

F. 参考文献

Ana Aparicio, Brittany North, Peter Jones, Allen Yang, Jean-Pierre Issa et al. LINE-1 methylation in plasma DNA as a biomarker of activity of DNA methylation inhibitors in patients with solid tumors. *Epigenetics* 4: 176-184, 2009

Yuichi Makino, Renhai Cao, Kristian Svensson, Göran Bertilsson., Mikael Åsman, Hirotoshi Tanaka, Yihai Cao, Anders Berkenstam, Lorenz Poellinger. Inhibitory PAS domain protein is a negative regulator of hypoxia-inducible gene expression. *Nature* 414: 29, 2001

聴性脳幹インプラントを施行したNF2 症例の術後経過

研究分担者 齋藤 清 福島県立医科大学脳神経外科教授

研究要旨

両側聴神経機能喪失症例に対する聴覚再獲得法として、聴性脳幹インプラント（Auditory brainstem implant; ABI）の臨床応用が本邦でも報告されているが症例はまだ少ない。我々は一昨年神経線維腫症II型（NF2）症例にABI治療を行ったので、術後経過を報告する。症例は35歳女性。名古屋大学医学部附属病院倫理委員会の承認を得た後に2007年9月に左側へABI手術を行った。1年6ヶ月後、ABIのみで肉声音の聴取能は語音10%、母音30%、子音24%であり、同じ音節数で抑揚が異なる2単語弁別11/14、長さの異なる3単語弁別17/20、長さの異なる4文弁別6/10の正答率であった。今後薬事承認も含めてさまざまな条件をクリアする必要があるが、聴覚を喪失したNF2症例に対しABIの適応を考慮できえる状況が望まれる。

曾根三千彦 名古屋大学大学院医学系研究
科耳鼻咽喉科准教授
渡邊 督 福島県立医科大学脳神経外科
講師

外式除細動器などを準備して音入れを行った。電極活性化により胸、足、全身がドキッとす、左手がしびれる、左半身が重いなどの訴えがあり、21電極のうち18電極を活性化した。ラッパや鈴などの高い音には無反応であったが、太鼓などの低い音には正確に反応。3ヶ月後、1日平均8~9時間の装用が可能で、2文字単語と4~5文字単語の弁別では6/8の正答率。6ヶ月後、調整でTCレベルが全体的に上昇し、文字手がかりがある条件で音節数の異なる言葉同士の弁別は7割の正答率。9ヶ月後、土日を除いてほぼ毎日仕事中は装用、静かな部屋では携帯電話の着信音も聴取可能。12ヶ月後、長さの異なる3単語弁別は10/10の正答率。ただし話声はカタカタという感じ。1年6ヶ月後、装用に対しては前向きであり、ABIのみで肉声音の聴取能は語音10%、母音30%、子音24%であり（図1）、同じ音節数で抑揚が異なる2単語弁別11/14、長さの異なる3単語弁別17/20、長さの異なる4文弁別6/10の正答率であった。

A. 研究目的

人工内耳埋込術では回復が見込めない聴神経腫瘍や聴神経機能喪失症例に対する聴覚再獲得の治療法として、聴性脳幹インプラント（ABI）の臨床応用が欧米で開始されてから約30年を経過した。本邦でもABI治療の有効性が報告されているが症例はまだ少ない。我々は一昨年発表したように神経線維腫症II型（NF2）症例にABI治療を行ったので、術後経過を報告する。

B. 研究方法及び結果

症例は35歳女性。1998年に右聴力消失と歩行障害のために右聴神経腫瘍を摘出、2006年に左聴力消失と顕著な歩行障害出現のため左聴神経腫瘍も摘出した。名古屋大学医学部附属病院倫理委員会の承認を得た後に手術を計画し、2007年9月に左側へABI手術を行った。手術後に合併症はなく3週間で退院。約8週間後に酸素モニター、心電図、自動体

C. 考察

ABIはNF2に対する聴覚機能の回復を目指して開発されてきた。本邦でも8チャンネルのコクレ

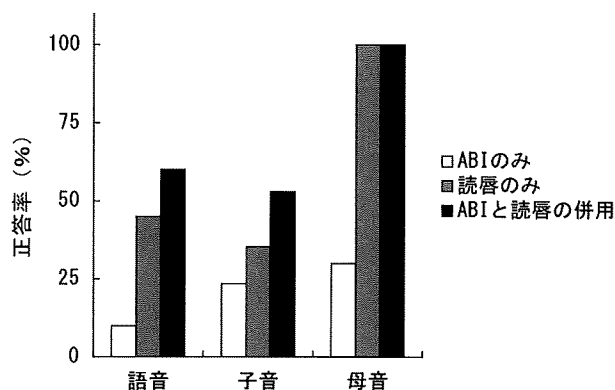


図1

ア社製ABI治療経過が報告され、最近ではMED-EL社製ABIの報告もある。MED-EL社Combi40+ABIのチャンネル数は12であり、本症例に用いたNucleus24ABIのチャンネル数は21である。最近の報告ではNF2によるNucleus装用者の70%が常時使用しており、オープンセットでの2音節語音聴取能はABIのみで平均33%、読唇とABI併用で平

均65%とされている。ABIの術後成績は失聴期間や活性化電極数に相関するとされているが、腫瘍が50mm以上の複数例では聴覚反応が得られなかったとの報告もある。我々の症例は活性化電極数17と多いものの会話の有効性が不十分な理由の一つとして、摘出を要した腫瘍の大きさも関与している可能性がある。いずれにしても環境音を聴取できる状況は患者にとって極めて有益で、ABIの有用性は確固たる事実である。

D. 結論

現状ではNF2患者のABI装用の有用性はまだ不十分なものの、環境音を聴取できる状況は患者にとって極めて有益である。ABIが保険適応下であれば、より早期の良い条件下に本症例にABI治療を導入する事も可能であったかもしれない。今後薬事承認も含めてさまざまな条件をクリアする必要があるが、人工内耳で聴覚獲得の困難な症例に対しABIの適応を考慮できえる状況が望まれる。

