

- xeroderma pigmentosum cells. The 5th International Investigative Dermatology 2008.5.14-17 (Kyoto)
- (2) Imoto K, Nadem C, Moriwaki S, Nishigori C, Oh KS, Khan SG, Goldstein AM, Kraemer KH Ancient origin of a Japanese xeroderma pigmentosum founder mutation. The 5th International Investigative Dermatology 2008.5.14-17 (Kyoto)
- (3) Masaki T, Ono R, Tanioka M, Nagano T, Funasaka Y, Moriwaki S, Nishigori C Founder mutations in the DNA polymerase eta gene in Japanese patients diagnosed as xeroderma pigmentosum variant type. The 5th International Investigative Dermatology 2008.5.14-17 (Kyoto)
- (4) Hirata Y, Nakanishi T, Moriwaki S, Takubo T, Kiyokane K Identification of alpha-enolase autoantibody in sera derived from a patient with melanoma by autoantibodiomics . The 5th International Investigative Dermatology 2008.5.14-17 (Kyoto)
- (5) Yoshida H, Yamazaki K, Takahashi Y, Fujita S, Miyake J, Moriwaki S, Sugiyama Y High-throughput screening for gene function related to UV response using reverse transfection of siRNAs from solid surface. The 5th International Investigative Dermatology 2008.5.14-17 (Kyoto)
- 国内学会
- (1) 森脇真一 出生前診断 第31回遺伝カウンセリングリフレッシュセミナー 平成20年1月12日(大阪)
- (2) 森脇真一 皮膚科領域の遺伝医療～遺伝性光線過敏症を中心に～第18回日本臨床化学会近畿支部総会 平成20年2月23日
- (3) 森脇真一 色素性乾皮症の出生前診断 第37回UV-ABCclub 平成20年3月1日(大阪)
- (4) 森脇真一 日光浴でどうして老化するの?～光老化とDNA修復 第13回スキンケア研究会 平成20年3月4日(静岡)
- (5) 平田結衣、清原忠彦、東耕一郎、伊木まり子、森脇真一、清金公裕 表在性皮膚悪性腫瘍に対する光線力学療法～スーパーライザーを用いた試み～第18回日本光線力学学会 平成20年6月15日(名古屋)
- (6) Masafumi O, Mitsuyama S, Ito S, Ito F, Moriwaki S, Shimizu N, Minoshima S Extensive data addition and new analytical function for protein domains 第67回日本癌学会学術総会 平成20年10月28日(名古屋)

「色素性乾皮症やコケイン症候群における ヌクレオチド除去修復、転写の異常」に関する研究

研究分担者 田中亀代次 大阪大学大学院生命機能研究科教授

研究要旨

ヌクレオチド除去修復（nucleotide excision repair: NER）機構に異常を持つ色素性乾皮症（xeroderma pigmentosum: XP）、コケイン症候群（Cockayne syndrome: CS）、紫外線高感受性症候群（UV-sensitive syndrome: UV'S）の原因遺伝子産物の機能解析や、その欠損による分子病態の解析を行った。遺伝子ターゲティング法により我々が作成した A 群 XP 遺伝子欠損 *Xpa* (-/-) マウスにおいて、精巣が加齢依存性に変性していくこと、自然発ガン頻度が高く種々の腫瘍が各臓器に発症することを見つけ、高頻度日光皮膚がん発症以外でも *Xpa* (-/-) マウスは XP-A 患者の良いモデルになることを示唆した。UV'S 患者 UV'IKO は *CSB* 遺伝子のヌル突然変異をホモ接合性に持ち、*CSB* 蛋白質は完全に欠損していた。他方、CS 徴候を示す CS-B 患者では何らかの短縮 *CSB* 蛋白質が生成されていた。これらの結果から、短縮 *CSB* 蛋白質が何らかの gain-of-function をもち、それが CS 徴候の原因になっていることが示唆された。正常型及び短縮 *CSB* 蛋白質と結合する蛋白質を同定し、その機能を短縮 *CSB* 蛋白質が阻害することを見いだした。一方、臨床的には同じ UV'S 徴候を示し TCR 能が欠損している患者 *Kps3* ではあるが、*CSB* 遺伝子を始め既知の NER や TCR 因子の遺伝子に突然変異を持たないことを確認した。*Kps3* 原因遺伝子は新規 TCR 因子をコードしていると考えられたので、その遺伝子クローニングを試みた。

A. 研究目的

ヌクレオチド除去修復（NER）は、紫外線や活性酸素による損傷を始め多様な DNA 損傷を修復できる重要な遺伝情報維持機構である。NER 機構に異常をもつヒト遺伝疾患として、日光露出部位での高頻度皮膚がんや種々の神経症状を示す色素性乾皮症（XP）、身体発育不全、精神神経症状や早期老化を示すコケイン症候群（CS）、CS の重症型である cerebro-oculo-facio-skeletal syndrome（COFSS）、軽微な日光過敏性や色素斑を示す紫外線高感受性症候群（UV'S）などが知られており、NER の重要性が示唆される。NER 異常を示す XP には XP-A ~ XP-G の 7 つ、CS には CS-A と CS-B の 2 つの遺伝的相補性群が存在し、それぞれの原因遺伝子は既にクローニングされている。また、NER 機構には、転写を阻害し細胞死を誘発する転写鎖上の DNA 損傷を特異

的に修復する「転写と共役した修復」（transcription-coupled repair: TCR）機構と、非転写鎖上や非転写部位の DNA 損傷も修復する「ゲノム全体の修復」（global genome repair: GGR）の 2 つの経路が存在する。CS や UV'S では TCR 機構が選択的に欠損している。本研究では、XP や CS の原因遺伝子産物である XPA、XPE、XPF、XPG、XPD、CSA、CSB の機能解析を行い、NER や TCR の分子機構の解明、XP や CS の分子病態の解明を研究目的とした。

B. 研究方法

色素性乾皮症（XP）やコケイン症候群（CS）の遺伝子産物の病理学的、生化学的、分子生物学的機能解析（トランスクリプトーム、プロテオーム解析を含む）を行った。また、RNAi によるノックダウン細胞の作成により、細胞レベルでの当該遺伝子の

