多糖が消失した。アデノウイルスベクターの遺伝子治療の有効性を明らかにした。
- 4) Fabry 病での心筋障害、特に女性保因者をスクリーニングする為に尿 1ml より CTH 又は

CDH 硫酸の定量法を開発、女性の心筋梗塞の患者のスクリーニング法の確立を目指している。

研究成果の発表

1. Ida H., Rennert OM, Maekawa K and Eto Y. Identification of three novel mutations in the acid sphingomyelinase gene of Japanese patients with Niemann-Pick disease type A and B. *Hum Mutat* (1996) 7: 65-68.
2. Ida H., Rennert OM, Ito T, Maekawa K and Eto Y. Clinical and genetic studies of five fatal cases of Japanese Gaucher disease type 1. *Acta Paediatr Jpn* (1996) 38: 233-236.
3. Ida H., Rennert OM, Kawame H, Ito T, Maekawa K and Eto Y. Mutation screening of 17 Japanese patients with neuropathic Gaucher disease. *Hum Genet* (1996) 98: 4294-4296.
4. Ida H., Iwasawa K., Kawame H., Rennert O. M., Maekawa K., Eto Y.: Characteristics of gene mutation among 32 unrelated Japanese Gaucher disease patients: absence of the common Jewish 84GG and 1226G mutation. *Hum. Genet.* (1995) 95: 717-720.
5. Ohashi T., Watabe K., Uehara K., Sly W. S., Vogler C. and Eto Y. Adenoviral-mediated gene transfer and expression of human beta-glucuronidase gene in the liver, spleen, and central nervous system in MPS VII mice. submitted
6. Ohashi T., Watabe K., Sato Y, Saito I., Barranger J. A., Matalon R. and Eto Y. Gene therapy for metachromatic leukodystrophy. *Acta Paediatr. Jap.* 1996; 38: 193-201.
7. Ohashi T., Matalon R. and Eto Y.: Overexpression of Arylsulfatase A gene in fibroblasts from Metachromatic leukodystrophy patients reduce multiple sulfatases activity but not induce a mucopolysaccharide storage phenotype. *Gene Therapy.* (1995) 2: 1-6, 1995.
8. Ohashi T., Watabe K., Kanegae Y, Saito I., Barranger J. A. and Eto Y.: Successful transduction of Oligodendrocytes and restoration of Arylsulfatase A deficiency in metachromatic leukodystrophy fibroblasts using an adenovirus vector. *Gene therapy.* (1995) 2: 443-449.