神経線維腫症症例の聴力予後に関する調査研究

研究協力者 原 晃 筑波大学大学院人間総合科学研究科教授

研究要旨

神経線維腫症Ⅱ型においては、両側難聴が症例のQOLに大きくかかわる。神経線維腫症Ⅱ型症例について、難聴出現の時期、治療のタイミング、治療法、聴力の経過等について検討した結果、自然経過あるいは術後や放射線治療後の聴力悪化のいずれも認められ、この疾患における聴力温存の難しさがあらためて確認された。

A. 研究目的

神経線維腫症Ⅱ型においては、多くの症例で両側聴神経腫瘍が認められる。その疾患の特性から、両側難聴が症例のQOLに大きくかかわると考えられる。一般に聴神経腫瘍では、長い経過の中で徐々に進行する症例、突発難聴の形で急速に聴力低下を訴える症例、あるいは治療に関連して聴力が低下する症例など、様々な聴力の経過をとることが知られている。神経線維腫症Ⅱ型においてはどうか、当院を受診した神経線維腫症Ⅱ型症例の聴力経過について検討する。

B. 研究方法

1988年4月から2009年3月までに筑波大耳鼻科を受診した神経線維腫症Ⅱ型症例について、難聴出現の時期、治療のタイミング、治療法、聴力の経過等について retrospective に検討した。

(倫理面への配慮)

データは全て匿名とし、個人のプライバシーに十分配慮した。

C. 研究結果

この期間に当院を受診した神経線維腫症Ⅱ型症例は11例であった。11例中10例に両側聴神経腫瘍を認めた。残る1例は一侧の聴神経腫瘍および多発する神経鞘腫・髄膜腫を伴い、神経線維腫症Ⅱ型の診断に至った。11例21耳について検討した結果、ほとんどの症例で難聴進行には左右差がみられた。

症例によっては、生命・身体機能に影響する他の腫瘍の治療が優先され、結果として聴神経腫瘍については経過観察のみの症例も6例8耳で認められた。自然経過で高度難聴に至ったのは、14耳中8耳であった。有効聴力残存時に治療施行された7耳において、治療直後あるいは治療後の経過観察中に聴力が悪化した例も手術：5耳中3耳、放射線治療：4耳中2耳と認められた。現在までの経過で21耳中、高度難聴12耳、中等度難聴4耳、有効聴力残存は5耳であった。

D. 考察

自然経過の中での聴力悪化例、治療後の聴力悪化例のいずれも認められ、この疾患における聴力温存の難しさがあらためて確認された。

平均聴力レベル(4分法平均)

	初診時	最終検査時
30 dB以内:	9耳 (42.9%)	2耳 (9.5%)
30~50 dB:	3耳 (14.3%)	3耳 (14.3%)
50~70 dB:	5耳 (23.8%)	4耳 (19.0%)
70 dB以上:	4耳 (19.0%)	12耳 (57.1%)
合計	11例21耳	11例21耳

E. 結論

治療において聴力温存が最大の目標ということではないが、QOLに直結する両側高度難聴に至る可能性について、今回の検討が今後の症例の方針決定の一助になればと考える。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

耳鼻咽喉科臨床に投稿予定

2. 学会発表

平成 22 年聴神経腫瘍研究会にて発表予定

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

特になし。

色素性乾皮症の現状把握：
診断の確立と確定診断例のデータベース作成
XPA 遺伝子ノックダウンによる
色素性乾皮症 A 群における神経症状発症の機序の解明

研究分担者 錦織千佳子 神戸大学大学院医学研究科皮膚科学教授

研究要旨

平成 19-20 年に実施した色素性乾皮症（XP）の一次調査によって把握できた患者の二次調査を行なった。平成 19 年、平成 20 年をあわせると、全国の研修指定病院皮膚科を訪れた XP 全患者数は 259 名（92 施設）で、これらの患者を対象に詳細な二次調査を実施した。約半数が A 群患者で、25% が V 群という分布は従来の報告と一致した。shRNAi を用いて XPA をノックダウンすることにより、XPA が神経前駆細胞から後分裂細胞への移行に重要な役割を果たしていることが示唆された。

A. 研究目的

①平成 19-20 年度に引き続き、色素性乾皮症（xeroderma pigmentosum: XP）の一次調査によって明らかとなった患者を対象に二次調査を行なった。平成 19 年度より開始した患者数とその状況の把握をめざした。

②XP の神経症状発症の機序を解明するためにマウスを用いて xpa 遺伝子をノックダウンして、分裂能などの解析を試みた。

B. 研究方法

①XP の現状把握: 平成 19 年、20 年に全国の皮膚科研修指定病院 543 施設を対象に実施した色素性乾皮症患者の有無等についての一次調査の結果をもとに、平成 19 年 1 月から平成 20 年 12 月に当該施設を受診した XP 患者 259 名を対象に患者の詳細な症状を把握するための二次調査票を送付し、回答を集約した。

②個体レベルで XP-A の神経細胞における機能を解析: 子宮内エレクトロポレーション法を用いて、マウス xpa 遺伝子をターゲットとした shRNAi ベクターを EGFP 遺伝子とともに導入することにより xpa ノックダウン神経細胞を可視化し、表現型の解析を行ったところ、昨年までの研究により xpa を

ノックダウンしたものでは、ほとんどの GFP 陽性細胞が皮質板の脳室側、特に中間帯（Intermediate Zone: IZ）に蓄積しているのが認められたので、其の機序を探る目的で、これらの停止した細胞の神経発生学的な分化マーカー、分裂能などについて検討した。

（倫理面への配慮）

二次調査を行なう方法については、連結可能匿名化を行なって実施する手法をとっており、神戸大学医学研究科医学倫理委員会に審査を申請し、承認済みである。遺伝子検索については神戸大学倫理委員会の承認を得たうえで、患者の同意を文書にて取得したのちに行った。