機能の解明を行った。さらに、原因遺伝子が未知の遺伝疾患 (COFSS, UV'S 等) について、微小核導入法を用い、原因遺伝子の同定を試みた (ゲノミクス解析)。

(倫理面への配慮)

本研究で使用する試料は、既に細胞バンクに登録され、学術論文に発表されている患者由来の皮膚繊維芽細胞であり、個人情報に連結不可能匿名化された状態で研究用に広く一般に利用されている細胞である。従って、これらの試料を研究に使用するにあたっては、インフォームド Consent、個人情報管理体制などは免除されると考えられる。

C. 研究結果

(C-1) A 群 XP 遺伝子欠損 *Xpa* (-/-) マウスにおける加齢に依存した精巣の変性と高頻度自然内部臓器発癌:

遺伝子ターゲティング法により我々が作成した A 群 XP 遺伝子欠損 *Xpa* (-/-) マウス、及び *Xpa* (+/+) マウスを SPF 条件下で 2 年間飼育し、各臓器重量の測定と病理学的検査を行った (DNA Repair, 7: 1938-1950, 2008)。Fig. 1 に示すように、*Xpa* (-/-) マウスでは、精巣の重量が加齢依存的に減少していった。生後 3 ヶ月、6 ヶ月、12 ヶ月、24 ヶ月での精巣の病理所見を Fig. 2 に示す。*Xpa* (+/+) マ

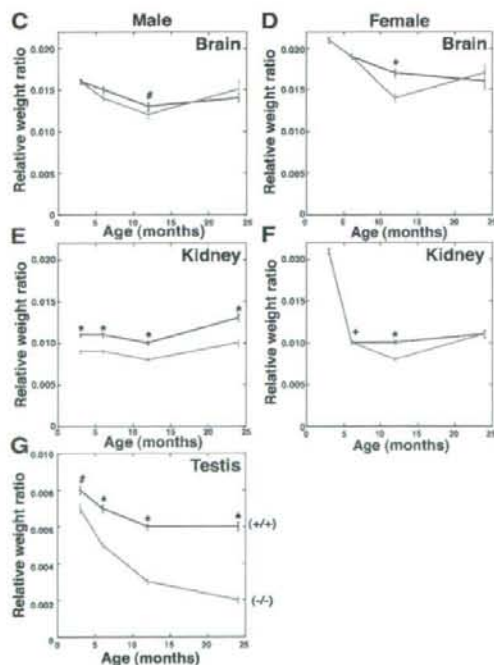


Fig. 1

ウスでは経過中とくに変化がなかったのに対し、*Xpa* (-/-) マウスでは加齢と共に spermatogonia、spermatocyte が減少し、生後 12 ヶ月では多くの空胞が精細管に認められた。この精巣変性の病因同定には至らなかったが、おそらく酸化 DNA 損傷の蓄積が関与していると推測される。一方、自然内部臓器癌の発生は、Table 1 にあるように、*Xpa* (-/-) マウスの方で、より早期に多様な癌の発生が認められた。精巣の異常、高頻度の自然内部臓器発癌はヒト XP-A 患者で認められるものであり、*Xpa* (-/-) マウスがヒト XP-A の良いモデルになることを示唆した。

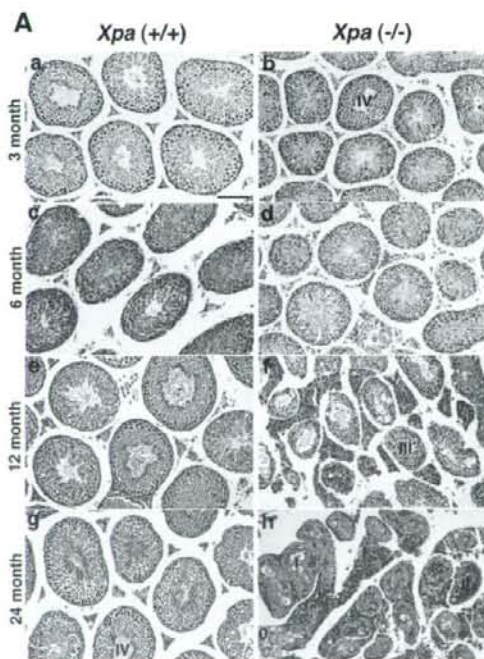


Fig. 2

Table 1

Type of tumor	<i>Xpa</i> (-/-)		<i>Xpa</i> (+/+)	
	12mo. No./% of tumor incidence	24*mo. No./% of tumor incidence	12mo. No./% of tumor incidence	24*mo. No./% of tumor incidence
Lung cancer (adenocarcinoma, alveolar tumor)	1 (1.8)	3 (5.9) ^{NS}	0	3 (5.8)
Hepatocellular carcinoma(HCC)	0	4 (7.8) ^{NS}	0	1 (1.9)
Malignant lymphoma	3 (5.5)	8 (15.7) ^{NS}	0	6 (11.5)
Other cancer				
hemangiomas	0	1 (2)	0	0
renal cell carcinoma	0	1 (2) ^{NS}	0	0
squamous cell carcinoma	0	1 (2)	0	0
Total	4 (7.3)	18 (35.3)	0	10 (19.2)

Xpa (-/-) mice bearing multiple tumors
 a) lung cancer, hepatocellular carcinoma
 b), c) lung cancer, malignant lymphoma
 d) hepatocellular carcinoma, renal cell carcinoma

*24 month old mice contained 18, 21 month old mice.
 () : % of tumor incidence

(C-2) CSA 複合体の機能解析:

紫外線損傷を受けた細胞では、BRCA1/BARD1 や NEDD4 により RNA ポリメラーゼ II (RNAPII) 最大サブユニット (Rpb1) がユビキチン化されることが報告されている。しかし、TCR 機構との関係は不明である (Fig. 3)。一方、CSA が DDB1、Roc1、Cullin4A、COP9 signalosome と複合体を形成し、ユビキチンリガーゼ (E3) 活性を持つことを明らかにした (Cell, 113: 357-367, 2003)。本年度は CSA 複合体 E3 の機能解析を進め、Rpb1 が CSA 複合体 E3 によりユビキチン化されることを明らかにした (Fig. 3)。そして、CSA 複合体 E3 でユビキチン化される Rpb1 のリジン残基を特定した。このリジン残基を他のアミノ酸に置換した Rpb1 からなる PNAPII を発現する細胞を樹立しつつある。その TCR 機能の異常の有無について調べる計画である。

