8. 骨髓移植によるニーマンピックマウスの治療の試み

北 川 照 男¹⁾ 崎 山 武 志¹⁾ 大 和 田 操¹⁾
津 田 正 彦¹⁾ 宮 脇 茂 樹²⁾

日本大学医学部 小児科¹⁾
日本新薬山科植物研究所²⁾

A Trial of the Treatment by Bone Marrow Transplantation in the Niemann-Pick Mice

Teruo KITAGAWA,¹⁾ Takeshi SAKIYAMA,¹⁾ Misao OWADA,¹⁾
Masahiko TSUDA¹⁾ and Shigeki MIYAWAKI²⁾

*Department of Pediatrics, School of Medicine, Nihon University, Tokyo¹⁾
Research Laboratories, Nippon Shinyaku Co., Ltd., Kyoto²⁾*

Summary

A new autosomal recessive gene causing sphingomyelinosis in mice is described. The disease syndrome caused by this gene has been diagnosed as an analogue of Niemann-Pick disease in humans. Affected mice cannot breed. They show neurological symptoms and weight loss beginning from around 7 weeks of age, and die at 12–14 weeks. By 8 weeks of age striking hepatosplenomegaly and marked enlargement of lymph nodes are present. Large areas of the liver and spleen are replaced by clusters of foam cells. The contents of sphingomyelin and free cholesterol in the liver and spleen are markedly elevated. But the brain shows no obvious changes in lipid concentration. Sphingomyelinase activity is reduced to about 30 percent that of the homozygous normal controls in the liver, 50 percent in the spleen and 70–80 percent in the brain. Heterozygotes are normal in both lipid concentrations and sphingomyelinase activity.

The isoelectric focusing pattern of sphingomyelinase in the liver and the brain from both a control and an affected mouse was studied. In the control liver, 2 major peaks of sphingomyelinase activity were seen. One peak with a pI of 4.2, indicates acid sphingomyelinase. Other peak with a pI of 3.0 shows neutral sphingomyelinase. In the affected liver, peak with pI of 3.0 was quite similar to that of control, whereas a significant decline of peak with pI of 4.2 was noticed. On the other hand, in the control brain, the 2 major peaks of sphingomyelinase activity were also observed. However, in contrast to the liver, one peak with pI of 3.0, which indicated neutral sphingomyelinase, was the most prominent peak, and the pI of acid sphingomyelinase was different from that of the liver. In the affected brain, 2 peaks of sphingomyelinase activity were also seen. This pattern did not differ from the control brain. Subsequently, the subcellular distribution of the brain sphingomyelinases was studied. In the whole homogenate fraction, sphingomyelinase activity of the affected brain showed approximately 70% of the control activity. However, sphingomyelinase activity in the mitochondria-lysosome fraction of affected brain had only 19% of the normal control. The deficiency of lysosomal acid sphingomyelinase in the brain probably is responsible for the development of neurological manifestations in the affected mice.

The Niemann-Pick mice which received bone marrow transplants showed a decreased accumulation of sphingomyelin and cholesterol quantitatively and a increased activity of sphingomyelinase in their spleen and liver. The sphingomyelin deposit in the bone marrow was also reduced histochemically and foam cells in the liver and spleen were significantly decreased. However, the neurological manifestations were not improved by the bone marrow graft. Our result has encouraged us to apply bone marrow transplantation to the patients with Niemann-Pick disease

except the neurological manifestation type. It also might warn of unqualified application of bone marrow transplants to humans with lysosomal storage disease showing neurological involvement.

はじめに

最近、先天代謝異常症の動物モデルへの関心が高まっている。その理由は、これが先天代謝異常の病因や治療法の好個の研究対象になるからである。すでに欧米では Krabbe 病のモデルの Twicher mouse や GM₂ gangliosidosis の猫、ヒスチジン血症の mouse などが見いだされ研究に使用されている¹⁾が、Twicher mouse は生後数週で死亡し、生存期間が短く、リビドーシスやムコ多糖症の猫や犬は小動物に比較すると繁殖数が少なく、いずれも先天代謝異常の研究に利用する上で若干の欠点を有している。これに対して、われわれが発見したニーマンピックマウス (*spm/spm* と略す) は卵巣移植によって繁殖させることが可能であり、さらに生存期間も約 14 週間に及ぶためにリビドーシスの病因と治療の研究を行う上で絶好の動物モデルであり^{2,3)}、これを利用して行った病因の研究ならびに骨髓移植による治療の研究に関する成績を報告する。

