

고셔병에서 샤프론 치료

울산대학교 의과대학 서울아산병원 소아청소년병원 소아청소년과¹
서울아산병원 소아청소년병원 의학유전학센터²
부산대학교 의과대학 부산대학교어린이병원 소아청소년과³

이범희^{1, 2} · 허선희² · 전종근³ · 김유미¹ · 김자혜¹
최인희¹ · 김재민² · 김구환² · 유한욱^{1, 2}

Chaperone Therapy in Gaucher Disease

Beom Hee Lee^{1, 2}, Sun H Heo², Chong Kun Cheon³, Yoo-Mi Kim¹, Ja Hye Kim¹
In Hee Choi², Jae-Min Kim², Gu-Hwan Kim², and Han-Wook Yoo^{1, 2}

Department of Pediatrics¹, Medical Genetics Center², Asan Medical Center Children's Hospital,
University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea
Department of Pediatrics³, Pusan National University College of Medicine, Pusan, Korea.

Gaucher disease is a lysosomal storage disease caused by deficiency of glucocerebrosidase (GBA). This condition is characterized by accumulation of glucocerebrosidase in liver, spleen, lung, skeletal system, and central nervous system. Gaucher disease is the prototype of disease in which efficacy of enzyme replacement therapy has been established. However, because recombinant enzyme is not able to enter the central nervous system, its efficacy is limited to the non-neurological manifestations of Gaucher disease. Importantly, approximately a half of Korean patients with Gaucher disease suffer from neurological manifestations. In addition, Korean Gaucher disease patients exhibit distinct mutation spectrum from those in other populations. Common mutations in Korean patients with Gaucher disease are also associated with neurological phenotype. Therefore, therapeutic strategies tailored to Korean patients were necessary. Interestingly, a chemical chaperone, ambroxol, has been known to increase residual enzymatic activities of the select mutant GBAs encoded by mutations prevalent in Korean patients. One promising aspect of this drug is that it can cross blood-brain barrier, and enhance the enzyme activity in the brain. In vitro study suggested this chemical chaperone as one of new therapeutic agents in Gaucher disease, and a well-designed human trial is required to confirm its efficacy.

Kew words: Gaucher disease, Ambroxol, Chaperone, Treatment

고셔병의 개요

*본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업(중기세포 재
생의료 지원 사업)의 지원에 의해 이루어졌습니다(A20367)
책임저자: 유한욱, 서울특별시 송파구 풍납2동 388-1
서울아산병원 소아청소년병원 소아청소년과, 의학유전학센터
Tel: Tel: 02)3010-3374, Fax: 02)473-3725
E-mail: hwyo@amc.seoul.kr

고셔병은 가장 흔한 리소좀 축적 질환(lysosomal storage disease) 중 하나로서 리소좀의 가수분해 효소인 β -glucocerebrosidase (GBA)의 결핍으로 인해 간, 비장, 중추신경계, 골격 및 폐 등 여러 장기에

sphingolipid의 일종인 당지질(glucocerebroside)이 축적되어 발생하는 질환이다¹⁾.

고셔병의 원인 유전자인 GBA 유전자는 염색체 1q 21에 존재하며, 상염색체 열성으로 유전되며, GBA 효소 활성도의 결핍 정도에 따라 다양한 중증도의 임상 양상을 보인다¹⁾. 본 질환의 발생률은 인종에 따라 차이가 나고 약 20,000 혹은 200,000 명당 1명의 꼴로 발생하는 것으로 알려져 있다.