(C-3) XPG の転写機能の解析:

XPG が、転写と NER に必須の TFIIF と安定な複合体を形成し、転写活性化に関わることを見いだした。しかも、XP-G/CS 患者ではこの XPG-TFIIF 複合体が不安定となり、TFIIF による核内レセプターの活性化が起こらないことを明らかにし、コケイン徴候が転写の異常にも起因することを示唆した (Molecular Cell, 26: 231-243, 2007)。本年度は、基本転写系や、EGF 刺激に応答した *c-fos* や *jumb* 遺伝子といった前期初期遺伝子の発現を定量し、転写に XPG が関与するか否かを明らかにすべく研究を進めた。

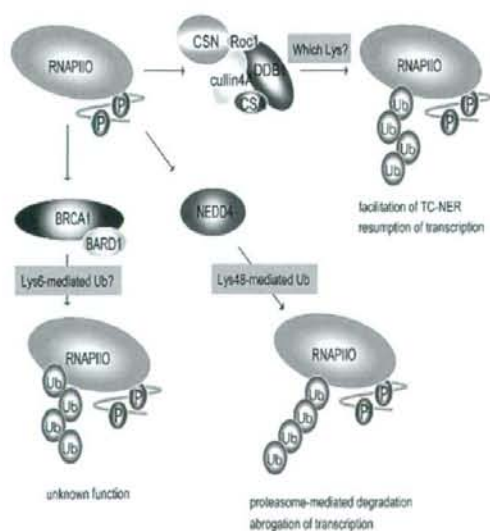


Fig. 3

(C-4) XAB2 複合体の解析

XPA、CSA、CSB、RNAPII と細胞内で相互作用し、転写や TCR に関与する XAB2 蛋白質を単離した (J. Biological Chemistry, 275: 34931-34937, 2000)。本研究では、XAB2 を蛋白質複合体として精製し、mRNA スプライシングに関与することが示唆される 6 つの因子からなることを明らかにした。また、XAB2 と XPA、XAB2 と PolIII の相互作用が DNA 損傷を受けた細胞内で増強することを確認した。XAB2 を siRNA によりノックダウンした細胞を作成したところ、紫外線高感受性を示すと共に、RNA 合成及び mRNA スプライシングの異常を示した (J. Biological Chemistry, 283: 940-950, 2008)。他方、Mullenders の研究グループにより、XAB2 は、紫外線損傷部位で転写を停止した RNAPII と CSA と CSB 依存性に結合することが明らかにされ、XAB2 が TCR 因子であるという我々の結果を支持した。我々の成果は、TCR 機構の解明に貢献するものである。

(C-5) UV'S の解析:

紫外線高感受性症候群 (UV'S) は、CS と同様に TCR に異常をもつが、CS 徴候を示さず軽度の XP 様皮膚症状を示すのみである。UV'S の 1 例 (UV'IKO) では CSB 遺伝子のヌル突然変異により、CSB 蛋白質が全く生成されていない。他方、CS 徴候を示す CS-B 患者では短縮 CSB タンパク質が安定に発現していることを明らかにした (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 101: 15410-15415, 2004)。この結果から、CS-B 患者ではその短縮 CSB 蛋白質が何らかの細胞機能阻害効果を持つ (gain of function) ことが CS 徴候の原因になっていると考えられる (Figure 4)。

そこで、正常型及び短縮 CSB 蛋白質と結合する蛋白質を同定し、その機能を短縮 CSB 蛋白質が阻害することを見いだした。一方、臨床的には同じ

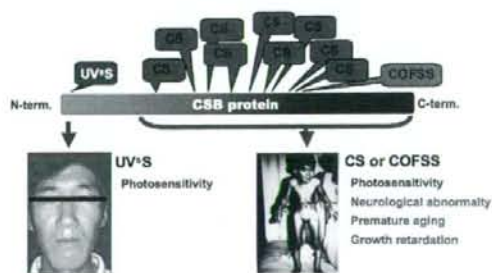


Fig. 4

UV'S 徴候を示し TCR 能が欠損している患者 Kps3 ではあるが、CSB を始め、既知の NER や TCR 因子の遺伝子に突然変異は見つからなかった (UV'S-A と命名)。Kps3 は新規 TCR 遺伝子に変異を持つと考えられるので、単一染色体導入法を用いた責任染色体の同定、さらに位置情報をもとにした原因遺伝子のクローニングに向けて実験を進展させた。

E. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Isao Kuraoka, Shinsuke Ito, Tadashi Wada, Mika Hayashida, Lily Lee, Masafumi Saijo, Yoshimichi Nakatsu, Megumi Matsumoto, Tsukasa Matsunaga, Hiroshi Handa, Jun Qin, Yoshihiro Nakatani and Kiyoji Tanaka. Isolation of XAB2 complex involved in pre-mRNA splicing, transcription and transcription-coupled repair. *J. Biological Chemistry*, 283: 940-950, 2008.
- (2) Hironobu Nakane Seiichi Hirota, Philip J. Brooks, Yusaku Nakabeppu, Yoshimichi Nakatsu, Yukihiko Kitamura, Yoshitake Nishimune, Akihiro Iino, and Kiyoji Tanaka. Impaired spermatogenesis and elevated spontaneous tumorigenesis in xeroderma pigmentosum group A gene (*Xpa*) -deficient mice. *DNA Repair*, 7: 1938-1950, 2008.
- (3) Kiyoji Tanaka and Shinsuke Ito. Transcription-Coupled Repair and Its Defect in Cockayne Syndrome. In "*Molecular Mechanisms of Cockayne Syndrome*", Landes Bioscience, in press (will be published on April 1, 2009)
- (4) Lin Ni, Makio Saeki, Li Xu, Hirokazu Nakahara, Masafumi Saijo, Kiyoji Tanaka, and Yoshinori Kamisaki. RPAP3 interacts with Reptin to regulate UV-induced phosphorylation of H2AX and DNA damage. *J. Cellular Biochemistry*, in press (2009).
- (5) Katsuyoshi Horibata, Masafumi Saijo, Li Lan, Akira Yasui, Mui Nee Bay, Isao Kuraoka, Philip J. Brooks, and Kiyoji Tanaka. Mutant CSB proteins inhibit repair of topoisomerase I-DNA covalent complex: Implications for Cockayne syndrome. submitted