研究対象

日本新薬山科植物研究所の宮脇ら⁴⁾は、飼育している C57BL/KsJ 系のマウスのうちに生後 7~8 週頃から動作が緩慢となり、まもなく振せんを呈し、歩行が不安定となってその運動障害のために食餌摂取が困難となり、生後 10 週頃より症状が急速に進行して栄養が低下し、運動失調状態に陥り、ついにはまったく歩行不能となって、12~14 週齢の間に死亡する特有な症状と経過を示すもののあることに気づき、報告した。このマウスには、肝脾腫が認められ、その組織にはコレステロールが蓄積していることも、宮脇らは気づいていた。このような症状を呈するマウスは、雌雄ともに生殖不能のために放置すればその系統を残すことは不可能であるが、日本新薬の研究所はこのマウスに強い関心を抱いて卵巣移植を行い、その系統を残していた。交配実験の結果、このマウスに認められる疾患は常染色体劣性遺伝であり、8 週齢で肝重量は正常対照の約 2 倍、脾重量は約 4 倍を示し、病理所見で泡沫細胞を認めることから、コレステロールの代謝病が疑われていた。一方、このような代謝異常に基づく脂質蓄積症 (リビドーシス) の動物モデルを研究対象として、その病態と治療の研究を行いたいと望んでいた筆者ら

は、和歌山県立医大、松下宏教授から日本新薬のマウスについての連絡をうけ、宮脇らに病態を解明するための試料の提供をうけ、これをニーマンピック病マウスと同定し、これを研究に使用した。

研究方法

1) 蓄積脂質の測定：臓器の脂質抽出液を Folch 法⁵⁾により分画して、それぞれを測定するとともに、展開溶媒にクロロホルム：メタノール：水、C:M:H₂O (60:35:8)、および C:M:0.2% CaCl₂ (55:45:10) に使用して、Merk の HPTLC シリカゲルプレートで脂質の薄層クロマトグラフを行った。なお中性脂質とスフィンゴ糖脂質の発色には、アンスロン硫酸法を、ガングリオシドの発色には、塩酸レゾルシノール法を、スフィンゴミエリン (SM と略す) の発色には、Dittmer 法をそれぞれ使用した。また全脂質分画の一部について、Zak 法でコレステロールを、塩酸レゾルシノール法でガングリオシドを、TLC で展開発色した SM をクロマトスキャナーで定量した。

2) 蓄積 SM の脂酸構成の測定：Folch 法を反復して得た粗中性脂質を桂酸カラム (1.0×20 cm, イアトロビーズ 6RS-8060, ヤトロン社) にかけて、クロロホルムメタノールで SM を分別溶出し、精製してから赤外吸収スペクトルをとるとともに、その一部をメチル化し、3%OV-1, 2 m カラムを用いて島津 GC-7A ガスクロマトグラフィーにより脂酸構成について検討した⁶⁾。

3) スフィンゴミエリナーゼの測定：人工基質として 2N-hexadecanoylamino-4-nitrophenyl-phosphorylcholine (HNP) を使用したスフィンゴミエリナーゼ (SMase と略す) の測定は、Gal⁷⁾の方法により行い、また choline のメチル基を C¹⁴ で標識した sphingomyelin を基質として使用した場合は、Kanfer ら⁸⁾の方法で測定した。なお、酵素液としてはマウスの組織 0.5~2.0 g に 0.1% Triton X-100 を 20% となるように加え、ホモジナイザーでホモジナイズし、10,000×g, 20 分遠沈して、その上清を使用した^{9,10)}。なおライソゾームとミトコンドリアを含む脳の分画は、遠心分画法で採取し、これも酵素液として使用した。なお組織の SMase 活性と対比するために、その他のライソゾーム酸性水解酵素も測定したが、その

場合は基質としてその 4-methyl-umberiferyl 誘導体を使用した。

4) SMase の酵素学的性質の検討

(1) pH profile ならびに熱処理による活性の変化について：pH 3.5 から 6.0 までは 1 M acetate buffer を、pH 6.0 から 8.5 までは trisaminomaleate buffer を用い、熱処理は 55°C、30 分で行って、酵素活性を測定した。