고셔병은 임상상에 따라 신경계 침투형 및 신경계 침투형으로 구분되며, 신경계 침투형은 발생 시기에 따라 급성형과 만성형으로 구분된다. 신경계 침투형 고셔병의 경우 전세계적으로는 약 5만명 당 1명의 꼴로 발생하는 것으로 알려져 있으나, 일부 유대인종(Ashkenazi)에서는 약 500명당 1명의 꼴로 빈도가 매우 높다. 대부분의 환자들은 신경학적 증상이 없으며, 혈소판 감소 및 빈혈의 소견이 보이고, 간비종대, 골다공증, 대퇴골 단두의 무혈성 괴사등의 소견을 보이기도 한다¹⁾. 증상의 경중에 따라 환자간에 생존기간이 차이가 나며, 일부 환자는 80세 이상까지 생존하기도 한다. 이에 반해 급성 신경계 침투형은 가장 드문 유형으로, 대부분 영아기에 발견이 된다. 빈혈, 혈소판 감소의 소견은 심한 편이며, 간비종대가 힘하고, 골격계의 이상은 대체적으로 없으나, 신경계 증상이 매우 심하다고 알려져 있다¹⁾. 대부분의 환자는 2세 이상 생존하지 못한다. 만성 신경계 침투형은 전세계적으로 급성 침투형에 비해 신경계의 증상의 진행이 더디나 나이가 들수록 악화된다. 대표적인 신경학적 증상은 근간대성 발작, 불수의적 운동 및 대발작이 보이며 항경련제에 잘 반응하지 않는다. 안구 운동 장애가 심해지며 특히 수평적 안구 운동 장애를 보인다. 질환이 심해지면 운동 실조증이나 경직이 동반되고, 치매 현상이 올 수도 있다. 혈액학적 이상이나 간비종대, 골격계 이상의 정도는 환자마다 차이를 보인다. 환자들의 생존 기간은 치료를 하지 않을 경우 대부분 20-30대에 사망하게 된다¹⁾.

고셔병의 치료

고셔병은 효소보충요법(enzyme replacement the-

rapy)의 효과가 입증 된 전형적인 질병으로, 효소보충요법은 고셔병에서 간비장비대, 혈액학적 소견에 크게 도움이 되는 것으로 알려져 있다. Human placenta에서 추출한 *alglucerase* (Ceredase[®], Genzyme Co., Cambridge, Massachusetts)가 1991년 미 FDA 승인을 받아 고셔병 환자에게 투여되기 시작하였고, modified form인 *acid β -glucosidase enzyme, imiglucerase* (Cerezyme[®] (세레자임), Genzyme Co.)가 recombinant DNA technology를 통해 1994년부터 상용화 되어 최근까지 고셔병의 standard treatment로 사용되고 있다^{2, 3)}. 또한 국내에서는 에브서틴주(이수애플리스, 한국)가 세레자임과 동등한 효과가 있음이 증명되었고, 2013년부터 국내 시판되었으며, 다 국가 임상 시험을 진행 중이다. 이외에도 인간 섬유아 세포에서 생산한 *velaglucidase*가 2010년부터 해외에서 사용 되고 있다.

본 연구자들이 1989년부터 2011년까지 단일 연구 기관에서 경험한 20명의 고셔병 환자들에서도 효소 치료를 함에 따라 혈소판 및 고셔병의 생물학적 표지자인 *chitotriosidase*, *acid phosphatase* 및 *angiotensin converting enzyme*의 뚜렷한 호전을 발견할 수 있었다⁴⁾.

효소치료요법 외에 기질감소제제인 *N-butyldeoxy-nojirimycin* (*miglustat*)이 효소치료요법을 투약 받지 못하는 성인 고셔병 환자의 치료제로 2004년부터 사용되었다⁵⁾. 본 약제는 *ceramide glucosyltransferase*를 억제함으로써 GBA의 기질 생성을 줄이는 효과가 있다. 그러나 일부 환자에서 심한 위장관계 합병증 및 진전 등의 신경학적 부작용으로 사용에 제한을 받고 있다. 이외에 *glucosylceramide synthase*를 좀더 특이적으로 억제하는 *eliglustat tartrate*가 개발 중이고 현재 임상연구 진행 중이다⁶⁾.

