

20020664

厚生労働科学研究費補助金
感覚器障害研究事業

難治性感覚器疾患の遺伝情報網および遺伝子診断システムの確立
に関する研究

平成14年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 岩田 岳

平成15(2003)年 3月

目次

I. 総括研究報告書	1
難治性感覚器疾患の遺伝情報網および遺伝子診断システムの確立に関する研究	- 1
岩田 岳	
田中 靖彦	
II. 分担研究報告書	
1. 前眼部形成不全における PAX 6 遺伝子の変異	----- 5
東 範行	
2. 成育医療センターを利用した小児異常症における遺伝子診断システムの確立	-- 9
奥山 虎之	
III. 研究成果の刊行物一覧	----- 11
IV. 別刷	----- 13

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）
研究報告書

難治性感覚器疾患の遺伝情報網および遺伝子診断システムの確立

主任研究者 岩田 岳 国立病院東京医療センター・感覚器センター 主任研究員
分担研究者 田中 靖彦 国立病院東京医療センター 院長

研究要旨：国内では初めてのインターネットを利用した感覚器疾患症例登録システムを確立するために感覚器ネットワーク(www.kankakuki.go.jp)構築し運転を開始した。さらにハイスループットな感覚器疾患遺伝子診断システムのプロトタイプを緑内障原因遺伝子ミオシリン、オプチニューリンについて作成した。平成15年度には遺伝情報を含む症例情報データベースを作製し、臨床の現場で利用できる形で公開できるように情報の加工をどのように行うか検討を行っている。

A. 研究目的

国立病院東京医療センター・感覚器センターを中心とした感覚器ネットワーク(www.kankakuki.go.jp)を構築し16の国立病院、複数の大学病院がとの連携で(1)日本で初めてのインターネットを利用したオンライン感覚器疾患症例登録システムの整備、(2)遺伝性感覚器疾患遺伝子診断システムの開発、(3)日本人に特化した遺伝子情報を含む症例データベースの構築および(4)症例情報公開システムの構築を目的とする。

B. 研究方法

(1) 国立病院東京医療センターを中心とした症例登録システムの構築

国立病院東京医療センターを中心とする感覚器疾患症例入力システム、暗号化システム、匿名化システムの骨格となるインフラの整備を行う。登録に参加する施設として国立療養所西札幌病院、国立療養所小樽病院、国立療養所札幌西病院、国立仙台病院、国立千葉病院、国立名古屋病院、国立金沢病院、国立京都病院、国立大阪病院、国立療養所千石荘病院、国立病院岡山医療センター、国立善通寺病院、国立療養所香川小児病院、国立病院九州医療センター、国立病院長崎医療センター、国立熊本病院の計16施設に加え、今年度は加齢黄斑変性症例登録に大学病院が複数参加することが予定されている。

(2) 日本人を対象とした遺伝子診断システム(プロトタイプ)の作製

日本人で発見された遺伝子変異および遺伝子

多型を解析するための遺伝子診断システムについて昨年度は3つの検出方式について検討を行い、インベーター法を検出感度、作業工程数、検出機や試薬の価格から選択した。今年度はこの方式を使って緑内障原因遺伝子ミオシリンとオプチニューリンについて日本人で発見された遺伝子変異に絞ってプローブを作製してさらに詳しい試験を行った。

C. 研究結果

(1) 患者紹介システム

緑内障、加齢黄斑変性についてウェブ(<https://niso.kankakuki.go.jp/karte/login.jsp>)を使った症例登録システムの運転を開始した。この症例登録に必要な倫理委員会の承認は緑内障については東京医療センター、岡山療養所、九州医療センター、そして熊本医療センターが得ており、金沢病院、長崎病院、大阪病院が申請中である。加齢黄斑変性については現在申請準備中である。

(2) 遺伝子診断システム

緑内障原因遺伝子ミオシリンおよびオプチニューリンを試験対象として選択し、日本人で発見された合計20種類の遺伝子変異についてプローブを作製して患者DNAを用いた試験を行った。検出感度は良好で、100 μ gの患者DNAで十分に検出が可能であることが立証された。

D. 考察

今回症例登録システムの運転を開始して最大の問題点は各施設(クライアント)のインターネットへの接続スピードが大きな異なることである。眼底写真などの大型ファイルを添付した場合に施設によっては登録時間が長くなり、効率的に登録作業を完了できない場合がある。今後、ブロードバンド通信が普及するにつれてこの問題は解消されると考えられる。