(2) 等電点分画法：Vesterberg and Svensson の方法に準じ、45 ml のカラムを使用し、キャリアーとして ampholites (pH 3~10) を 2% に含む蔗糖勾配液に酵素液 0.5 ml を持続的に混入し、4°C で 250 volt 24 時間泳動後に、peristaltic pump を使用して 0.5 ml ごとに分取し、酵素活性ならびに pH を測定した。

5) ニーマンピックマウスへ正常骨髄の移植：4 週齢時に試験開腹して脾臓の大きさを肉眼的に計測して、*spm/spm* マウスであることを確認してから放射線照射を行った。照射線量は 400 rad 2 匹、750 rad 3 匹、825 rad 3 匹、900 rad 2 匹とし、それぞれについて C57BL/KsJ 系の健康マウスの下肢から採取した骨髄細胞を RPMI 1640 培地 (Gibco) 2% fetal calf serum に浮遊して、テフロンメッシュで骨片を除いた後に、生存細胞数を Trypan Blue 2% 液でかぞえ、同液で骨髄細胞数がほぼ 2×10^7 コ/0.2 ml となるように調整して、その骨髄細胞浮遊液 0.2 ml を *spm/spm* マウスの尾静脈から静注した。なお、以上の過程は水上で無菌的に行い、治療効果は臨床症状、生存期間、病理組織所見および組織の SMase 活性と

SM の蓄積に与える影響によって判定した¹¹⁾。

研究成果

1) 蓄積脂質に関する研究

spm/spm マウスの肝に蓄積している SM 分画を精製して赤外線吸収スペクトルで分析した結果、対照標品としたウシの赤血球 SM とまったく同一のパターンを示した。そこで、その脂肪酸構成を測定したところ、16:0, 22:0, 24:0, 24:1 の脂肪酸がそれぞれ 23, 19, 18, 28% を占めていた⁶⁾。肝および脾における SM の蓄積は出生後しだいに増加し、肝の SM は生後 4 週では対照の約 5 倍であるが、8 週齢では約 10 倍となり、12 週齢では約 15 倍となるのを認めた。また、肝の総コレステロール量は、生後 4 週齢では対照の 3.6 倍であるが、8 週齢では対照の 5.3 倍、12 週齢では 7.7 倍に増加し、とくに遊離のコレステロールだけでみると、生後 4 週齢では対照の 6.0 倍、8 週齢で 9.5 倍、12 週齢では 13.6 倍となり、SM の蓄積と遊離のコレステロールの蓄積とが平行して経時的に増加するのが認められた¹²⁾ (Table I)。

また、脳における SM の蓄積は肝脾のように著明ではなく、神経症状の発現が SM の蓄積によるのか否かを明らかにすることはできなかった、これに対して、ganglioside 量の増加は、肝脾と同様に脳にも認められたが、肝において最も著明であり、脾と脳の ganglioside 量は対照の 2 倍程度の増加を示したにすぎなかった³⁾。

2) SMase について

spm/spm マウスについて合成基質 2N-hexadecanoylamino-4-nitrophenyl-phosphorylcholine (HNP)

Table I
Cholesterol and sphingomyelin concentrations in the livers of affected and control mice

	Age (wks)	No. animals	Cholesterol		Sphingomyelin
			Total	Free	
<i>spm/spm</i> (Niemann-Pick mice)	4	5	20.5±0.7	18.7±0.8	5.29±0.25
	6	5	24.4±1.3	22.9±1.1	7.56±0.25
	8	10	30.4±1.5	29.4±1.5	10.84±0.50
	10	5	34.4±2.5	32.8±2.5	12.60±0.75
	12	5	44.0±1.4	42.2±1.3	15.37±1.00
+/+ and <i>spm</i> /+ (control mice)	4-12	60	5.7±0.3	3.1±0.1	1.08±0.08

Sphingomyelin content was measured by phosphorus determination and the results were multiplied by 25.2, because the ratio of molecular weight of sphingomyelin and phosphorus is approximately 781/31 (25.2).