그러나 이러한 효소치료제들은 뇌혈관장벽을 통과하지 못하기 때문에 고셔병 환자에서 발생하는 신경계 증상의 진행에는 효과가 미미하다. 즉, 고셔병 환자는 효소보충요법으로 간비장비대나 혈액학적 소견의 호전을 기대할 수 있으나, 신경계 증상의 진행에 대해서는 특별한 치료 없이 경과를 지켜볼 수 밖에 없는 상황이다

⁷⁻⁹⁾ 신경학적 증상은 항경련제로 조절이 되지 않는 간대성근경련 발작(myoclonic seizure), 대발작(Grand Mal seizure), 안구운동의 장애(abnormal saccadic eye movement), 보행장애(ataxic gait) 등의 다양한 증상들로 발현되며, 결국 지능 저하와 퇴행(neurodegeneration)으로 진행되어 사망에 이르게 한다. 그럼에도 불구하고, 신경계 증상이 있는 만성형 환자에서는 삶의 질의 향상을 위해서 효소 치료를 하도록 권고하고 있다⁸⁾. 특히 만성 신경계 침투형 환자의 경우 진단 당시에는 신경계 증상이 없다가 추후에 신경계 증상이 발생하여 환자의 진단 시 신경계 침투형 유무를 구분할 수도 없다. Miglustat의 경우 뇌혈관장벽을 통과하는 것으로 알려져 있으나 실제 뇌에 이행되는 양이 많지 않아 신경계 증상에 효과는 증명되지 못하고 있다¹⁰⁾.

한국인 고서병의 현황

현재까지 한국인 고서병 환자는 약 70여명이 알려져 있으며 50여명이 효소 치료 중이다. 1998년부터 국민건강보험의 지원으로 치료가 이루어지고 있다. 서양 고서병 환자의 경우는 대부분이 신경계 비침투형 환자군이나 우리나라 환자들은 약 50%의 환자들이 신경계 증상이 동반되는 것으로 알려져 있다^{4, 11-14)}. 특히 유전자형의 분포도 다른 인종들과 차이가 나서 L444P, F213I, R257Q, N188S, G46E 등의 돌연변이가 다빈도로 존재한다고 알려져 있다^{4, 12)}. 특히, L444P, F213I, R257Q, N188S 등은 신경계 침투형 고서병에서 흔한 돌연변이이다. 특이한 점은 G46E 돌연변이를 보유한 환자는 신경계 증상이 발견된 적이 없는데, 이 돌연변이는 한국인 고서병 환자에 특이한 변이이다^{12, 13)}. 따라서, 이러한 신경계 증상이 동반되는 고서병 환자들에 대한 좀더 집중적인 관리와 새로운 치료법 개발이 필요하다.

고서병에서 샤프론 치료

고서병에서 대부분의 돌연변이는 missense 돌연변이로 돌연변이에 의해서 생긴 GBA는 라이소좀에 효과

적으로 도달하지 못하고 세포 내 endoplasmic reticulum이나 Golgi complex에서 misfolding 되어 분해된다. 샤프론(Chemical chaperone)은 이러한 돌연변이 단백질의 활성화 부위에 결합하여 단백질의 3차 구조를 개선하는 역할을 한다. 구조가 개선된 단백질은 라이소좀에 도달하여 효소의 기능을 부분적으로 회복하게 된다. 샤프론은 대체적으로 endoplasmic reticulum이나 Golgi complex의 중성 pH에서는 GBA 단백질과 결합하여 효소에 약한 억제제로서 기능을 하게 되지만, 라이소좀의 산성의 환경에서는 GBA 단백질과의 결합이 약해지면서 GBA와 기질의 반응을 촉진하게 된다¹⁵⁾.

현재까지 고서병에서 효과를 보이는 샤프론에는 am-broxol, bromhexine, diltiazem, fluphenazine와 isofagomine이 있다. 이중 Isofagomine이 신경계 비침투형 고서병 환자의 섬유아세포에서 유의한 효소활성도 증가의 소견을 보여, 임상1/2상 연구를 신경계 비침투형 환자에서 시행하였으나, 치료 효과가 뚜렷하지 않았다¹⁶⁾.