さらに、忙しい医師が仕事の合間に断続的にも登録作業ができるように、また、登録中に別件で端末を離れた場合にこの端末から不正にアクセスができないように、仮登録ボタンを登録ウェブページに設け、これをクリックすることにより登録内容を一旦登録サーバーに仮保存した状態で通信を切って端末を離れることが可能になった。この場合には登録はまだ完了していない。

遺伝子変異検出装置については近年原理的に異なる多数の方法が考案され紹介されているが感覚器疾患を対象としたもので稼動しているのではない。昨年度の試験によってインベーター法を選択して、今年度は20の変異について患者DNAを用いた実験を行い、100 μ gの患者DNAで十分に検出することが確認された。今回対象とした遺伝子変異は一塩基変異のみで今後デリションやインサクションなどの変異についても検出感度を測定する予定である。インベーター法はPCRを不要とする唯一の方法で、ハイスループが実現可能と思われる。

E. 結論

国立病院、国立療養所、大学病院等からなる感覚器ネットワークを構築してインターネットを利用した症例登録システムの運転を開始した。新たに開発した暗号化ウェブページ <https://niso.kankakuki.go.jp/karte/login.jsp> から東京医療センターのデータ格納用サーバーへ直接症例情報を入力することが可能となった。現在稼働中のプロジェクトは緑内障と加齢黄斑変性で、今後は未熟児網膜症、変性近視、網膜色素変性症、さらに耳鼻科のプロジェクトも構築される予定になっている。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Connie Darmanin, Takeshi Iwata, Deborah A. Carper, Lindsay G. Sparrow, Roland P.-T. Chung, and Ossama El-Kabbani. Expression, purification and preliminary crystallographic analysis of human sorbitol dehydrogenase. *Acta Crystallographica* D59:558-560 (2003)

Shinsuke Umeda, Michihiro T. Suzuki, Yasuhiro Yoshikawa, Fumino Iwata, Keiko Fujiki, Atsushi Kanai, Naoko Sanuki, Yasuhiko Tanaka, and Takeshi Iwata. Cloning and Characterization of ELVLO4 Gene in *Cynomolgus (Macaca fascicularis)* Monkey. *Experimental Animal* 52:(2) (2003)

Kanako Izumi, Yukihiko Mashima, Minoru Obazawa, Yuichiro Ohtake, Tomihiko Tanino, Hiroshi Miyata, Yasuhiko Tanaka, and Takeshi Iwata. Variants of Myocilin Gene in Japanese Patients With Normal Tension Glaucoma. in press

Minoru Obazawa, Yukihiko Mashima, Naoko Sanuki, Setsuko Noda, Jun Kudoh, Nobuyoshi Shimizu, Yasuhiko Tanaka, and Takeshi Iwata. Comparable Analysis of Porcine Optineurin and Myocilin Expression in Trabecular Meshwork Cells and Astrocytes from Optic Nerve Head. In press

2. 学会発表

平成14年度研究発表

T. Iwata, N. Sanuki, K. Fujiki, H. N. Thanh, A. Kanai, S. Umeda, T. Nishiyama, Y. Mashima, Y. Tanaka. Identification of Erythrocyte Antigen PBDX Expressed in Human Cornea Epithelial Cells and Keratocytes. The Association of Research in Vision and Ophthalmology, May 2002, Fort Lauderdale Florida USA

Y. Tanaka, J. Utsumi, T. Sudo, N. Nakamura, K.

Kigasawa, T. Iwata, M. Matsui. Purification, Molecular Cloning and Expression of A Novel Growth Promotive Factor for Retinal Pigment Epithelial Cells, REF-1/TFPI-2. The Association of Research in Vision and Ophthalmology, May 2002, Fort Lauderdale Florida USA

K. Izumi, Q. Zhang, Y. Sergeev, Y. Mashima, S. Noda, Y. Imamura, J. Kudoh, N. Shimizu, Y. Tanaka, T. Iwata. Comparison of Retina Specific Amine Oxidase (AOC2) and Super Family Gene Vascular Adhesion Protein 1 (AOC3) Tandemly Located in Chromosome 17q21. The Association of Research in Vision and Ophthalmology, May 2002, Fort Lauderdale Florida USA

T. Nishiyama, S. Umeda, M. T. Suzuki, Y. Yoshikawa, A. Yasosima, F. Iwata, K. Fujiki, A. Kanai, Y. Tanaka, T. Iwata. Histopathological Study of Drusen Observed in Cynomolgus Monkey (*Macaca fascicularis*). The Association of Research in Vision and Ophthalmology, May 2002, Fort Lauderdale Florida USA