Table II
Lipid contents and enzyme activities in pooled
tissues from affected and control mice

	Tissues	Affected mice	Control mice
Lipid contents (mg/g wet tissue)			
Cholesterol	Liver	37.3	4.3
	Spleen	26.9	2.7
	Brain	24.2	20.0
Sphingomyelin	Liver	16.9	3.9
	Spleen	16.8	1.3
	Brain	4.2	3.0
Ganglioside	Liver	1.9	0.4
	Spleen	0.5	0.2
	Brain	1.3	0.6
Enzyme activities (nmol/mg protein/hr)			
Sphingomyelinase by artificial substrates	Liver	14.6	48.9
	Spleen	8.2	19.2
	Brain	77.6	108.1
Sphingomyelinase by natural substrates	Liver	5.9	44.6
	Spleen	20.5	53.2
	Brain	108.5	153.6
β -hexosaminidase*	Liver	6720	1810
β -glucuronidase*	Liver	1810	615
β -galactosidase*	Liver	513	173
β -glucosidase*	Liver	96	64

* Measured by using artificial substrates.

を基質として測定した SMase 活性は、肝で正常対照の 29.9%，脾臓では対照の 42.7% に低下していたが、脳では対照の 81.8% の活性を認めた³⁾。また、天然基質を使用した場合は、肝は対照の 13.2%，脾は 38.5%，脳は 70.6% の活性を示し、合成基質を使用して測定したのと同様に肝で最も著明にその活性が低下しており、脾ではそれについて低く、脳では SMase 活性の低下が少なかった (Table II)。これは SMase にいくつかの isozyme があり、その分布が各臓器で異なるためと考えられたので、以下のように *spm/spm* マウスの SMase について若干の酵素学的な研究を行った¹³⁾。

天然基質を使用して測定した正常マウスの肝と脳の酸性 SMase の至適 pH は、いずれも 5.5 であった。また、Mg⁺⁺ を加えて中性 SMase の活性を測定すると脳では至適 pH を 7.4 とする中性 SMase 活性を

Fig.1. Isoelectric focusing pattern of sphingomyelinase in mice tissue extracts. Enzyme activities are indicated on the left-hand vertical axis and tube numbers on the horizontal axis. The dotted line indicates the pH gradient. Upper panels : sphingomyelinases in liver; Lower panels : sphingomyelinases in brain. +/+, indicates control mice; *spm/spm*, indicates Niemann-Pick mice; ○, sphingomyelinase activity at pH 5.5; ●, sphingomyelinase activity at pH 7.5.

認めたが、肝ではその存在が明らかでなかった。*spm/spm* マウスの肝では酸性 SMase 活性は著しく低かったが、Mg⁺⁺ を加えて中性 SMase を測定するとわずかにその活性を認めた。一方、*spm/spm* マウスの脳では正常マウスとほぼ同じ至適 pH を有する酸性 SMase と中性 SMase が認められたが、等電点分画法で正常マウスの肝と脳の SMase を比較したところ、Fig.1 に示したように、前者の pI は 4.2、後者の pI は肝のそれよりも著しく酸性側にあり、両者は異なる分子構造を有する SMase と思われた。次に、正常マウスと *spm/spm* マウスの肝の SMase を等電点分画法によって比較したところ、正常マウス肝では pI 3.0 と 4.2 に二つのピークがあり、前者は pH 7.4 で強い活性をもち、熱に不安定で、後者は pH 5.5 で強い活性を有し、熱処理に安定であった。これに対して、*spm/spm* マウス肝では pI 4.2 の熱に安定な SMase 活性のピークがみられず、その残存活性は正常マウスにもみられる低い活性の中性 SMase によると思われた。すなわち、前に述べたように、*spm/spm* マウスの肝ホモジネートに Mg を添加すると中性 SMase

Table III
Subcellular localization of sphingomyelinase in mouse brain

Fraction	Sphingomyelinase		Acid phosphatase	
	+/+	<i>spm/spm</i>	+/+	<i>spm/spm</i>
Total	0.89	0.58	159.8	242.5
Microsomal fraction	0.46	0.62	353.9	370.2
Mitochondria-lysosome fraction	3.17	0.61	913.8	1232.4

nmol/mg protein/hr.