C. 研究結果

①日本の XP 患者の現状: XP 患者を有する施設は 92 施設であった。全患者数は 259 名で男女比（133:126）はほぼ 1 であった。それら患者に二次調査票を送付し、回答があったのは 211 名（回答率 81.5%）であった。

平成 19・20 年度に行った一次調査において色素性乾皮症患者有りとは回答した施設に二次調査を依頼し、その患者のプロフィールをデータベース化した。211 名のうち複数の施設を受診している重複例

があったため、197名の患者について詳細な回答を得た。それをもとに連結可能匿名化をした上で解析を行った。年齢分布は11-20歳が50名で最も多く、0歳から90歳まで広く分布している。A群の患者は11-20歳をピークに0歳から40歳までに分布し、バリエーション群の患者は51-60歳をピークに11歳から90歳にわたり広い範囲に分布している(図1)。以前のXPの統計と比較すると、A群の患者の寿命が延びている事が窺える。

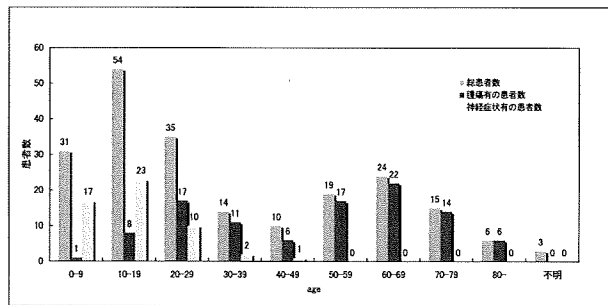


図1 色素性乾皮症患者の年齢分布と各年齢層での皮膚がん、神経症状の合併する患者数

全XP患者のうちで皮膚腫瘍を発生しているものは98名、腫瘍の発生をみないものは76名、残りの32名は不明である。また、10歳以下の患者のうち皮膚腫瘍が生じている症例は1例のみ、であったが、11-20歳で9/49(18%)、21-30歳で14/29(45.2%)、31-40歳で11/15(73.3%)、41-50歳で6/9(66.7%)、50歳以上では90%以上の患者で皮膚癌が生じている。皮膚癌が生じてしまったから確定診断がなされる例が多い事、遮光の啓蒙が不十分である事を示唆している。相補性群が確定している症例はA群が57例、C群1例、D群9例、F群3例、V群が28例で残りの109名(全体の約半数)は相補性群は不明である(表1)。

表1 色素性乾皮症各相補性群の患者数とその年齢分布

患者年齢	患者数(%)	相補性群					
		A	C	D	F	V	不明
0-9	31(14.7)	21	1	0	0	0	9
10-19	54(25.6)	25	0	1	1	2	25
20-29	35(16.6)	18	0	1	1	0	15
30-39	14(6.6)	2	0	0	0	3	9
40-49	10(4.7)	1	0	1	0	3	5
50-59	19(9.0)	0	0	4	0	6	9
60-69	24(11.4)	0	0	2	1	7	14
70-79	15(7.1)	0	0	0	0	6	9
80+	6(2.8)	0	0	0	0	1	5
不明	3(1.4)	0	0	0	0	0	3
総患者数	211	67	1	9	3	28	103

神経症状は6歳以上のA群の患者のほとんどで難聴、知能発達遅延などの神経症状を伴っていたが、詳細な記載のある症例が少なく、よりいっそうの調査が必要である。

分裂細胞のマーカーであるKi-67とM期のマーカーであるリン酸化ヒストンH3に対する抗体を用いて、免疫組織染色を行った。胎生期14日目にRNAiベクターを導入して3日後の脳組織切片において、Ki-67陽性細胞とGFP陽性細胞を比較検討した。IZに停止しているXPAノックダウン細胞のほとんどすべてがKi-67陽性で、これらの細胞のほとんどがリン酸化ヒストンH3陽性であることを見いだした。これらの結果は、XPAノックダウン細胞は、IZに行く過程で後分裂細胞になっていないことを示す。さらにBrdUで細胞をラベルした後のXPAノックダウン細胞はBrdU陰性細胞数がコントロールと比較しても、違いがないことより、分裂頻度に違いがあるのではなく、後分裂細胞に移行する前に細胞周期が停止を起こしていることが示唆された。

D. E. 考察と結論

以前のデータと比べるとA群患者への遮光指導が徹底し、低年齢層のA群における発がん率は減っている。一方で、高齢者の腫瘍を合併する患者のほとんどがバリエーション群と思われ、これら患者の早期診断と遮光指導が必要である。また相補性群が不明の症例が約半数有る事から、今後、相補性群不明例の確定診断も進める必要がある。

今後、変異の種類による蛋白発現ならびに生存率の回復の差があるかを確認し、回復を誘導するのに最適な条件を見つけ、XP患者の治療につなげたい。

XPAノックダウン神経細胞は中間帯において移動を停止した。これらの停止した細胞は分化マーカーであるMAP2が陰性であり、分裂細胞のマーカーであるKi-67とM期のマーカーであるリン酸化ヒストンH3の両方が陽性であった。これらの結果は、XPAが神経前駆細胞から後分裂細胞への移行に重要な役割を果たしていることを示している。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Munakata N, Kazadzis S, Bolseć D, Schuch N, Koskela T, Karpetchko A, Meleti C, Casiccia C, Bar-