샤프론의 치료 효과에 영향을 주는 주요 인자는 돌연변이의 종류이다. 즉 각각의 약물에 반응하는 정도는 환자의 돌연변이 종류에 따라 다를 수 있다. 이외에도 같은 돌연변이라 하더라도 이를 매개하는 생체 환경에 따라 반응이 다를 수도 있다¹⁷⁾. 주목할 점은 이들 샤프론 중 암브록솔은 한국인에게 다빈도로 존재하는 돌연변이인 N188S과 F213I에 주로 효과를 보일 수 있을 것으로 기대되는 샤프론이라는 것이다¹⁸⁾. 암브록솔이 고서병에서 샤프론 화학제로서 가능성이 제시된 최초의 보고는 2009년도에 Journal of Biology and Chemistry에 발표된 논문이다. Gustavo 등은 1,400여개의 FDA 허가 약물로부터 thermal denaturation assay를 통해 GBA의 잔존 효소능을 향상시킬 수 있는 약물을 스크리닝하였고, 이 중 암브록솔이 유의하게 효소의 효능의 증가시킴을 보고 하였다¹⁸⁾. 중요한 점은 N188S나 F213I는 우리나라의 신경계 침투형 고서병 환자에서 흔한 돌연변이라는 점이다. 이외에도 최근에는 신경계 침투형 고서병 환자에서 흔한 다른 돌연변이인 L444P도 암브록솔에 반응할 가능성이 제시되었다^{17, 19)}.

본 연구자들은 암브록솔의 치료 효과를 확인하기 위해 *in vitro* 실험을 진행 하였다. GBA의 cDNA가 삽입된 pCMV6-XL5-GBA 클론에 한국인에게 다빈도로 보이는 돌연변이인 G46E, N188S, F213I, R257Q, R277C, L444P를 mutagenesis를 하여 제작하였다. 이 돌연변이 클론을 COS-7 세포에 주입하였다. 암브록솔의 효과를 확인하기 위해서 0 uM, 5 uM, 10 uM과 30 uM의 농도로 배지에 48시간 처리 후 GBA 활성도를 측정하였다.

각각 돌연변이를 주입 한 세포에서 GBA 효소의 발현 정도를 western blot으로 확인한 결과 Fig. 1과 같이 큰 차이를 보이지는 않았다. 암브록솔 농도에 따라 COS7 세포 내 GBA 농도가 증가되는 것을 확인할 수 있었는데, 10 uM의 농도까지는 잔존 효소 활성도가 증가 하는 것을 확인할 수 있었으며, 이후의 농도에서는 효소의 활성도가 감소하였다. 특히, 돌연변이의 종류에

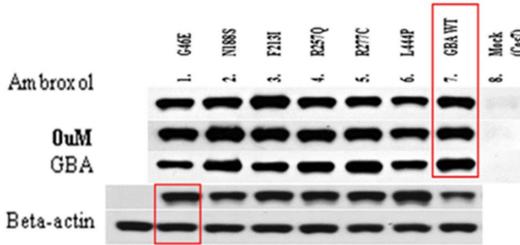


Fig. 1. Protein expressions of glucocerebrosidase in COS7 cell transiently expressing GBA (wild type, G46E, N188S, F213I, R257Q, R277C, and L444P).

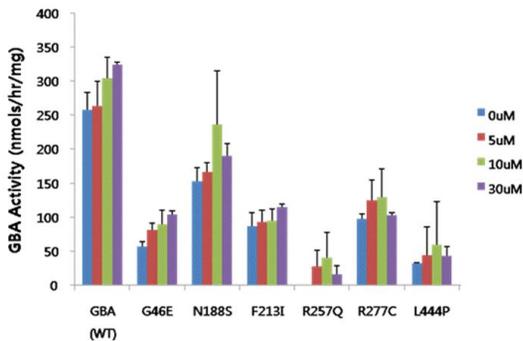


Fig. 2. Activities of glucocerebrosidase in COS7 cell transiently expressing GBA (wild type, G46E, N188S, F213I, R257Q, R277C, and L444P) under ambroxol treatment.