活性をわずかながら認めるので、正常肝にもあまり強い活性ではないが、中性 SMase が存在すると思われた。また、マウスの脳の酸性 SMase の等電点分画における主要なピークの pI は、肝のそれとは異なることが明らかにされ、しかもその活性は *spm/spm* マウスでも正常と同様の活性を示していた。しかし、ライソゾームとミトコンドリアを含む分画の脳の酸性 SMase を正常と *spm/spm* マウスとで比較すると、*spm/spm* マウスではその活性が著しく低く、ライソゾームの酸性 SMase 低下が *spm/spm* マウスの神経症状の発現に関連しているものと思われた (Table III)。

3) 骨髓移植の試み

spm/spm マウスはこれまでの研究によって lysosomal acid SMase の欠損によるニーマンピック病であることが明らかにされたので、骨髓移植による酵素移植療法を試みた^{11,14)}。

900 rad 放射線照射前処理をした *spm/spm* マウス 2 頭は、移植を行ったにもかかわらず、死亡した。400, 750, 825 rad 放射線照射による前処理をした *spm/spm* マウスはすべて移植後生存したが、その生存期間は無治療 *spm/spm* マウスと同様であった。すなわち、骨髓移植を行っても、神経症状の出現や体重減少の開始は約 8 週齢から始まり、10~12 週齢で死亡した (Fig.2)。しかし、無治療のニーマンピックマウスの骨髓をミエリン染色してみると、Fig.3 のように SM の蓄積が著明であるが、骨髓移植を行ったマウスの骨髓ではその蓄積が明らかに減少していた。また、移植をすると、*spm/spm* マウスの脾臓における SMase 活性は上昇し、SM と cholesterol の蓄積が著しく減少し、肝でもわずかに SMase が上昇して SM の減少傾向が認められた。すなわち、SM と cholesterol の肝・脾での含有量と SMase 活性を測定した結果は Table IV のようであった。骨髓移植後のこれらの蓄積脂質の減少は、400, 750, 900 rad 群のいずれにお

Fig.2. Curves of body weight in affected mice after bone marrow transplant. ▲●■, control mice; ○□△, *spm/spm* mice.

Non-grafted *spm/spm* mice Grafted *spm/spm* mice
Fig.3. Pathological findings of the bone marrow (myelin staining).

Table IV
Changes of lipid content and the activity of sphingomyelinase in
Niemann-Pick mice after bone marrow transplantation

Experiment No. 1		(mg/g tissue)		
		Total lipid	Total cholesterol	Sphingomyelin
Liver				
Non-grafted group	<i>spm/spm</i> 1	292	45.0	14.7
	<i>spm/spm</i> 2	284	46.0	16.1
Grafted group	400 rad <i>spm/spm</i>	132	51.1	10.6
	825 rad <i>spm/spm</i> 1	132	52.1	11.1
	" 2	116	36.7	10.2
Spleen				
Non-grafted group	<i>spm/spm</i> 1	108	29.3	7.5
	" 2	80	23.4	8.1
Grafted group	400 rad <i>spm/spm</i>	42	12.5	2.7
	750 rad <i>spm/spm</i>	54	9.9	2.9
	825 rad <i>spm/spm</i> 1	38	7.2	1.7
	" 2	49	8.6	2.6

Lipid analysis was performed soon after death either sacrificed or induced. Death occurred at 9, 10 and 11 weeks of age in mice having 825, 750 and 400 rad irradiation respectively.

Experiment No. 2

		Total cholesterol (mg/g tissue)	Sphingomyelin (mg/g tissue)	Sphingomyelinase (nmol/mg protein/hr)
Liver				
Control		4.8	3.9	67.6
Non-grafted group	<i>spm/spm</i>	43.2	15.9	10.7
Grafted group	750 rad <i>spm/spm</i> 1	25.0	16.5	19.5
	" 2	22.8	11.0	23.7
Spleen				
Control		4.1	1.7	38.9
Non-grafted group	<i>spm/spm</i>	23.4	10.2	12.0
Grafted group	750 rad <i>spm/spm</i> 1	15.7	4.6	37.1
	" 2	9.9	2.3	46.3

Lipid analysis and the determination of sphingomyelinase activity were carried out in Niemann-Pick mice at 8 weeks of age, which were grafted from normal bone marrow cells at 5 weeks of age.