- cellos da Rosa M, Saida T, Nishigori C, Ogata K, Imafuku K, Liu CM, Lestari S, Kanoko M, Cornain S, Mulyadi K, Hieda K : Variations and trends of biologically effective doses of solar ultraviolet radiation in Asia, Europe and South America from 1999 to 2007. *Photochem Photobiol Sci* 8: 1117-1124, 2009.
2. Tanioka M, Yamada H, Doi M, Bando H, Yamaguchi Y, Nishigori C, Okamura H : Molecular clocks in mouse skin. *J Invest Dermatol* 129: 1225-1231 2009.
 3. Oka M, Sumita N, Sakaguchi M, Iwasaki T, Bito T, Kageshita T, Sato K, Fukami Y, Nishigori C: 12-O-tetradecanoylphorbol-13- acetate inhibits melanoma growth by inactivation of STAT3 through protein kinase C-activated tyrosine phosphatase (s). *J Biol Chem* 284: 30416-30423, 2009.
 4. Sreevidya CS, Fukunaga A, Khaskhely NM, Masaki T, Ono R, Nishigori C, Ullrich SE : Agents that Reverse UV-Induced Immune Suppression and Photocarcinogenesis Affect DNA Repair. *J Invest Dermatol* 2009 Oct [Epub ahead of print]
 5. Nagai H, Oniki S, Fujiwara S, Xu M, Mizoguchi I, Yoshimoto T, Nishigori C : Antitumor Activities of Interleukin-27 on Melanoma. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2009. Oct [Epub ahead of print]
 6. Oka M, Sakaguchi M, Okada T, Nagai H, Ozaki M, Yoshioka T, Inoue H, Mukaida N, Kikkawa U, Nishigori C : Signal transducer and activator of transcription 3 upregulates interleukin-8 expression at the level of transcription in human melanoma cells. *Exp Dermatol* [Epub ahead of print] 2009 Sep 16.
 7. 錦織千佳子: 色素性乾皮症. *からだの科学* 262 : 65-68、2009.
 8. 錦織千佳子 : 光線過敏症. *小児科診療* 72 : 2097-2104、2009.
 9. 錦織千佳子 : 太陽紫外線による免疫抑制と皮膚ガン. *環境と健康* 22 : 413-418、2009.
 10. 錦織千佳子 : 紫外線と光防御. *美容皮膚科学* 改定2版、宮地良樹、松永佳世子、古川福実、宇津木龍一編、南山堂、31-39、2009.
2. 学会発表
1. Oka M, Sakaguchi M, Okada T, Ozaki M, Yoshioka T, Inoue H, Mukaida N, Kikkawa U, Nishigori C: Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) upregulates interleukin-8 (IL-8) expression at the level of transcription in human melanoma cells. Joint Meeting 7th World Congress on Melanoma & 5th Congress of the European Association of Dermato- Oncology (EADO) 2009.5.12-16
 2. Ono R, Dien S, Masaki T, Fukunaga A, Nishigori C, Yodoi J : Suppressive effect of administration of human recombinant thioredoxin on inflammation and apoptosis of murine skin induced by ultraviolet B irradiation. 15th International Congress on Photobiology 2009.6.18-23
 3. Sakaguchi M, Oka M, Sumita N, Iwasaki T, Bito T, Kageshita T, Sato K, Fukami Y, Nishigori C: TPA inhibits melanoma growth by inactivation of STAT3 through PKC-activated tyrosine phosphatase(s). The 4th Joint Meeting of JDA and ACD 2009.7.10-12
 4. Oka M, Edamatsu H, Kunisada M, Hu L, Takenaka N, Dien S, Sakaguchi M, Kitazawa R : Phospholipase Ce plays a crucial role in ultraviolet B-induced inflammation, cell death, and prevention of photocarcinogenesis in the skin. 日本研究皮膚科学会第34回年次学術大会・総会 2009.12.4-6
 5. Bito T, Sumita N, Masaki T, Ueda M, Yoshiki R, Tokura Y : UVB and UVC induce Stat3 activation in human keratinocytes and fibroblasts through reactive oxygen species and DNA damage. 日本研究皮膚科学会第34回年次学術大会・総会 2009.12.4-6
 6. Sumita N, Oka M, Sakaguchi M, Iwasaki T, Bito T, Kageshita T, Sato K, Fukami Y, Nishigori C: TPA inhibits melanoma growth by inactivation of STAT3 through PKC-activated tyrosine phosphatase(s). 日本研究皮膚科学会第34回年次学術大会・総会 2009.12.4-6
 7. Mohamed AD, Funasaka Y, Harada T, Aiba A, Nishigori C: Signals involved in oncogenic activities of metabotropic glutamate receptor 1. 日本研究皮膚科学会第34回年次学術大会・総会 2009.12.4-6
 8. Dien S, Taguchi K, Fukunaga A, Nishigori C: Enhanced repair of pyrimidine dimers and sustained immune suppression by application of T4N5 liposome 3 and 6 hours after NB-UVB exposure. 日本

研究皮膚科学会第34回年次学術大会・総会
2009.12.4-6

9. 錦織千佳子：光発癌研究の流れ－ミニレビュー－. 第31回日本光医学・光生物学会 2009.7.24-25
10. 国定充、組本博司、石崎寛治、作見邦彦、中別府雄作、錦織千佳子：ナローバンドUVBはブロードバンドUVBよりもよりマウス皮膚表皮のCPDs形成を起こし、皮膚発癌発生率を上昇させる. 第31回日本光医学・光生物学会 2009.7.24-25
11. 小野竜輔、正木太朗、谷岡未樹、西谷奈生、神部直智、清水彩子、松江弘之、錦織千佳子：色素性乾皮症バリエーション群の小児の2例. 第31回日本光医学・光生物学会 2009.7.24-25
12. Mohamed AD, Funasaka Y, Kamo T, Nishigori C, Ooe M, Matsunaka H : UVA and UVB induced carcinogenesis in mice and preventive effect of chemical peeling. 第31回日本光医学・光生物学会 2009.7.24-25
13. 錦織千佳子：光発癌－発症機序から見たパラ

ダイムシフト. 第31回日本光医学・光生物学会 2009.7.24-25

14. 錦織千佳子、正木太朗、小野竜輔、谷岡未樹、船坂陽子、長野 徹、森脇真一：Four types of founder mutations are found in Japanese patients with xeroderma pigmentosum variant type. (日本人XPバリエーション群にみられる創始者変異). 第68回日本癌学会学術総会 2009.10.1-3
15. 錦織千佳子：わかりやすい光線過敏症. 第61回日本皮膚科学会西部支部学術大会 2009.10.24-25