따라 반응 정도가 달랐는데, N188S를 주입한 세포에서 뚜렷한 효소 활성도의 증가를 확인할 수 있었다. 이외에 F213I, L44P, R257Q, R277C, G46E를 주입한 세포에서도 효소 활성도가 증가하거나 뚜렷한 변화가 없는 경우도 있었다(Fig. 2).

다음으로 환자에서 채집한 섬유아세포를 0 uM, 5 uM, 10 uM과 30 uM의 농도로 암브록솔을 배지에 48시간 처리 후 GBA 활성도를 측정하였다. 환자의 돌연변이형은 G46E+F213I, G46E+L444P, G46E+R257Q, N188S+R257Q였다. 여기서는 N188S와 F213I를 보유한 환자의 섬유아세포가 암브록솔 처리에 반응하는 것으로 판단되었다(Fig 3).

암브록솔이 신경계 침투형 고서병 환자에서 효과를 보일 수 있는 가능성은 이 화합물이 뇌-혈관장벽을 통과하기 때문이다. 최근에는 암브록솔의 투약이 동물에 미치는 영향에 대한 보고가 있었으며, 이 보고에서 암브록솔을 정상 쥐에서 비장, 심장 뿐만 아니라 뇌조직에서도 효소의 기능을 증가시키미 알려지게 되었다¹⁹⁾. 또한, 고용량의 암브록솔 투여에 따른(혈중 농도 0.3-10 umol/L) 특별한 부작용이 없음을 보고하였다.

최근에는 환자들을 대상으로 한 임상 연구 결과도 발표되고 있다. 최근 신경 증상이 없는 고서병 환자에서 암브록솔을 투약한 pilot study의 보고가 나왔는데, 이들은 모두 효소치료를 투약 받을 수 없는 환자들이었다^{20, 21)}. 본 연구에서는 효소치료 없이 소량의 암브

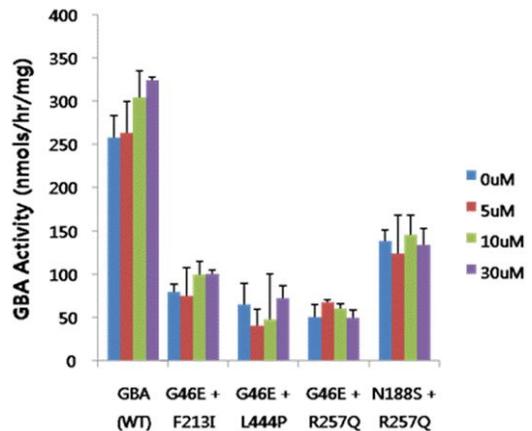


Fig. 3. Activities of glucocerebrosidase in the patients' fibroblasts under ambroxol treatment.

록솔 만으로도 비장의 크기 감소 및 혈소판의 증가 소견이 있어 암브록솔의 효소치료제의 대체 치료의 가능성이 제시 되었다.

2009년 일본 돗토리 대학의 Ohno 교수팀은 N188S/G193W의 유전자형을 보이는 신경계침투형 고서병 환자를 대상으로 섬유아세포에서 암브록솔이 0.3-10 $\mu\text{mol/L}$ 의 농도에서 유의한 효소 능력의 상승을 확인하였고, 이 환자를 대상으로 암브록솔 치료의 임상 연구를 수행하였다(personal communication). 효소보충요법, 항경련제 등의 기존 치료는 지속한 상태에서 경구 암브록솔의 용량을 서서히 증량하여 25 mg/kg/day 까지 증량하였다(최대용량 1,000 mg/day). 상기의 프로토콜로 1년간 치료 기간 동안 고용량의 약물 투여에 의한 부작용이 없었으며, 체중 증가와 경련 횟수 특히 progressive myoclonic epilepsy의 호전을 보였으며, 소리에 대한 뇌간 반사의 호전도 경험하였다.