S. Umeda, R. Ayyagari, M. T. Suzuki, Y. Yoshikawa, F. Iwata, K. Fujiki, A. Kanai, Y. Takada, Y. Tanaka, T. Iwata. Molecular Cloning of ELOVL4 Gene from Cynomolgus Monkey (*Macaca Fascicularis*). The Association of Research in Vision and Ophthalmology, May 2002, Fort Lauderdale Florida USA

T. Iwata, M. Obazawa, Y. Mashima, S. Noda, J. Kudoh, N. Shimizu, Y. Tanaka. Cloning, Expression and Characterization of Porcine Myocilin. XV International Congress of Eye Research, October 2002 Geneva, Switzerland

岩田岳、梅田慎介、吉川泰弘、Radha Ayyagari、鈴木通弘、岩田文乃、金井淳、田中靖彦。カニクイザルELOVL4遺伝子のクローニングと発現解析。日本眼科学会 2002年5月（仙台）

泉香奈子、讃岐奈緒子、藤木慶子、Ha Nauyen Thanh、金井淳、梅田慎介、西山隆恒、真島行彦、田中靖彦、岩田岳。ヒト角膜上皮・実質細胞に発現するX染色体遺伝子PBDXの解析。日本眼科学会 2002年5月（仙台）

尾羽澤実、強張、Yuri Sergeev、真島行彦、野田節子、今村裕、工藤純、清水信義、西山隆恒、田中靖彦、岩田岳。Retina Specific Amine Oxidase (AOC2) とタンデムに位置する兄弟遺伝子 Vascular Adhesion Protein 1(AOC3) との比較解析。日本眼科学会 2002年5月（仙台）

西山隆恒、梅田慎介、鈴木通弘、吉川泰弘、鈴木慶子、金井淳、田中靖彦、岩田岳。カニクイザルにみられるドルーゼンの病理組織学的検索。日本眼科学会 2002年5月（仙台）

岩田岳
カニクイザルにみられるドルーゼンの病理組織学的検索
第57回国立病院療養所総合医学会 2002年10月
(福岡)

岩田岳、梅田慎介
カニクイザルELOVL4遺伝子のクローニングと発現解析
第57回国立病院療養所総合医学会 2002年10月
(福岡)

岩田岳
視覚器領域の遺伝子研究
厚生労働科学
第3回感覚器疾患研修会 2002年12月（東京）

岩田岳
若年性黄斑変性カニクイザルの病理学的、生物学的解析
厚生労働科学研究費研究成果等普及啓発事業・感覚器障害研究成果発表会(研究者向け) 2003年2月（東京）

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）
分担研究報告書

前眼部形成不全における PAX6 遺伝子の変異

分担研究者 東 範行 国立成育医療センター眼科医長

研究要旨：先天前眼部形成不全（Peters 奇形を含む）55 例で染色体検査と PAX6 遺伝子変異の検索を行った。1 例で 11 番染色体の短腕欠損が、9 例（家族性 1 家系、孤発例 8 例）で PAX6 変異がみつかった。遺伝子型と表現型に相関はなく、これは Pax6 が下流に膨大な遺伝子を従え、その発現様式に差があるためと思われる。CAT アッセイでは、PAX6 paired domain に存在した変異体は、paired domain の binding consensus に対する binding activity が低下していた。

A. 研究目的

PAX6 遺伝子は、眼形成の master control 遺伝子であり、ヒトでは先天無虹彩、Peters 奇形などの前眼部疾患で変異が見つかっている。しかし、その遺伝子型と変異型の関係に関する検討は少ない。PAX6 遺伝子の変異が先天無虹彩であることはほぼ確立されたが、他の疾患で変異がみつかった報告はまだわずかである。これまでに、我々は多くの眼疾患で PAX6 の変異を発見してきたが、今回は、前眼部形成不全における PAX6 変異を検討した。見つかった変異について、遺伝子型と変異型の関係、および PAX6 変異体蛋白の生化学的検討も行った。

B. 研究方法

1. PAX6 の変異検索

インフォームドコンセントをとった後、先天前眼部形成不全（Peters 奇形を含む）55 例の末梢血を採取し、まず染色体検査を行った。さらに余剰血液からゲノム DNA を調整した。これらの DNA を用いて、PAX6 遺伝子の各 exon を PCR-SSCP 法でスクリーニングした。band shift が認められたものは subcloning を行い、塩基配列を決定した。

2. PAX6 変異体の生化学的研究

正常 PAX6 cDNA あるいは paired domain の変異体（V54D）を強制発現プラスミド pCAGGS に組み込み effector とした。PAX6 paired domain の binding consensus を pCATbasic に組み込み reporter とした。マウス embryonic carcinoma P19 細胞を用い、0.25-4.0 μ g 濃度を変えた effector プラスミドと、0.5 μ g の reporter プラスミドを co-transfection し、蛋白を回収して CAT assay を行った（dose dependent regulatory assay）。