H. 知的財産権の出願・登録状況

(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

色素性乾皮症の診断に向けた分子細胞生物学的検討

研究分担者 菅澤 薫 神戸大学自然科学系先端融合研究環バイオシグナル
研究センター教授

研究要旨

色素性乾皮症（XP）の遺伝的相補性群のうち、C群とE群の原因遺伝子産物はヌクレオチド除去修復機構においてDNA損傷の認識に関わる重要な因子である。国内におけるこれらXP相補性群の実態把握に寄与する目的で、XP-C群が疑われる患者細胞について分子遺伝学的解析を行ったところ、これまで報告されていない特異な症例が見つかった。この患者細胞における機能欠損を明らかにするため、現在詳しい解析を進めている。

A. 研究目的

色素性乾皮症（XP）の遺伝的相補性群のうち、ヌクレオチド除去修復の損傷認識段階に欠損を示すC群、E群について、国内患者の変異解析、および簡便な診断法の開発を目指す。XP-C群については欧米を中心に多数の変異が同定されているが、国内の患者については従来報告がなかったため、どのような変異アレルがどの程度の頻度で分布しているのか実態を把握する必要がある。またXP-E群はDNA修復活性の欠損がマイルドであることから、従来の手法ではその同定が容易ではなく、実際よりも患者数が少なく見積もられている可能性がある。我々は紫外線照射によって誘導されるXPCタンパク質のユビキチン化が、XP-E群患者細胞において特異的に欠損していることを見出しており、この現象をE群の診断に応用するための基礎的な研究を進める。

B. 研究方法

細胞融合による遺伝的相補性テストや宿主細胞プラスミド再活性化法により、XP-C群と同定された（あるいはC群が疑われる）国内の患者由来の培養細胞からゲノムDNAを調製し、XPC遺伝子を構成する16のエクソンとその前後のイントロンの一部を含む領域をそれぞれPCR増幅して、直接シーケンシング法により変異の同定を行った。また、同じ患者細胞から全RNAを調製し、RT-PCR法によ

るXPC全長cDNAの増幅と塩基配列の決定、リアルタイムRT-PCR法によるXPC mRNAの定量解析、DNAマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行ったほか、ウエスタンブロット法によるXPCやその他のタンパク質発現解析を行った。

国内のXP患者由来の細胞としては、細胞バンク等から入手可能な樹立細胞株を使用しており、研究倫理面での問題はない。また一部の細胞は神戸大学大学院医学研究科皮膚科の錦織千佳子教授から提供を受けており、研究に使用することに関して患者・家族からの同意を得ている。

C. 研究結果と考察

昨年度までに日本人のXP-C群患者由来の細胞として、XP3KA、XP4KAの2株についてゲノムDNA塩基配列の解析を行い、それぞれ新規のXPC遺伝子突然変異を同定した。一方、神戸大学大学院医学研究科皮膚科において、宿主細胞プラスミド再活性化法によりXP-C群であることが示唆された患者細胞（N.H.）について同様の解析を行ったところ、XPC遺伝子の突然変異は検出されなかった。この患者細胞では紫外線照射後のDNA損傷の修復に遅延が見られるものの（図1）、1) RT-PCRにより増幅した全長XPC cDNAにおいて変異が見出されないこと、2) XPC mRNA量が正常レベルであること、3) 全長XPCタンパク質の発現がウエスタンブロッ

トで確認できることなどから (図2)、XPC 遺伝子そのものには異常がないことが強く示唆された。

この患者細胞に紫外線を照射したところ、XPCタンパク質の可逆的なユビキチン化の誘導が観察されたことから、XP-E 群である可能性は低いと考えられた。一方、DNA マイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子発現解析から示唆された、いくつかのDNA 修復関連タンパク質の発現をウエスタンブロット法により調べたところ、ファンconi貧血症の原因遺伝子産物の一つである FANCD2 タンパク質の発現がこの患者細胞で顕著に低下していることを見出した。現在のところ、この患者細胞で FANCD2 遺伝子の変異は同定されていないが、cDNA 発現ライブラリーによる紫外線感受性の相補実験とともに、変異遺伝子の同定を試みている。

さらに、日本人XP-C 群患者由来の細胞としてXP40OS 細胞を細胞バンクから入手し、上記と同様の方法で XPC 遺伝子の突然変異の同定を試みた。その結果、大変興味深いことにゲノム DNA レベルで塩基配列の異常が見出されなかったことに加え、mRNA 発現レベル、XPC タンパク質発現、紫外線

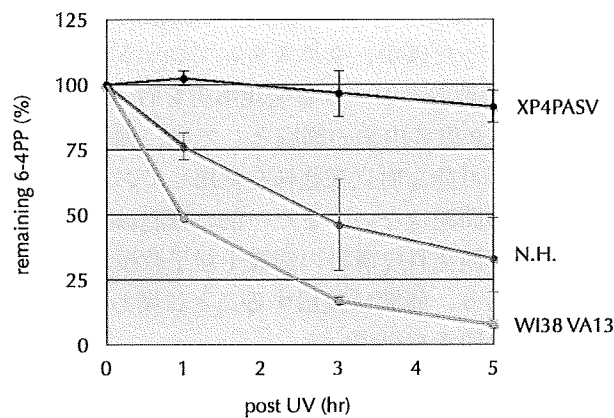


図1 患者由来細胞の紫外線損傷除去活性

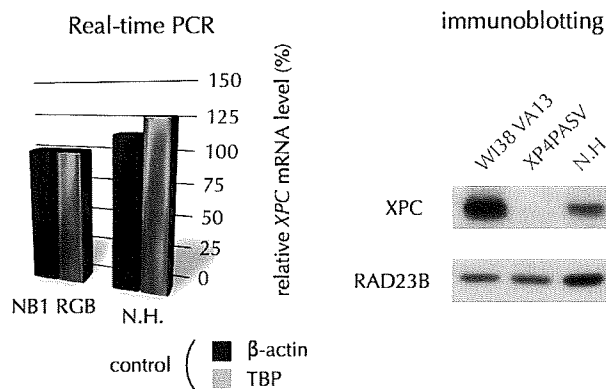


図2 患者由来細胞における XPC の発現

損傷修復速度など、さまざまな点において上記の患者細胞 (N.H.) と非常に類似した性質を示すことが明らかになった。すなわち、従来の解析法では XP-C 群が示唆されるような症例で、実際には XPC 遺伝子以外の異常が原因となっているケースがわが国において複数存在する可能性が考えられる。上記の患者細胞と同様、原因遺伝子の同定を今後進めていく予定である。