2. 学会発表

- (1) Kiyoji Tanaka and Katuyoshi Horibata. Truncated CSB protein causes a defect in repair of DNA topoisomerase I-associated lesions: Implication for Cockayne syndrome. 6th 3R Symposium, October 27-30, 2008, Shizuoka, Japan.
- (2) 堀端克良、田中亀代次 「CSB 蛋白質の機能とコケイン症候群の発症」第 67 回日本癌学会総会シンポジウム「DNA 修復ネットワークの異常と発癌」平成 20 年 10 月 29 日、名古屋
- (3) 堀端克良、田中亀代次 「CSB 遺伝子突然変異により発症するヒト遺伝疾患の分子病態」第 31 回日本分子生物学会年会 第 81 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2008) 平成 20 年 12 月 11 日、神戸
- (4) 竹立新人、西條将文、田中亀代次 「ユビキチンリガーゼ活性を持つ DDB2 複合体の機能解析」BMB2008 平成 20 年 12 月 11 日、神戸
- (5) Li Jing Tang, Masafumi Saijo, Isao Kuraoka, Kiyoji Tanaka. "Analysis of the interaction between XPF and human kinesin protein EG5". BMB2008 平成 20 年 12 月 11 日、神戸
- (6) Xue Zhang, Chie Ishigami, Katsuyoshi Horibata, Kiyoji Tanaka. "Molecular basis of UV-sensitive syndrome with deficiency in transcription-coupled repair". BMB2008 平成 20 年 12 月 11 日、神戸
- (7) 下田鮎美、西條将文、竹立新人、伊藤伸介、田中亀代次 「紫外線を照射した細胞のクロマチン画分における XPG と XPA の相互作用の解析」BMB2008 平成 20 年 12 月 11 日、神戸
- (8) 成田央、伊藤伸介、谷本雅史、山口雄輝、半田宏、田中亀代次 「ヌクレオチド除去修復に関わる構造特異的エンドヌクレアーゼ XPG の機能解析」BMB2008 平成 20 年 12 月 11 日、神戸

F. 知的所有権の出願・取得状況 (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

神経皮膚症候群に関する調査研究 色素性乾皮症の神経障害に関する臨床神経病理学的研究

研究分担者 林 雅晴 東京都神経科学総合研究所神経発達・再生
副参事研究員

研究要旨

色素性乾皮症（XP）の神経症状への新規治療法開発を目指して酸化ストレスと神経伝達物質代謝障害の研究を進めた。A群XP（XPA）7例、D群XP1例、対照17例で尿中酸化ストレスマーカーをELISA法で定量したところ、XP患者で脂質とDNAの酸化ストレスマーカー高値が認められた。昨年XPA剖検脳で知的障害に関連するアセチルコリン神経障害を指摘したが、XPA6剖検例の前頭葉・側頭葉皮質でGABA系抑制性介在神経の障害が見出され、XPA患者の知的障害でのGABA作動性薬物の有用性が示唆された。

A. 研究目的

色素性乾皮症（XP）では難治性の神経症状が出現するが、発症メカニズムの詳細は明らかになっていない。本研究では、XPの神経症状に対する治療法を開発することを目的に、患者から提供された生体資料・剖検脳を用いて酸化ストレスと神経伝達物質代謝障害に関する臨床神経病理学的研究を進め、さらには関連薬物による治療を試みる。

B. 研究方法

平成20年度は、A群XP（XPA）7例、D群XP（XPD）1例、対照17例で尿中の酸化ストレスマーカーをELISAキットで定量するとともに、XPA剖検例6例と対照4例の前頭葉・側頭葉皮質の連続切片でMAP2陽性神経細胞と大脳皮質GABA系抑制性介在神経（GABA_i）の指標であるcalbindin-D28K・parvalbumin・calretinin陽性細胞の密度を定量した。

（倫理面への配慮）

本研究計画は東京都神経研と協力医療機関の倫理委員会から承認されている。生体資料・剖検脳の収集ならには治療にあたっては十分な説明の上での書面による同意を患者家族から受けている。

C-1. 研究結果

XPA7例中5例で脂質に対する早期段階酸化ストレスマーカー Hexanoyl-lysine（HEL）の上昇がみられ、そのうち4例でDNA酸化ストレスマーカー 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine（8-OHdG）、2例で脂質後期段階マーカーがそれぞれ上昇していた。経年的測定では神経症状進行に応じたHEL漸増現象がみられ、神経症状が軽症なXPD例でもHELと8-OHdGが上昇していた。XP患者での8-OHdG・HEL平均値は対照に比し高値を示した（図1）。XPA剖検脳のMAP2陽性神経細胞密度は前頭葉皮質で上昇し側頭葉皮質で軽度低下していた。Calbindin-D28K・parvalbumin陽性のGABA_i密度