C. 研究結果

1. 先天前眼部形成不全の PAX6 変異

片眼極小眼球、片眼 Peters 奇形を示した 1 例で 11 番染色体の短腕欠損が見出された。併せて Wilms 腫瘍と発達遅滞があり非定型的 WAGR 症候群と思われた。55 例中 9 例（家族性 1 家系、孤発例 8 例）で以下の PAX6 変異がみつかった。Exon 5； A509 \rightarrow C（アミノ酸置換 E31A）、insG888（frameshift）、3'intron 10 塩基挿入、Exon 5a； T20 \rightarrow A（V54D）、Exon 11； 5'C-7intron \rightarrow T、Ex12； T1504 \rightarrow C（S363L）、Exon 13； A1682 \rightarrow G（Q422R）。V54D は 3 例の異なる家系にみられた。これらに遺伝子型と表現型に相関はなかった。

2. PAX6 変異体の生化学的研究

正常 PAX6 cDNA に比べて、paired domain の変異体 V7D は paired domain の binding consensus に対して、量依存的に binding activity が低下し、転写機能が低下していることが示された。

D. 考察

PAX6 はヒト先天無虹彩の原因遺伝子として 1991 年に positional cloning によって発見された。以来多くの変異が見いだされてきたが、他の疾患でも報告はまだ少ない。前眼部形成不全でも数例の変異が発見されているが、今回多くの症例で変異がみつかった。変異の見つからなかった例でも、染色体検査レベルでは検出できない PAX6 遺伝子領域の microdeletion があることも考えられる。しかし、前眼部形成には膨大な遺伝子が関与しており、いずれの遺伝子に変異が起こっても類似した形成異常が起こりえる。したがって、前眼部毛形成異常の候補遺伝子は他に多く存在すると考えられる。

複数の症例で同一変異が見られた V54D 変異は、CAT アッセイで明らかな PAX6 の転写活性低下がみられた。複数例で同一変異がみつかったことは founder effect も否定はできないが、明らかな孤発例もあるので、変異の起こりやすい hot

spot であると考えられる。

前眼部形成異常でこれまで報告された変異はいずれも missense であり、一方先天無虹彩にみられる変異は一般に nonsense、frameshift、splice error で重篤である。先天無虹彩の PAX6 変異は片側の allele が機能しない haploinsufficiency で起こり、一方 missense では両 allele 合計の量不足あるいは dominant negative の機転が働くと考えられている。今回、前眼部不全で frameshift がみつかった。これは遺伝子型と表現型が必ずしも一致しないことも考えられるが、重症無虹彩と Peters 奇形は、いずれも角膜が混濁するので、臨床的に区別が付きにくくなったことも考えられる。

PAX6 は眼発生のさまざまな時期に発現し、しかも下流に膨大な遺伝子を支配しているため、これらのわずかな発現様式の差が臨床型の違いを起こすと思われる。しかし、その様式は、本来同一個人では同じであり、このため一症例の左右眼の所見には差がなかったと説明できる。いしかえれば、眼発生のさまざまな時期に発現し、しかも下流に膨大な遺伝子を支配しているため、これら下流遺伝子のわずかな発現様式に差が起こっても表現型に違いが起こるためと思われる。その発現様式は、個人差があるものの、同一個人内では同じであり、このため症例間では表現型が多彩になる一方で、一個人の左右眼の所見には差がなかったと説明できる。

今後は、これらの変異体を用いた in vivo の系で、疾患の成立機転に関する研究をさらに行う必要がある。

E. 結論

先天前眼部形成不全 55 例で染色体検査と PAX6 遺伝子変異の検索を行い、1 例で 11 番染色体の短腕欠損が、9 例で PAX6 の変異がみつかった。PAX6 paired domain の変異体は生化学的に転写活性が低下していることが確認された。遺伝子型と表現型に相関はなかったが、Pax6 の発現様式の差とともに類縁疾患との間に臨床像の区別が付きにくい境界例があるためと思われた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kamata Y, Tanabe A, Kanaji A, Kosuga M, Fukuhara Y, Li X-K, Suzuki S, Yamada M, Azuma N, Okuyama T. Long-term normalization in the central nervous system, ocular manifestations, and skeletal deformities by a single systemic adenovirus injection into neonatal mice with mucopolysaccharidosis.

Gene Therapy 2002; in press.