D. 健康危険情報

E. 研究発表

1. 論文発表

Nishi, R., Alekseev, S., Dinant, C., Hoogstraten, D., Houtsmuller, B.A., Hoeijmakers, J.H.J., Vermeulen, W., Hanaoka, F., and Sugasawa, K.: UV-DDB-dependent regulation of nucleotide excision repair kinetics in living cells. *DNA Repair* 8: 767-776 (2009).

Sugasawa, K.: UV-DDB: A molecular machine linking DNA repair with ubiquitination. *DNA Repair* 8: 455-465 (2009).

Sugasawa, K., Akagi, J., Nishi, R., Iwai, S., and Hanaoka, F.: Two-step recognition of DNA damage for mammalian nucleotide excision repair: directional binding of the XPC complex and DNA strand scanning. *Mol. Cell* 36: 642-653 (2009)

Sugasawa, K.: Regulation of damage recognition in mammalian global genomic nucleotide excision repair. *Mutat. Res.* in press (2010).

2. 学会発表

Sugasawa, K.: Molecular basis for DNA damage recognition in nucleotide excision repair. International Symposium on DNA Damage Response and Repair Mechanisms. Crete, Greece, Apr. (2009).

Tak, Y.-S., Shimura, T., Nishi, R., Okuda-Shimizu, Y., Shimizu, Y., Hanaoka, F., and Sugasawa, K.: Post-translational modification of XPC protein controls global genome nucleotide excision repair. 3rd ASM Conference on DNA Repair and Mutagenesis. Whistler, Canada, May (2009).

Sugasawa, K.: Coordinated actions of multiple DNA damage detectors in nucleotide excision repair. Conference on Medical Genomics and Proteomics. Novosibirsk, Russia, Sep. (2009).

酒井 恒、菅澤 薫: DNA 損傷に伴う FANCD2

(FA-D2) タンパク質の caspase 依存的切断. 日本遺伝学会第 81 回大会 松本 9 月 (2009).
西良太郎、Vermeulen, W., Hoeijmakers, J.H.J., 岩井成憲、花岡文雄、菅澤 薫: Centrin 2 は損傷認識因子 XPC と DDB2 の相互作用を促進する. 2009 年度複製・組換え・修復ワークショップ 彦根 Nov. (2009).
Sugasawa, K.: DNA damage recognition coordinated by the multiple xeroderma pigmentosum gene products. 第 32 回日本分子生物学会年会 横浜 Dec. (2009).
Nishi, R., Vermeulen, W., Hoeijmakers, J.H.J., Hanaoka, F., and Sugasawa, K.: Centrin 2 mediates interaction between XPC and DDB2. 第 32 回日本分子生物学会年会 横浜 Dec. (2009).
Sakai, W., and Sugasawa, K.: Genotoxic stress targets Fanconi anemia group D2 protein for fragmentation by the caspase-mediated pathway. 第 32 回日本分子生物学会年会 横浜 Dec. (2009).

Tak, Y.-S., Shimura, T., Nishi, R., Okuda-Shimizu, Y., Shimizu, Y., Hanaoka, F., and Sugasawa, K.: Post-translational modification of XPC protein controls global genome nucleotide excision repair. 第 32 回日本分子生物学会年会 横浜 Dec. (2009).
Sugasawa, K.: DNA damage recognition mechanism for mammalian nucleotide excision repair. International Conference on Radiation and Cancer Biology at Nagasaki 2010. Nagasaki, Japan, Feb. (2010).

F. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特許登録

菅澤 薫、花岡文雄、清水祐一郎: DNA 損傷修復剤とスクリーニング方法 (特許権者: 独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人理化学研究所)
特許第 4402349 号 (平成 21 年 11 月 6 日)

「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^sS）の原因遺伝子産物の機能解析やクローニング、及び、その欠損による患者の分子病態解析を研究目的とした。本年度は、1) 紫外線損傷部位における DDB2（XPE）ユビキチンリガーゼ複合体の機能とその活性制御機構の解析、2) XPD 新規蛋白質複合体（MMXD と命名）の同定と機能解析、及び患者細胞における MMXD 機能異常についての解析、3) CSB の DNA topoisomerase I-DNA covalent complex の修復過程における役割と患者における異常についての解析、4) 原因遺伝子が未知の UV^sS/A 群（Kps3 患者）UV^sS について、当該原因遺伝子のクローニングをめざし、マウス単一染色体移入、CGH array 法による当該遺伝子の絞り込み、を行った。

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（xeroderma pigmentosum: 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（Cockayne syndrome: CS）、CS 様徴候に加えて毛髪脆弱、皮膚角化等を示す硫黄欠乏性毛髪発育異常症（trichothiodystrophy: TTD）、日光過敏性や色素班を示す紫外線高感受性症候群（UV-sensitive syndrome: UV^sS）などが知られており、生命維持における 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する。TTD は TTDA 遺伝子以外に XPB、XPD 遺伝子の突然変異でも発症し、UV^sS は CSA、CSB 遺伝子の他に、未知の遺伝子である UV^sS/A の突然変異で発症する。UV^sS/A 以外の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 nucleotide excision repair: TC-NER）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 nucleotide excision repair: GG-NER）の 2 つの機構が存在する。CS や UV^sS では TC-NER 機構が、XP-C や XP-E では GG-NER がそれぞれ選択的に欠損している。本研究では、XPE、XPD、CSB の機能解析、及び、UV^sS/A 遺伝子のクローニングを行い、NER 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