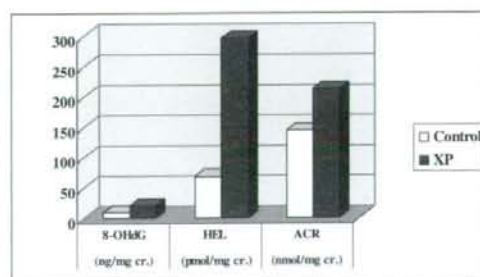


図1 尿中酸化ストレスマーカー

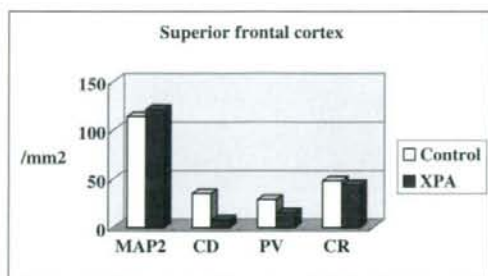


図2A 上前頭回皮質
MAP2・calbindin-D28K (CD)・parvalbumin (PV)・calretinin (CR) 陽性細胞の密度

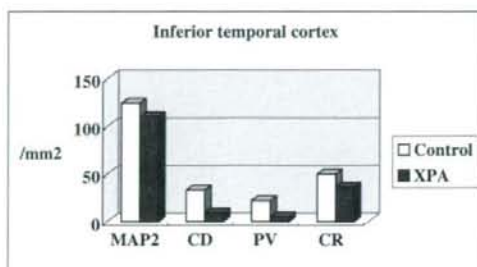


図2B 下側頭回皮質
MAP2・calbindin-D28K (CD)・parvalbumin (PV)・calretinin (CR) 陽性細胞の密度

度は側頭葉 > 前頭葉皮質で減少していた (図2)。

C-2. 考察

XPA 剖検脳の大脳基底核での 8-OHdG 陽性神経細胞増加と抗酸化酵素 SOD 表出低下を以前報告した。尿検体測定結果の解釈では神経変性以外の呼吸障害などの合併症による修飾の可能性を考慮すべきであるが、神経症状が進行した年長例を中心とした HEL・8-OHdG 値上昇は XP 神経障害での脂質・DNA 酸化ストレスの関与を支持しており、抗酸化サプリメントやエダラボンなどの抗酸化薬の有効性が示唆された。今後、髄液中の酸化ストレスマーカー測定を試みる予定である。一方、平成 19 年度の本研究において XPA の知的障害とアセチルコリン神経障害との関連を報告したが、今回、GABA_i の選択的障害も明らかになった。XPA 患者でのてんかん発生頻度が高いことが知られており、知的障害のみならずてんかん原生への GABA_i 病変の関与が推定される。新規 GABA 作動性薬物による治療の可能性も考えられ、現在、XP 患者での GABA 作動性薬物使用の後方視的調査を計画中である。

C-3. 結論

XP 患者尿で脂質と DNA の酸化ストレスマーカー

上昇がみられ、神経障害での酸化ストレスの関与が支持された。さらに XPA 剖検例で大脳皮質 GABA 系抑制性介在神経の選択的障害が見出され知的障害・てんかん原生への関与が想定された。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 林 雅晴, 色素性乾皮症 (XP) の治療—およびリハビリテーション、在宅ケア、難病と在宅ケア; 14 (9): 58-61, 2008 (レビュー)。
- 2) 林 雅晴, 色素性乾皮症・コケイン症候群の神経変性機序と治療の試み、医学のあゆみ (印刷中・レビュー)。

2. 学会発表

- 1) 林 雅晴ら, A 群色素性乾皮症剖検脳での知的障害に関する免疫組織化学的解析 (第 1 報), 第 50 回日本小児神経学会総会、東京 (2008, 5. 29)。

F. 知的所有権の出願・取得状況

(予定を含む)

該当するものは無い。

A 群色素性乾皮症の中樞神経病変に対する MRI を用いた定量的評価

研究分担者 荻田典生 神戸大学大学院准教授

研究要旨

XPA における中樞神経病変について、3D-MRI 画像と拡散テンソル画像を用いて定量的評価を行い、臨床症状や末梢神経伝導検査結果と比較検討した。

荻田典生 神戸大学大学院医学研究科准教授

て同意を得た。

A. 研究目的

A 群色素性乾皮症（XPA）では皮膚病変に加えて、進行性の多彩な神経症状を呈し、日常生活や生命予後に重大な障害を与えている。昨年我々は末梢神経障害の経時的な進行について報告したが、今回は中樞神経障害に着目し、MRI を用いて進行の程度や部位による差を定量的に評価し、臨床症状と比較を行った。

B. 研究方法

XPA と確定診断された6症例に対し、神経学的診察、末梢神経伝導検査、頭部MRIを施行した。頭部MRIでは3D-MRI画像、拡散テンソル画像を撮像した。まず各症例の頭部MRI T1強調画像（T1 TFE）を3D構成したのち、解析ソフトであるSPM2を用いて灰白質と白質に分離し、それぞれのvoxel数からその容積を計算した。また拡散テンソル画像をもとにFA（fractional anisotropy）画像を作成し、各症例において小脳脚、中小脳脚、脳梁膨大部、脳梁膝部の4ヶ所でFA値を算出した。これらを臨床症状や末梢神経伝導検査の結果と対比し、中樞神経障害と末梢神経障害の傾向を評価した。（倫理面への配慮）

研究内容については、神戸大学医学部附属病院倫理委員会にて承認を受けた後、患者あるいはその保護者に対して研究の内容等について説明し、文書に

C. 研究結果

〔神経学的所見〕

腱反射の低下は1歳8ヶ月の症例からみられた。また5例中4例でBabinski徴候が陽性であった。感覚障害や小脳失調については、乳幼児期では患者の協力が得られないため評価が困難であった。18歳の症例では多彩な神経学的異常を呈していた。

〔末梢神経伝導検査〕

これまで当院で蓄積された症例と同様に、感覚神経優位、軸索障害主体の末梢神経障害が進行していた。

〔3D-MRI画像〕

今回検討した6症例では、灰白質の容積は1歳と6歳以降の症例であまり差がなく、18歳の症例では著明に低下していた。白質については、そのような著明な容積の減少は認められなかった。全脳容積については、灰白質の減少を反映して、18歳の症例

表1 MRIによる大脳容積のまとめ

症例（年齢）	灰白質（cm ³ ）	白質（cm ³ ）
1（1歳）	321.31	129.35
2（1歳）	346.65	139.72
3（6歳）	323.88	127.63
4（8歳）	323.14	122.75
5（9歳）	321.31	129.35
6（18歳）	215.11	187.54

では明らかな減少を認めていた。

[拡散テンソル画像]