Kamata Y, Okuyama T, Kosuga K, O'hira A, Kanaji A, Sasaki K, Yamada M, Azuma N. Adenovirus-mediated gene therapy for corneal clouding in mice with mucopolysaccharidosis type VII. Mol Ther 4:307-312, 2001.

Kawase E, Azuma N. A case of atypical WAGR syndrome with anterior segment anomaly and microphthalmos. Arch Ophthalmol 119: 1855-1856, 2001.

Nishina S, Azuma N. Severe macular pucker after infantile retinal detachment surgery. Br J Ophthalmol 86:354-355, 2002.

Sano Y, Yamada J, Ishino Y, Adachi W, Kawasaki S, Suzuki T, Kinoshita S, Okuyama T, Azuma N. Non-cleavable mutant Fas ligand transfection of donor cornea abrogates ocular immune privilege. Exp Eye Res 75:475-83, 2002

Ayaki M, Ohoguro N, Azuma N, Majima Y, Yata K, Ibaraki N, Singh DP, Ko V, Shinohara T. Detection of cytotoxic anti-LEDGF autoantibodies in atopic dermatitis. Autoimmunity 35:319-27, 2002

Mashima Y, Suzuki Y, Sergeev Y, Ohtake Y, Tanino T, Kimura I, Miyata H, Aihara M, Tanihara H, Inatani M, Azuma N, Iwata T, Araie M. Novel cytochrome P4501B1 (CYP1B1) gene mutations in Japanese patients with primary congenital glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 42:2211-2216, 2001

仁科幸子・新井千賀子・越後貫滋子・赤池祥子・富田 香・守田好江・千田耕基・東 範行. 乳幼児のロービジョンケアの現状と問題点—医療機関と教育機関の共同ケアによる成果. 眼臨医 96:37-61, 2002.

仁科幸子・越後貫滋子・赤池祥子・三井田千春・東 範行・富田 香. 視覚障害児に対する遮光レンズ選定のためのコントラストグレアテストの利用. 眼臨医 96:395-399, 2002

東 範行. 分子生物学による疾患の解明—眼形態形成遺伝子とその変異—. 眼科 44:813-821, 2002.

東 範行. 先天白内障の問題点. 日眼会誌 106:263-264, 2002.

東 範行. 検眼鏡による視神経乳頭のみかた. 眼科診療プラクティス 5:2-11, 2002.

東 範行. 機能弱視. 薬の知識 53:2-4, 2002.

東 範行. 国立成育医療センター. 日本の眼科 73:879-890, 2002.

東 範行. 見下すことによって距離を判断する. 日本の眼科 73:225-226, 2002.

東 範行. 骨髄由来の網膜血管新生. 日本の眼科 73:995-996, 2002.

東 範行. 分子生物学による疾患の解明. 日眼会誌増刷「20世紀における眼科学の総括」 259-262, 2002.

2. 学会発表

東 範行. ワークショップ 視覚進化と高等動物の視覚. 日本分子生物学会 2001年12月(横浜)

川瀬英理子・山田正夫・東 範行. Pax6 と Pax2 の相互作用. 日本分子生物学会 2001年12月(横浜)

東 範行. 小児の視覚. 東京都眼科医会 2001年12月(東京)

東 範行. 小児の視覚障害とその管理. 神奈川県眼科医会 2002年2月(横浜)

東 範行. 眼の形態形成遺伝子とその変異. 感覚器障害研究講演会 2002年2月(東京)

東 範行. 眼の形態形成遺伝子. 宮崎眼科医会 2002年2月(宮崎)

東 範行. シンポジウム「20世紀の総括」分子生物学による疾患の解明. 日本眼科学会 2002年5月(仙台)

東 範行. 講習会 小児眼科の診療「後眼部疾患」. 日本小児眼科学会 2002年4月(豊橋)

川瀬英理子・山田正夫・東 範行. Pax6 と Pax2 の相互作用. 日本小児眼科学会 2002年4月(豊橋)

仁科幸子・東 範行・宮内 潤・金子 剛. 眼瞼に再発を繰り返した若年性黄色肉芽腫の1例. 日本小児眼科学会 2002年4月(豊橋)

Kamata Y, Tanabe A, Kanaji A, Kosuga M, Fukuhara Y, Li X-K, Suzuki S, Yamada M, Azuma N, Okuyana

T. Long-term normalization in the central nervous system, ocular manifestations, and skeletal deformities by a single systemic adenovirus injection into neonatal mice with mucopolysaccharoidosis. 米国遺伝子治療学会 2002年6月(ボストン)