XPE、XPD、CSB の生化学的、分子生物学的機能解析を行った。未知の UV^sS/A 遺伝子について、微小核導入法や CGH array 法を用い原因遺伝子の同定を試みた。

（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、個人情報と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、インフォームドコンセント、個人情報管理体制度などは免除される。

C. 研究結果

1. 紫外線損傷部位における DDB2 (XPE) ユビキチンリガーゼ複合体の機能とその活性制御機構の解析

UV-damaged-DNA binding protein (UV-DDB)は DDB1、DDB2 の2つのサブユニットからなる複合体で、GG-NER において、損傷による DNA 構造の変化の認識に関与すると考えられている。また DDB2 は XP-E の原因遺伝子産物である。UV-DDB はさらに cullin4A、Roc1 とユビキチンリガーゼ (E3) 複合体を形成し、XPC、ヒストンなどをユビキチン化することから、GG-NER の初期過程におけるこの E3 複合体の機能が注目されている。そこで我々は紫外線照射した DNA を用いてモノヌクレオソームを再構成し、精製した DDB2 複合体を加えることでその E3 活性が損傷部位においてどのような影響を及ぼすのかについて解析した。その結果、ヌクレオソーム中のヒストンのユビキチン化には、DDB2 複合体の損傷DNA 結合活性と E3 活性の両方が必要であることがわかった。興味深いことに、DDB2 複合体によるヒストンのユビキチン化はヌクレオソーム構造の安定性に影響を及ぼさなかった。また XPC は、損傷部位において DDB2 複合体によりユビキチン化されるだけでなくその E3 活性を促進すること、一方で紫外線照射後のクロマチン画分において DDB2 複合体と相互作用する因子として新たに同定された Ku70/86 が、損傷部位においてその E3 活性を抑制することがわかった。さらに、損傷部位における DDB2 複合体を介したユビキチン化が XPA のリクルートに関わることを示唆する結果が得られた (図1)。以上の結果は、DDB2 複合体の E3 活性がクロマチン構造をとる DNA 上の損傷部位において様々に制御され、GG-NER 機構に寄与していることを示唆している (竹立ら: *Molecular and Cellular Biology*、投稿後の改訂中)。

2. XPD 新規蛋白質複合体の同定と機能解析、及び患者細胞における MMXD 機能異常についての解析

基本転写因子TFIIH は 10 個のサブユニットからなる蛋白質複合体であり、XPB、XPD、TTA を含

み、NER にも必須の因子である。我々は、XPD 蛋白質が、TFIIH とは独立して、MMS19 や MIP18 (新規蛋白質)等と新規複合体を形成することを明らかにし (図2)、MMXD (MMS19-MIP18-XPD) 複合体と命名した。そして、MMS19、MIP18、XPD が細胞分裂期で紡錘体と一部共局在すること、それらのノックダウン細胞は分裂期で紡錘体やクロマチンの局在異常を示し、分裂間期細胞で異常核を示すことを明らかにした。また、XP-D や XP-D/CS 患者で

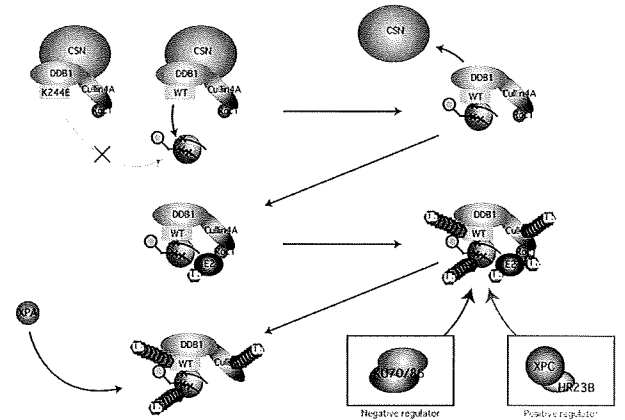


図1

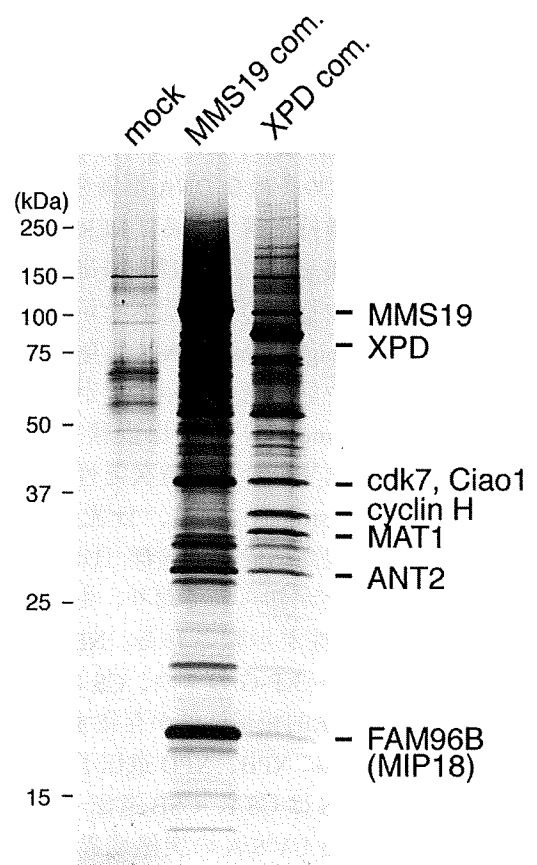


図2

は、XPD のノックダウン同様に、細胞分裂期の紡錘体やクロマチンの局在異常、分裂間期での異常核を高頻度で示すことを明らかにし、XP-D や XP-D/CS 患者の病態に MMXD の機能異常が関与していることを示唆した (伊藤ら: *Molecular Cell*, 投稿後の改訂中)。