いても差異はなかった。

このような骨髄移植による肝脾の脂質の蓄積を病理組織学的に検討したところ、Fig. 4, 5 に示すように、肝においても脾においても移植前には多数の空胞が認められたが、移植後はそれが明らかに減少しているの

が認められた。したがって、生化学的に証明した骨髄移植による蓄積脂質の減少を病理組織学的にもこれを証明することができたと考えている。

考 按

肝や脾に SM が蓄積し、酸性 SMase 活性が低値を

Non-grafted *spm/spm* mice Grafted *spm/spm* mice

Fig.4. Light microscopic findings of the liver of *spm/spm* mice.

Non-grafted *spm/spm* mice Grafted *spm/spm* mice

Fig.5. Light microscopic findings of the spleen of *spm/spm* mice.

示すことから、C57BL/KsJ 系マウスに見いだされた突然変異マウス *spm/spm* が、ヒトニーマンピック病に相当する実験モデル動物であることが明かにされた^{2,3)}。これまでにニーマンピックマウスは Lyon ら¹⁵⁾ によって foam cell reticulosis として報告されているが、われわれのマウスにみられるような肝脾の腫大がなく、3 カ月までは無症状であるといわれ、生存期間も長く、SMase の欠損も報告されていない。本報告のマウスでは肝脾の酸性 SMase が低く、出生後は経過とともに SM の蓄積が増加した。その他、生後 7~8 週から振せん歩行障害などの神経症状を呈したが、脳における SMase の著しい低下と SM の蓄積は見いだされず、これらの臨床生化学的特徴は、ヒトのニーマンピック病 type C と類似していた。

肝と脳に分布する主要な酸性 SMase は、至適 pH などの性質では類似しているが、*spm/spm* マウスで

肝の酸性 SMase のみ低下していることから、両者の遺伝子支配が異なるものと推測され、当然のことながら、その分子構造も異なるものと考えられていた。これについてはっきりした証明がなされていなかったが、われわれは等電点分画法を用いて両者の pI が異なることを証明した。そして脳にも肝の酸性 SMase と同一のものが少量分布し、その欠損が神経症状の発現に関与するものと想像していたが、脳のライソゾーム・ミトコンドリア分画の酸性 SMase が著しく低くこれが本マウスの神経症状に関連しているものと思われた。

最近、ライソゾーム蓄積症に対していろいろな酵素療法が試みられているが、効果も副作用も十分に検討されないうちに、直接ヒトの患者に新しい治療法を試みることが行われており、倫理上問題であると思っている。そして、このような治療については、まず動物モデルを使用してその効果と副作用について、あらかじめ十分な検討を行うことが必要であると考えている。*spm/spm* マウスは、症状発現までに 7~8 週、発病後死亡までに 5~6 週の間隔があるために、ライソゾーム蓄積症の病因や治療の研究を行うことが可能であり、これまで報告されたライソゾーム病動物モデルのどれよりも、すぐれた実験動物と考えている。

前にも述べたように、1981 年 Hobbs らは Hurler 病の骨髓移植を行い報告したが、1982 年にはさらに 2 例の Hurler 病と双児の Sanfilippo B 型に骨髓移植を行い、尿中ムコ多糖体排泄量が正常値に近くなり白血球の酵素活性が正常化し、3 カ月で肝脾腫が消失し、6 カ月後には角膜混濁が改善し、徐々にではあるが骨変化がよくなりつつあると報告した^{16~18)}。

われわれの研究によると、骨髓移植によってニーマンピックマウスの脾の SMase 活性はほぼ正常値となり、骨髓と脾臓の SM の蓄積は著しく減少し、さらに肝においても SMase が正常の 50% 近くにまで増加するとともに、SM の蓄積も軽度ながら減少したので、腹腔臓器に脂質やムコ多糖体が蓄積するライソゾーム病の治療に骨髓移植が有効と考えられる。しかし、骨髓移植を行ってもニーマンピックマウスの神経症状にはほとんど効果はなく、生存期間を延長させることもできなかったのも、移植した骨髓細胞は容易に脳血液関門を越えることができず、代謝異常によって神経組織に蓄積した中間代謝産物を減少させることは困難と思われた。

このように、ニーマンピックマウスにおける骨髓移

植の試みから神経症状を伴わない成人型 Gaucher 病¹⁰⁾, ニーマンピック病 B 型, および Sheie 病には骨髄移植は有効な治療法と考えられる。しかしながら, 神経症状を伴うライソゾーム病, たとえば乳児型 Gaucher 病, ニーマンピック病 A 型および C 型, Tay Sachs 病, GM₁ ガングリオシドーシス, Krabbe 病, 異染性脳白質変性症などについては, 十分な効果を期待することは困難と思われた。