東 範行. シンポジウム 眼の形態形成遺伝子の機能と眼先天異常における変異. 日本先天異常学会 2002年6月(宮崎)

東 範行. 電子カルテ. Japan Macula Club 2002年8月(蒲郡)

東 範行. 小児の視覚障害とその管理. 信州眼科医会 2002年9月(松本)

東 範行. 電子カルテ. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

東 範行. 生涯教育講習会 乳幼児の集団検診. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

川瀬英理子・山田正夫・東 範行. 視神経先天異常における PAX6 遺伝子の変異. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

野田英一郎・仁科幸子・東 範行. 小角膜を伴う両眼先天白内障の手術成績. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

仁科幸子・東 範行. 乳幼児における遮断弱視の治療経過. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

鎌田裕子・仁科幸子・川瀬英理子・高本紀子・東 範行・河村益徳. 眼科診療における電子カルテ運用のためのデータファイリングシステムの効用. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

綾木 雅彦・大黒伸行・末野利治・東 範行・馬嶋清如・他: アトピー性皮膚炎患者では水晶体上皮細胞由来の自己抗体が高い. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

仁科幸子・野田英一郎・東 範行. 重複障害児における両眼先天・発達白内障術後のハビリテーション. 日本ロービジョン学会 2002年10月(仙台).

東 範行. 特別講演 眼を作るしくみ. 九州硝子体研究会 2002年10月(宮崎)

東 範行. 眼の形成と Pax6. 開放的融合研究

公開シンポジウム「ゲノム機能から個体発生を探
る」2002年10月（東京）

H. 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

先天異常症の包括的診療支援体制に関する検討

国立成育医療センター 遺伝診療科 奥山 虎之

研究要旨：国立成育医療センターを中心とした遺伝子医療ネットワークの構築について検討した。特に、症状診断（とくに外表奇形の *Dysmorphological* な評価や骨 X 線写真の読影）を正確に行なうワークグループを組織的に運用する必要性、および倫理面への配慮のもとに、診療情報を一元的に管理する安全なコンピューターネットワークの設立の必要性を指摘した。

A. 研究目的

平成 14 年 3 月に、国立成育医療センターが開設された。この病院は、前身の国立小児病院の機能を拡大・充実させた、小児・周産期医療（成育医療）を担うわが国初のナショナルセンターである。国立成育医療センターには国立小児病院にはなかった新しい診療科として遺伝診療科が設立された。同診療科は、国立成育医療センターにおける診療業務だけでなく、遺伝医療における全国規模のネットワークの中心的存在となることが期待されている。国立成育医療センターがナショナルセンターとして果たすべき役割は多いが、先天異常症の包括的診療支援体制を確立することは、最も重要な課題のひとつである。そこで、遺伝性疾患のなかでも特に診断に苦慮する機会が多い骨系統疾患を例にとり、包括的遺伝子診療支援体制の構築について検討した。

B. 研究方法

遺伝性骨系統疾患の包括的遺伝子診療システムの構築

小児・周産期医療において、稀少遺伝性疾患、とくに奇形症候群の診断に苦慮することは少なくない。一方、近年の分子遺伝学の進歩により、DNA 診断が確定診断として有用となるケースも増加している。そこで、臨床診断、画像診断および DNA 診断を有機的に連携させて骨系統疾患の包括的診療支援体制の構築について検討した。

C. 研究結果

遺伝性骨系統疾患の包括的遺伝子診療システムの構築

骨系統疾患の包括的診療支援体制の構築に向けて、図に示すような診療支援体制を構築した（図 1）。すなわち遺伝診療科と放射線診断部が協力して臨床診断と画像診断から疾患を絞り込み、必要に応じて遺伝子解析を行なえる体制を整備した。

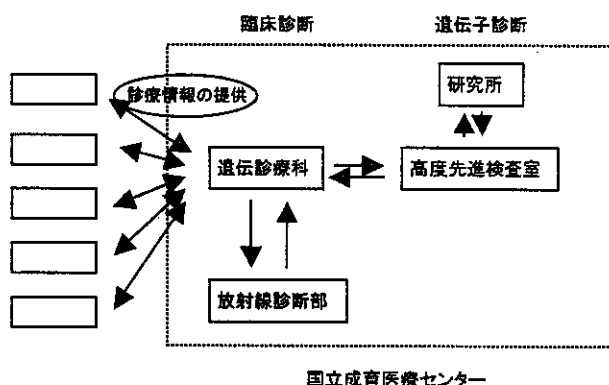


図 1. 骨系統疾患の包括的診断システムについて。上記のシステムにより診断が困難な多数の骨系統疾患の診断が可能になっているだけでなく、**Phenotype-Genotype Correlation** に関する研究などの臨床遺伝学的研究の発展にも寄与している。