고서병에서 샤프론 치료가 새로운 치료법으로 제시 되는 중요한 이유는 뇌-혈관 장벽을 통과하여 대뇌내의 잔존 효소 활성도를 높일 수 있다는 장점이 있다는 것이다. 그러나, 충분한 치료 효과를 얻기 위해서는 충분한 양의 샤프론 약물이 투여되어야 하는 문제가 있다. 암브록솔의 경우 10 μM 내외의 충분한 혈중 농도가 필요하고, 이러한 농도를 유지하기 위해서는 상용량의 최소 10배 이상의 약물을 복용해야 하는 어려움이 있다. 또한 유지된 혈중 농도에서 뇌조직에서 유지되는 농도가 치료효과를 좌우하는 중요한 요소가 될 것이다. 본 연구자들의 연구에서도 보인 바처럼 샤프론은 일정 농도 이상에서는 오히려 효소의 활성을 억제 할 수 있으므로, 적절한 농도 이상의 양을 투여하지 말아야 한다. 또한 신경계 침투형 고서병에서 치료 약물의 신경학적 효과를 판단하기 위한 적절한 지표가 필요하다는 것이다. 객관적이고 보편적인 지표들의 발굴 및 이를 이용하여 효과를 분석해서 증명해야 표준 치료제로 사용될 수 있을 것이다. 또한, 암브록솔에 상대적으로 반응이 미비한 돌연변이형이나 한국인 고서병 환자에 특이적 돌연변이에 대한 새로운 샤프론 약제의 발굴이 필요하다. 그러나, 약물 스크리닝을 하기 위해서는 대량의 안정적 단백질이 필요하다. 이전까지의 대부분의 연

구는 정상 GBA를 이용하거나 환자의 조직에서 직접 얻은 단백을 이용하는 방법이 있었다²²⁾. 따라서, 다량의 돌연변이 단백을 이용하여 새로운 샤프론 제제를 발굴하기 위한 연구 방법의 구축이 필요하다.

결론적으로, 많은 선천성 대사이상질환들은 인종마다 다른 임상상을 보일 수 있고, 이의 대표적인 질환이 고서병이다. 한국인에서 고서병의 임상적 유전학적 특징에 대한 경험을 바탕으로 한국인 환자에 좀더 맞추어진 새로운 치료법 개발이 필요하다. 이러한 희귀질환에 대한 연구는 그 희귀성으로 인해 사회적 관심을 이끌어 내기 어려우며, 연구에 따르는 비용에 대한 부담으로 인해 개인이나 일개 단체가 수행하기 쉽지 않아, 국가적 지원이 절실하다.

참 고 문 헌

- 1) Beutler E G.G. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases. 8th edn. (McGraw-Hill: New York, 2001).
- 2) Martins AM, Valadares ER, Porta G, Coelho J, Semionato Filho J, Pianovski MA, et al. Recommendations on diagnosis, treatment, and monitoring for Gaucher disease. J Pediatr 2009;155:S10-18.
- 3) Starzyk K, Richards S, Yee J, Smith SE, Kingma W. The long-term international safety experience of imiglucerase therapy for Gaucher disease. Molecular genetics and metabolism. 2007;90:157-63.
- 4) Lee JY, Lee BH, Kim GH, Jung CW, Lee J, Choi JH, et al. Clinical and genetic characteristics of Gaucher disease according to phenotypic subgroups. Korean journal of pediatrics 2012;55:48-53.
- 5) Cox TM, Aerts JM, Andria G, Beck M, Belmatoug N, Bembi B, et al. The role of the iminosugar N-butyldeoxynojirimycin (miglustat) in the management of type I (non-neuronopathic) Gaucher disease: a position statement. Journal of inherited metabolic disease. 2003;26:513-26.
- 6) Lukina E, Watman N, Arreguin EA, Banikazemi M, Dragosky M, Iastrebner M, et al. A phase 2 study of eliglustat tartrate (Genz-112638), an oral substrate reduction therapy for Gaucher disease type 1. Blood 2010;116:893-9.
- 7) Schiffmann R. Therapeutic approaches for neuronopathic lysosomal storage disorders. Journal of inherited metabolic disease. 2010;33:373-9.