本研究は, 昭和 58, 59 年度厚生省新薬開発研究酵素障害に基づく代謝異常治療薬の開発研究 (班長早石修) の研究費, 昭和 58, 59, 60 年度文部省一般研究 (B) ニーマンピック病の病態生化学的研究 (代表者北川照男) の研究費, ならびに昭和 59 年度文部省総合研究 (A) 代謝異常突然変異動物の疾患モデルとしての利用と開発研究 (代表者松下宏) の研究費によった。感謝する。

文 献

- 1) Hommes, F.A. : *Models for the Study of Inborn Errors of Metabolism*, Elsevier/North Holland Biochemical Press, Amsterdam (1979)
- 2) Miyawaki, S., Mitsuoka, S., Sakiyama, T. and Kitagawa, T. : *J. Hered.*, **73**, 257 (1982)
- 3) Sakiyama, T., Tsuda, M., Kitagawa, T., Fujita, R. and Miyawaki, S. : *J. Inher. Metab. Dis.*, **5**, 239 (1982)
- 4) 宮脇茂樹 : 実験動物, **28**, 132 (1979)
- 5) Folch, J., Lees, M. and Sloane Stanley, G.H. : *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957)
- 6) 崎山武志, 津田正彦, 藤田良二郎, 宮脇茂樹, 飯田静夫, 北川照男 : 脂質生化学研究, **24**, 137 (1982)
- 7) Gal, A.E., Brady, R.O., Hibbert, S.R. and Pentchev, P.G. : *New Engl. J. Med.*, **293**, 632 (1975)
- 8) Kanfer, J.N., Young, D.M., Shapiro, D. and Brady, R.O. : *J. Biol. Chem.*, **241**, 1081 (1966)
- 9) Yamaguchi, S. and Suzuki, K. : *J. Biol. Chem.*, **252**, 3805 (1977)
- 10) Callahan, J.W. and Khalil, M. : *Pediatr. Res.*, **9**, 908 (1975)
- 11) Sakiyama, T., Tsuda, M., Owada, M., Joh, K., Miyawaki, S. and Kitagawa, T. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **113**, 605 (1983)
- 12) Miyawaki, S., Mitsuoka, S., Sakiyama, T. and Kitagawa, T. : *J. Hered.*, **74**, 465 (1983)
- 13) 津田正彦, 大和田操, 崎山武志, 北川照男, 宮脇茂樹 : 第 27 回日本先天代謝異常学会抄録, 札幌, p.51 (1984. 10. 11-13)
- 14) Sakiyama, T., Kitagawa, T., Joh, H. and Miyawaki, S. : *J. Inher. Metab. Dis.*, **6**, 129 (1983)
- 15) Lyon, M.F., Hulse, E.V. and Rowe, C.E. : *J. Med. Genet.*, **2**, 99 (1965)
- 16) Hobbs, J.R., Hugh-Jones, K., Barrett, A.J., Byrom, N., Chambers, D., Henry, K., James, D.C.O., Lucas, C.F., Rogers, T.R., Benson, D.R., Tansley, L.R., Patrick, A.D., Mossman, J. and Young, E.P. : *Lancet*, **II**, 709 (1981)
- 17) Hugh-Jones, K., Hobbs, J.R., Barrett, A.J., Chambers, D., James, D.C.O., Joss, D.V., Byrom, N., Henry, K., Lucas, C.F., Rogers, T.R., Desai, S.J.S., Benson, P.F., Tansley, L.R., Patrick, A.D., Mossman, J. and Young, E.P. : *Monatsschr. Kinderheilk.*, **130**, 643 (1982)
- 18) Hugh-Jones, K., Chambers, D., White, S., Byrom, N., Williamson, S., Barrett, A.J., Henry, K. and Patrick, A.D. : *Molecular Basis of Lysosomal Storage Disorders*, Academic Press, Inc., New York, pp. 411-428 (1984)
- 19) Svennerholm, L. : *Neurolipidoses : Donnees Actuelles. Recent Progress in Neurolipidoses and Allied Disorders* (by Vanier, M.T., ed.), Collection Foundation Marcel Merieux, Lyon (1983)