一般に乳幼児期には髄鞘化が継続中であり、FA値は生下後にも上昇する。Hermoye L.らの生下時から5歳までの正常小児23例のFA値の検討によれば、部位による差は多少あるが、1歳から2歳の間にはほぼ0.8前後の値に到達し、その後は変化しないことが示されている。5歳以降については、正常例についてのFA値を測定した結果はまだ発表されていないが、5歳以降に髄鞘化は進行しないことから、Hermoye L.らのデータをもとに我々の数値と比較検討した。FA値は脳梁では年齢とともに著明な低下を示したが、内包後脚や中小脳脚では緩やかな変化にとどまった。(表2) 今回のFA値はHermoye L.ら正常例と比較していずれも低値であった。また、中小脳脚については、以前に我々が報告した成人対照に対しても低値であった。

D. 考察

XPAでは錐体路障害、錐体外路障害、小脳失調、末梢神経障害など、実に多彩な神経症状が見られるが、最も早期から検出できる神経学的異常所見は腱反射の低下である。それに対して、錐体路症状や錐体外路症状は目立たないことから、神経障害がすべての部位で一様に進行するのではなく、選択性をもっていると考えられる。

表2 FA値のまとめ

症例 (年齢)	MCP	CI	CC(S)	CC(G)
1 (1歳)	0.472	0.495	0.633	0.585
2 (1歳)	0.472	0.507	0.647	0.663
3 (6歳)	0.508	0.533	0.670	0.650
4 (8歳)	0.547	0.537	0.623	0.543
5 (9歳)	0.495	0.457	0.507	0.543
6 (18歳)	0.437	0.462	0.532	0.458

MCP: 中小脳脚, CI: 内包後脚, CC(S): 脳梁影大部, CC(G) 脳梁膝部

末梢神経伝導検査では、昨年の報告と同様に6歳頃から下肢優位、感覚神経優位の軸索障害が明らかとなった。

今回は、中枢神経障害の評価にMRIを用いた。XPAでは大脳の萎縮が年齢とともに明らかとなるが、灰白質の変化が白質よりも目立っていた。形態的には、神経細胞の脱落が神経線維の消失よりも先行していることが示唆された。

しかし、拡散テンソル画像を用いた研究では、FA値はきわめて早期から低下しており、形態的な評価では検出できない白質の異常は、非常に早期から発現している可能性がある。

E. 結論

3D-MRIや拡散テンソル画像を用いたMRIによる定量的な中枢神経障害の評価法の確立により、XPAの神経障害の病態解明や治療法開発に関する新しい知見がえられると期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

荻田典生 「色素性乾皮症における末梢神経障害」

医学のあゆみ 228 155-156 2009

Oishi K, Konishi K, Mori S, Ishihara I, Kawamitsu H, Fujii M, Kanda F: Reduced fractional anisotropy in early-stage cerebellar variant of multiple system atrophy. J Neuroimaging 2008 (Epub)

2. 学会発表

第49回に本神経学会総会(2008、横浜) 荻田典生ら「A群色素性乾皮症における末梢神経障害の経時的変化」

F. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

該当なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Sugasawa, K.	XPC: its product and biological roles.	Ahmad, S. I. and Hanaoka, F.	Molecular Mechanisms of Xeroderma Pigmentosum	Landes Bio-science	U.S.A.	2008	47-56
Kiyoji Tanaka and Shinsuke Ito	Transcription-Coupled Repair and Its Defect in Cockayne Syndrome	Shamin I. Ahmad	Molecular Mechanisms of Cockayne Syndrome	Landes Biosciences	Austin TX, USA	2009	In press
古村南夫	母斑症に気づくコツは	末廣 豊、宮地良樹編	小児の皮膚トラブルFAQ	診断と治療社	東京	2008	264-265
水口 雅	てんかんの原因：結節性硬化症	五十嵐隆、岡 明	小児科臨床ピクシス3：小児てんかんの最新医療	中山書店	東京	2008	40-41
倉持 朗	上皮系母斑、神経冠起源細胞性母斑、血管腫・脈管形成異常、母斑症（神経皮膚症候群）、皮膚良性腫瘍	川田 暁	よくわかる病態生理9 皮膚疾患	日本医事新報社	東京	2008	120-143
倉持 朗	赤あざを見たら	末廣 豊 宮地良樹	小児の皮膚トラブルFAQ	診断と治療社	東京	2008	127-133
倉持 朗	先天性血管拡張性大理石様皮斑	末廣 豊 宮地良樹	小児の皮膚トラブルFAQ	診断と治療社	東京	2008	310-315
倉持 朗	結節性硬化症複合	宮地良樹	顔の皮膚病最前線	メディカル・レビュー社	東京	2009	314-327
錦織千佳子	II 免疫・アレルギー学的検査法光線過敏症に対する検査		MB Derma				印刷中

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
Kawachi Y, Nakamura Y, Yoh K, Suzuki T, Furuta J, Fujisawa Y, Takahashi T, Otsuka F	Rheumatoid papules successfully treated with oral tacrolimus.	J Eur Acad Dermatol Venereol	22	241-242	2008
Kawachi Y, Xu X, Tguchi S, Sakurai H, Fujisawa Y, Nakamura Y, Ishii Y, Furuta J, Takahashi T, Itoh K, Yamamoto M, Yamazaki F, Otsuka F	Attenuation of UVB-Induced Sunburn Reaction and Oxidative DNA Damage with No Alterations in UVB-induced Skin Carcinogenesis in <i>Nrf2</i> Gene-Deficient Mice.	J Invest Dermatol	128	1773-1779	2008