D. 考察

国立成育医療センターは、臨床診断・画像診断・遺伝子診断をひとつの施設で自己完結的に行なえる数少ない医療機関のひとつである。ほとんどの医療施設では、そのすべてを一施設で行なうことは困難であり、それぞれの専門施設を結ぶネットワークが必要となる。とくに、コンピューターネットワークを活用することは、利便性、簡便性、経済性などを考慮するともっとも望ましいものであるが、一方では個人の診療情報の漏洩などの問題があり、プライバシーへの配慮を十分に行なう必要がある。また、遺伝子診断を行なう際に、不可欠な検査前の遺伝カウンセリングを以下に行なうかは、遺伝専門医が絶対的に不足している現状では大きな問題である。次年度では、とくに、双方向性の情報交換におけるコンピューターネットワークの問題について検討し、安全でかつ有用な遺伝子診療システムの構築を目指す予定で

ある。あわせて、症状診断（とくに外表奇形の Dysmorphological な評価や骨 X線写真の読影）を正確に行なうワークグループを運用するための組織作りや、検査前プレカウセリングの具体的なガイドライン作成などの問題にも言及したい。

E. 結論

遺伝子医療の基盤整備の一環として、遺伝性骨系統疾患の包括的遺伝子診療システムの構築と多施設共同研究計画に考慮すべき諸課題について検討した。

F. 研究発表

Takahashi M, Deb NJ, Kawashita Y, Lee SW, Furgue J, Okuyama T, Roy-Chowdhury N, Bhadrasain Vikram, Jayanta Roy-Chowdhury, Guha C. A Novel strategy for in vivo expansion of transplanted hepatocytes using preparative hepatic irradiation and FasL-induced hepatocellular apoptosis. **Gene Therapy** (in press)

Kamata Y, Tanabe A, Kanaji A, Kosuga M, Fukuhara Y, Li XK, Suzuki S, Yamada M, Azuma N, Okuyama T. Long-term normalization in the central nervous system, ocular manifestations, and skeletal deformities by a single systemic adenovirus injection into neonatal mice with mucopolysaccharidosis VII. **Gene Therapy** (in press)

Kurosawa K, Sasaki H, Sato Y, Yamanaka M, Shimizu M, Ito Y, Okuyama T, Matsuo M, Imaizumi K, Kuroki Y, Nishimura G. Paternal UPD14 is responsible for a distinctive malformation complex. **Am J Med Genet** 110:268-272, 2002.

Li XK, Kosuga M, Tokieda K, Kanaji A, Fukuhara Y, Hashimoto M, Okabe K, Yaginuma H, Yamada M, Suzuki S, Okuyama T. Prolongation of transgene expression by coexpression of cytokine response modifier a in rodent liver after adenoviral gene transfer. **Mol Ther** 5: 262-268, 2002.

Fujino M, Li XK, Guo L, Kitazawa Y, Funeshima N, Fukuda S, Kimura H, Miyashita T, Okuyama T, Amano T, Suzuki S. T-cell apoptosis triggered by FTY720 via mitochondrial pathway. **Transplant Proc** 33: 3084-3085, 2002.

Sano Y, Yamada J, Ishino Y, Adachi W, Kawasaki S, Suzuki T, Kinoshita S, Okuyama T, Azuma N. Non-cleavable mutant Fas ligand transfection of donor cornea abrogates ocular immune privilege. **Exp Eye Res** 75:475-83, 2002.

Abe Y, Takamura M, Sawada M, Hisano M, Tsuji Y, Saikawa N, Okuyama T, Odajima Y, Fujita K,

Chikaoka H, Iikura Y. Case of insertion, inversion and deletion of chromosome 6. **Pediatr Int** 44:530-533, 2002.