- 8) Vellodi A, Tylki-Szymanska A, Davies EH, Kolodny E, Bembi B, Collin-Histed T, et al. Management of neuronopathic Gaucher disease: revised recommendations. *Journal of inherited metabolic disease*. 2009;32:660-4.
- 9) Pastores GM. Recombinant glucocerebrosidase (imiglucerase) as a therapy for Gaucher disease. *Bio-Drugs : clinical immunotherapeutics, biopharmaceuticals and gene therapy*. 2010;24:41-7.
- 10) McEachern KA, Fung J, Komarnitsky S, Siegel CS, Chuang WL, Hutto E, et al. A specific and potent inhibitor of glucosylceramide synthase for substrate inhibition therapy of Gaucher disease. *Molecular genetics and metabolism*. 2007;91:259-67.
- 11) Jeong SY, Kim SJ, Yang JA, Hong JH, Lee SJ, Kim HJ. Identification of a novel recombinant mutation in Korean patients with Gaucher disease using a long-range PCR approach. *Journal of human genetics*. 2011;56:469-71.
- 12) Jeong SY, Park SJ, Kim H.J. Clinical and genetic characteristics of Korean patients with Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis* 2011;46:11-4.
- 13) Lee BH, Kim DY, Kim GH, Cho KJ, Yoon HK, Yoo HW. Progressive mesenteric lymphadenopathy with protein-losing enteropathy; a devastating complication in Gaucher disease. *Molecular genetics and metabolism*. 2012;105:522-4.
- 14) Park HW, Lee Y, Kim GH, Lee BS, Kim KS, Yoo HW, et al. Novel frameshift mutation (Pro171fsX21) in neonatal type 2 Gaucher's disease. *Gene* 2012; 507:170-3.
- 15) Parenti G. Treating lysosomal storage diseases with pharmacological chaperones: from concept to clinics. *EMBO molecular medicine*. 2009;1:268-79.
- 16) Cox TM. Gaucher disease: clinical profile and therapeutic developments. *Biologics : targets & therapy*. 2010;4:299-313.
- 17) Bendikov-Bar I, Ron I, Filocamo M, Horowitz M. Characterization of the ERAD process of the L444P mutant glucocerebrosidase variant. *Blood Cells Mol Dis* 2011;46:4-10.
- 18) Maegawa GH, Tropak MB, Buttner JD, Rigat BA, Fuller M, Pandit D, et al. Identification and characterization of ambroxol as an enzyme enhancement agent for Gaucher disease. *The Journal of biological chemistry*. 2009;284:23502-16.
- 19) Luan Z, Li L, Higaki K, Nanba E, Suzuki Y, Ohno K. The chaperone activity and toxicity of ambroxol on Gaucher cells and normal mice. *Brain Dev* 2012.
- 20) Goker-Alpan O. Commentary on "Pilot study using ambroxol as a pharmacological chaperone in type 1 Gaucher disease" by Zimran et al. *Blood Cells Mol Dis* 2012.
- 21) Zimran A, Altarescu G, Elstein D. Pilot study using ambroxol as a pharmacological chaperone in type 1 Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis* 2012.
- 22) Goldin E, Zheng W, Motabar O, Southall N, Choi JH, Marugan J, et al. High throughput screening for small molecule therapy for Gaucher disease using patient tissue as the source of mutant glucocerebrosidase. *PloS one* 2012;7:e29861.