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kawachi Y, Koike Y, Kano T, Furuta J, Fujisawa Y, Nakamura Y, Ishii Y, Takahashi T, Otsuka F	Paraneoplastic dermatomyositis triggered and exacerbated by oral 5-fluorouracil administration.	Eur J Dermatol	18	195-196	2008
Zhang Yong, Minao Furumura, Eishin Morita	Distinct signaling pathways confer different vascular responses to VEGF121 and VEGF165	Growth Factors	26	125-131	2008
Patrakitkomjorn S, Kobayashi D, Morikawa T, Wilson MM, Tsubota N, Irie A, Ozawa T, Aoki M, Arimura N, Kaibuchi K, Saya H and Araki N	NF1 tumor suppressor, neurofibromin, regulates the neuronal differentiation of PC12 cells via its associating protein, collapsin response mediator protein-2	Journal of Biological Chemistry	283	9399-9413	2008
Arima Y, Inoue Y, Shibata T, Hayashi H, Nagano O, Saya H and Taya Y	Rb depletion results in deregulation of E-cadherin and induction of cellular phenotypic changes that are characteristics of the epithelial to mesenchymal transition	Cancer Research	68	5104-5112	2008
Yamaguchi K, Feril LB Jr., Harada Y, Endo H, Irie Y, Nakayama J, Tachibana K	Growth inhibition of neurofibroma by ultrasound-mediated interferon γ transfection	Journal of Medical Ultrasonics	In press		
Juntaro Matsuyama, Isao Ohnishi, Ryoichi Sakai, Masahiko Bessho, Takuya Matsumoto, Koichi Miyasaka, Akimitsu Harada, Satoru Ohashi, Kozo Nakamura	A New Method for Evaluation of Fracture Healing by Echo Tracking.	Ultrasound in Medicine and Biology	34(5)	775-783	2008
Natsume A, In M, Takamura H, et al.	Engineered antibodies of IgG1/IgG3 mixed isotype with enhanced cytotoxic activities.	Cancer Res	68 (10)	3863-3872	2008
Natsume A, Wakabayashi T, Ishii D, et al.	A combination of IFN-beta and temozolomide in human glioma xenograft models: implication of p53-mediated MGMT downregulation.	Cancer Chemother Pharmacol	61 (4)	653-659	2008
Natsume A, Wakabayashi T, Tsujimura K, et al.	The DNA demethylating agent 5-aza-2'-deoxycytidine activates NY-ESO-1 antigenicity in orthotopic human glioma.	Int J Cancer	122 (11)	2542-2553	2008
Oi S, Natsume A, Ito M, et al.	Synergistic induction of NY-ESO-1 antigen expression by a novel histone deacetylase inhibitor, valproic acid, with 5-aza-2'-deoxycytidine in glioma cells.	J Neuro-oncol	In press		

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shimato S, Natsume A, Wakabayashi T, et al.	Identification of a human leukocyte antigen-A24-restricted T-cell epitope derived from interleukin-13 receptor alpha2 chain, a glioma-associated antigen.	J Neurosurg	109 (1)	117-122	2008
Wakabayashi T, Kayama T, Nishikawa R, et al.	A multicenter phase I trial of interferon-beta and temozolomide combination therapy for high-grade gliomas (INTEGRA Study).	Jpn J Clin Oncol	38 (10)	715-718	2008
Wakabayashi T, Natsume A, Hashizume Y, et al.	A phase I clinical trial of interferon-beta gene therapy for high-grade glioma: novel findings from gene expression profiling and autopsy.	J Gene Med	10 (4)	329-339	2008
Suzuki T., Das S.K., Inoue H., Kazami M., Hino O., Kobayashi T., Yeung R.S., Kobayashi K., Tadokoro T. and Yamamoto Y.	Tuberous sclerosis complex 2 loss-of-function mutation regulates reactive oxygen species production through Rac1 activation.	BBRC	368	132-137	2008
Kouchi M., Okimoto K., Matsumoto I., Michimae Y., Yamada T., Inoue T, Kimura T, Seki T., Yasuba M., and Hino O.	Postoperative fibromatosis-type fibromas in the Bhd gene mutant (Nihon) rat.	Exp. Toxicologic Pathology	59	273-279	2008
Imamura O., Okada H., Takashima Y., Zhang D., Kobayashi T. and Hino O.	siRNA-mediated <i>Erc</i> gene silencing suppresses tumor growth in <i>Tsc2</i> mutant renal carcinoma model.	Cancer Letters	268	278-285	2008
Takagi Y., Kobayashi, T., Shiono M., Wang L., Piao X., Sun G., Zhang D., Abe M., Hagiwara Y., Takahashi K. and Hino O.	Interaction of folliculin (Birt-Hogge-Dubé gene product) with a novel Fnip1-like (FnipL/Fnip2) protein.	Oncogene	27	5339-5347	2008
Hagiwara Y., Hamada Y., Kuwahara M., Maeda M., Segawa T., Ishikawa K. and Hino O.	Establishment of a Novel Specific ELISA system for rat N- and C-ERC/Mesothelin. -Rat ERC/Mesothelin in the Body Fluids of mice bearing Mesothelioma-.	Cancer Science	In press		
Shigeyama Y., Kobayashi T., Kido Y., Hashimoto N., Asahara S., Matsuda T., Takeda A., Inoue T., Shibutani Y., Koyanagi M., Uchida T., Inoue M., Hino O., Kasuga M. and Noda T.	Biphasic response of pancreatic β cell mass to ablation of TSC2 mice.	Mol. Cell. Biology	In press		