遺伝性疾患の治療：小児科学第 2 版、医学書院
248-251 2002 年 3 月

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Connie Darmanin, <u>Takeshi Iwata</u> , Deborah A. Carper, Lindsay G. Sparrow, Roland P.-T. Chung, and Ossama El-Kabbani.	Expression, purification and preliminary crystallographic analysis of human sorbitol dehydrogenase.	<i>Acta Crystallographic a</i> 558-560	D59	558-560	2003
Shinsuke Umeda, Michihiro T. Suzuki, Yasuhiro Yoshikawa, Fumino Iwata, Keiko Fujiki, Atsushi Kanai, Naoko Sanuki, Yasuhiko Tanaka, and <u>Takeshi Iwata</u> .	Cloning and Characterization of ELVL04 Gene in Cynomolgus (<i>Macaca fascicularis</i>) Monkey.	<i>Experimental Animal</i>	52:(2)		2003
Takahashi M, Deb NJ, Kawashita Y, Lee SW, Furgue J, <u>Okuyama T</u> , Roy-Chowdhury N, Bhadrasain Vikram, Jayanta Roy-Chowdhury, Guha C.	A Novel strategy for in vivo expansion of transplanted hepatocytes using preparative hepatic irradiation and FasL-induced hepatocellular apoptosis.	Gene Therapy (in press)			
Kamata Y, Tanabe A, Kanaji A, Kosuga M, Fukuhara Y, Li XK, Suzuki S, Yamada M, Azuma N, <u>Okuyama T</u> .	Long-term normalization in the central nervous system, ocular manifestations, and skeletal deformities by a single systemic adenovirus injection into neonatal mice with mucopolysaccharidosis VII.	Gene Therapy (in press)			
Kurosawa K, Sasaki H, Sato Y, Yamanaka M, Shimizu M, Ito Y, <u>Okuyama T</u> , Matsuo M, Imaizumi K, Kuroki Y, Nishimura G.	Paternal UPD14 is responsible for a distinctive malformation complex.	Am J Med Genet	110	268-272	2002
Li XK, Kosuga M, Tokieda K, Kanaji A, Fukuhara Y, Hashimoto M, Okabe K, Yaginuma H, Yamada M, Suzuki S, <u>Okuyama T</u> .	Prolongation of transgene expression by coexpression of cytokine response modifier a in rodent liver after adenoviral gene transfer.	Mol Ther	5	262-268	2002
Fujino M, Li XK, Guo L, Kitazawa Y, Funeshima N, Fukuda S, Kimura H, Miyashita T, <u>Okuyama T</u> , Amano T Suzuki S.	T-cell apoptosis triggered by FTY720 via mitochondrial pathway.	Transplant Proc	33	3084-3085	2002
Sano Y, Yamada J, Ishino Y, Adachi W, Kawasaki S, Suzuki T, Kinoshita S, <u>Okuyama T</u> , Azuma N.	Non-cleavable mutant Fas ligand transfection of donor cornea abrogates ocular immune privilege.	Exp Eye Res	75	475-83	2002
Abe Y, Takamura M, Sawada M, Hisano M, Tsuji Y, Saikawa N, <u>Okuyama T</u> , Odajima Y, Fujita K, Chikaoka H, Iikura Y.	Case of insertion, inversion and deletion of chromosome 6.	Pediatr Int	44	530-533	2002
Kamata Y, Tanabe A, Kanaji A, Kosuga M, Fukuhara Y, Li X-K, Suzuki S, Yamada M, Azuma N, Okuyama T.	Long-term normalization in the central nervous system, ocular manifestations, and skeletal deformities by a single systemic adovirus injection into neonatal mice with mucopolysaccharoidosis.	Gene Therapy 2002; in press			
Kamata Y, Okuyama T, Kosuga K, O'hira A, Kanaji A, Sasaki K, Yamada M, Azuma N.	Adenovirus-mediated gene therapy for corneal clouding in mice with mucopolysaccharidosis type VII.	Mol Ther	4	307-312	2001

Kawase E, Azuma N.	A case of atypical WAGR syndrome with anterior segment anomaly and microphthalmos.	Arch Ophthalmol	119	1855-1856	2001
Nishina S, Azuma N.	Severe macular pucker after infantile retinal detachment surgery.	Br J Ophthalmol	86	354-355	2002
Sano Y, Yamada J, Ishino Y, Adachi W, Kawasaki S, Suzuki T, Kinoshita S, Okuyama T, Azuma N.	Non-cleavable mutant Fas ligand transfection of donor cornea abrogates ocular immune privilege.	Exp Eye Res	75	475-83	2002
Ayaki M, Ohoguro N, Azuma N, Majima Y, Yata K, Ibaraki N, Singh DP, Ko V, Shinohara T.	Detection of cytotoxic anti-LEDGF autoantibodies in atopic dermatitis.	Autoimmunity	35	319-27	2002
Mashima Y, Suzuki Y, Sergeev Y, Ohtake Y, Tanino T, Kimura I, Miyata H, Aihara M, Tanihara H, Inatani M, Azuma N, Iwata T, Araie M.	Novel cytochrome P4501B1 (CYP1B1) gene mutations in Japanese patients with primary congenital glaucoma.	Invest Ophthalmol Vis Sci	42	2211-2216	2001

20020664

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。