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shiono M., Kobayashi T., Takahashi R., Sun G., Abe M., Zhang D., Wang L., Piao X., Takagi Y., Mineki R., Taka H., Tada N., Sonobe S., Momose S., Ueda M. and Hino O.	The G1556S-type tuberlin variant suppresses tumor formation in tuberous sclerosis 2 mutant (Eker) rats despite its deficiency in mTOR inhibition.	Oncogene	In press		
Ishikawa K., Segawa T., Hagiwara Y., Maeda M., Abe M., Hino O.	Establishment of novel monoclonal antibody to human ERC/mesothelin useful for study and diagnosis of ERC/mesothelin-expressing cancers.	Pathol. Int.	In press		
Peng L., Wen Y., Han Y., Wei A., Shi G., Mizuguchi M., Lee P., Hernando E., Mittal K., Wei JJ.	Expression of insulin-like growth factors (IGFs) and IGF signaling: molecular complexity in uterine leiomyomas.	Fertility and Sterility	In press		2008
Sugiura C., Miyata H., Ueda M., Ohama E., Vinters H., <u>Ohno K</u>	Immunohistochemical expression of fibroblast growthfactor (FGF)-2 in epilepsy-associated malformations of cortical development (MCDs)	Neuropathology	28	372-381	2008
M. Wataya-Kaneda and <u>I. Katayama</u>	Dissociate expression of TSC-1 product hamartin in a skin and pulmonary lesion of a tuberous sclerosis complex	Hum Pathol	In press		
Yamaguchi Y., Passeron T., Hoashi T., Watabe H., Rouzaud F., Yasumoto K., Hara T., Tohyama C., <u>Katayama I.</u> , Miki T., Hearing VJ.	Dickkopf 1 (DKK1) regulates skin pigmentation and thickness by affecting Wnt/beta-catenin signaling in keratinocytes.	FASEB J.	22	1009-20	2008
Murayama K., Kimura T., Tarutani M., Tomooka M., Hayashi R., Okabe M., Nishida K., Itami S., <u>Katayama I.</u> , Nakano T.	Akt activation induces epidermal hyperplasia and proliferation of epidermal progenitors. <i>Oncogene</i> . 2007; 26:4882-8.	Oncogene	26	4882-8	2007
Masaki T., Ono R., Tanioka M., Funasaka Y., Nagano T., Moriwaki S., <u>Nishigori C</u>	Four types of possible founder mutations are responsible for 87% of Japanese patients with Xeroderma pigmentosum variant type.	J Dermatol Sci	52(2)	144-148	2008
Yoshimoto T., Morishima N., Mizuguchi I., Shimizu M., Nagai H., Oniki S., Oka M., <u>Nishigori C.</u> , Mizuguchi J	Anti-proliferative activity of IL-27 on melanoma.	J Immunol	180(10)	6527-6535	2008
Tanioka M., Yamada H., Doi M., Bando H., Yamaguchi Y., <u>Nishigori C.</u> , Okamura H	Molecular clocks in the mouse skin.	J Invest Dermatol	Epub ahead of print		2008 Nov 27.

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ohtani Y, Harada T, Funasaka Y, Nakao K, Takahara C, Abdel-Daim M, Sakai N, Saito N, Nishigori C, Aiba A	Metabotropic glutamate receptor subtype-1 is essential for <i>in vivo</i> growth of melanoma.	Oncogene	27(57)	7162-7170	2008
Sugasawa, K.	Xeroderma pigmentosum genes: functions inside and outside DNA repair.	Carcinogene-sis	29	455-465	2008
Roche, Y., Zhang, D., Segers-Nolten, G. M. J., Vermeulen, W., Wyman, C., Sugasawa, K., Hoeijmakers, J. H. J., and Otto, C.	Fluorescence correlation spectroscopy of the binding of nucleotide excision repair protein XPC-hHr23B with DNA substrates.	J. Fluoresc.	18	987-995	2008
Isao Kuraoka, Kiyoji Tanaka, et al.	Isolation of XAB2 complex involved in pre-mRNA splicing, transcription and transcription-coupled repair	J. Biological Chemistry	283	940-950	2008
Hironobu Nakane, Kiyoji Tanaka, et al.	Impaired spermatogenesis and elevated spontaneous tumorigenesis in xeroderma pigmentosum group A gene (<i>Xpa</i>)-deficient mice.	DNA Repair	7	1938-1950	2008
Lin Ni et al.	RPAP3 interacts with Reptin to regulate UV-induced phosphorylation of H ² AX and DNA damage.	J. Cellular Biochemistry	In press		2009
Oishi K, Konishi K, Mori S, Ishihara I, Kawamitsu H, Fujii M, Kanda F	Reduced fractional anisotropy in early-stage cerebellar variant of multiple system atrophy.	J Neuroimaging	(Epub)		2008
大塚藤男	知っておきたい小児の皮膚病、全身性疾患の皮膚症状、母斑症	小児科臨床	60	1477-1483	2007
大塚藤男	神経線維腫症 I 型	Derma	134	31-36	2007
大塚藤男	レックリングハウゼン病の外科治療と問題点	日本医事新報	4394	95-96	2008
大塚藤男	皮膚科セミナー：その他の神経皮膚症候群	日本皮膚科学会雑誌	118 (5)	911-917	2008
吉田雄一、中山樹一郎	皮膚科セミナー（第 36 回神経皮膚症候群）、1. 神経線維腫症 I 型	日皮会誌	118 (5)	897-903	2008
吉田雄一、久保田由美子、金田眞理、土田哲也、松永佳代子、中川秀己、新村真人、大塚藤男、中山樹一郎	神経線維腫症 I 型（レックリングハウゼン病）の診断基準および治療ガイドライン	日皮会誌	118 (9)	1657-1666	2008
村上有香子、金田眞理、片山一朗	Erdheim-Chester 病—肘窩に Xanthoma を認めた例	皮膚病診療：	30 (10)	1143-1146	2008
倉持 朗	炎症性疾患に対しても、ダーモスコピーは有用ですか	皮膚科の臨床	50 (11)	1442-1464	2008
倉持 朗	血管腫・脈管形成異常・出血性病変のダーモスコピー	日本皮膚科学会雑誌	118 (13)	2826-2847	2008

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
錦織千佳子	日本における色素性乾皮症の現況および皮膚科的管理	医学のあゆみ	印刷中		
古賀浩嗣、濱田尚宏、安元慎一郎、橋本 隆、錦織千佳子	PCR 法と <i>AluNI</i> による制限酵素消化で診断した A 群色素性乾皮症	皮膚病診療	印刷中		
林 雅晴	色素性乾皮症 (XP) の治療 - およびリハビリテーション、在宅ケア	難病と在宅ケア	14 (9)	58-61	2008
林 雅晴	色素性乾皮症・コケイン症候群の神経変性機序と治療の試み	医学のあゆみ	印刷中		2009
苅田典生	色素性乾皮症における末梢神経障害	医学のあゆみ	228	155-156	2009

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
神経皮膚症候群に関する調査研究

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

発 行 平成 21 年 3 月 31 日

発行所 〒 305-8575
茨城県つくば市天王台 1-1-1
筑波大学大学院人間総合科学研究科
疾患制御医学専攻皮膚病態医学分野
厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
神経皮膚症候群に関する調査研究事務局