3. CSB の DNA topoisomerase I-DNA covalent complex の修復過程における役割と患者における異常についての解析

UV^s は、CS と同様に TC-NER 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 患者 (UV^sIKO) が CSB 遺伝子に null 突然変異をもち、CSB 蛋白質が全く検出できないことを報告した。逆に、重篤な神経症状、身体発育不全を示す CS-B 患者では変異短縮 CSB 蛋白質が生成されていた。これらの結果から、変異短縮 CSB 蛋白質が何らかの阻害効果を持ち、そのことが CS 徴候の発症に関連していると考えた (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101: 15410-15415, 2004)。そこで、CS-B 細胞で認められる短縮 CSB 蛋白質の構造を解析した。CSB 遺伝子イントロン 5 にトランスポゾン PGBD3 が挿入されており、しかも alternative splicing によって CSB の N 末端部分とトランスポゾンの融合蛋白質 (CSB-PGBD3 fusion protein: CPF) が正常細胞や CS-B 細胞で存在することを明らかにした。ある CS-B 細胞 (CS3PV) では、CSB の N 末端部分のみからなる変異 CSB 蛋白質 (3PV-CSB) が安定に産生されていた。CPF や 3PV-CSB の阻害的な機能を解明する目的で、野生型 CSB (WT-CSB)、CPF、3PV-CSB 蛋白質に結合する蛋白質を精製し、その一つが DNA トポイソメラーゼ I (DNA topoisomerase I: Top1) であることを明らかにした。Top1 は DNA 複製や転写に際し DNA に生じる捻れを解消するため DNA にニックを入れ、捻れ解消後は再結合する活性を持つ。しかし、Top1 特異的阻害剤である camptothecin (CPT) 存在下では再結合が阻害され、Top1-DNA covalent complex (Top1-cc) が蓄積するため、細胞はそれを修復機構によって除去する必要がある。我々は、CPF や 3PV-CSB を発現する細胞では CSB を発現しない細胞に比べ、Top1-cc の修復が低下していることを明らかにした。しかし、WT-CSB を共存させるとその阻害は抑制された。以上の結果から、変異 CSB 蛋白質が Top1-cc の修復過程を阻害し、CS の病因になっていることが示唆された (堀端ら: 論文投稿中)。

4. 未知の UV^s/A 群原因遺伝子のクローニング

TC-NER 異常を示す 3 つの相補性群 UV^s の中で、原因遺伝子が未知の UV^s/A 群 (Kps3 患者) について、当該原因遺伝子のクローニングを試みた。微小核融合法により Kps3 細胞へマウス単一染色体移入を行い、紫外線抵抗性を獲得した複数の Kps3 細胞を得た。さらに、微小核にガンマ線を照射することで断片化した染色体を導入した Kps3 細胞からも紫外線抵抗性クローンを得た。各クローンに共通してマウス 5 番染色体が導入されていることをマルチカラー FISH 法と染色体特異的プライマーを用いた PCR 法によって確認した。さらに、比較ゲノムハイブリダイゼーションアレイ (CGH array) 解析から、紫外線抵抗性を獲得した 4 個の独立した Kps3 トランスフェクタントが保持する唯一のマウスゲノム共通領域として、5 番染色体中の 600kb の領域を同定した。また、マウス 5 番染色体の移入によって Kps3 細胞の TC-NER が回復することも確認し、当該遺伝子領域に UV^s/A 遺伝子が座位することは確実と思われた (X. Zhang ら: 未発表データ)。

D. 考察

主な研究成果に関する論文を 2009 年度中に発表することができなかった。それらは現在投稿中であり、そのうち 2 つは改訂版の投稿準備中である。

E. 結論

DDB2 (XPE)、XPD、CSB の新規機能を明らかにし、XP や CS の病因解明に貢献した。また、TC-NER に関与する未知の UV^s/A 群 (Kps3 患者) 原因遺伝子のクローニングに向け、当該遺伝子の絞り込みを行った。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Kiyoji Tanaka and Shinsuke Ito. Transcription-Coupled Repair and Its Defect in Cockayne Syndrome. In "*Molecular Mechanisms of Cockayne Syndrome*", Landes Bioscience, published on August 1, 2009.
- (2) 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*, 106: 920-928, 2009.
- (3) Arato Takedachi, Masafumi Saijo and Kiyoji

Tanaka. The DDB2 complex-mediated ubiquitylation around DNA damage is oppositely regulated by XPC and Ku, and contributes to the recruitment of XPA. *Molecular and Cellular Biology*, under revision.

- (4) Shinsuke Ito, Li Jing Tan, Daisuke Andoh, Takashi Narita, Mineaki Seki, Yasuhiro Hirano, Isao Kuraoka, Keiko Narita, Yasushi Hiraoka and Kiyoji Tanaka. MMXD, a TFIIH-independent XPD-MMS19 protein complex involved in chromosome segregation. *Molecular Cell*, under revision.
- (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, Defective repair of topoisomerase I-DNA covalent complex in CS-B cells. *International Symposium on "DNA Damage Response and Repair Mechanisms"*, Crete, Greece, April 20-23, 2009.
- (2) Kiyoji Tanaka, Shinsuke Ito, Katsuyoshi Horibata, Takashi narita and Masafumi Saijo. Novel function of nucleotide excision repair factor and its relevance to xeroderma pigmentosum and Cockayne syndrome. *10th International Conference on Environmental Mutagens*, Florence, Italy, August 20-25, 2009.
- (3) Kiyoji Tanaka. Cellular functions of the genes responsible for Cockayne syndrome and UV-sensitive syndrome. *Cockayne syndrome: Molecular Mechanisms and Translational Implications*, Boston, USA, September 12-15,

2009.

- (4) Kiyoji Tanaka. DNA repair and transcription deficiencies in xeroderma pigmentosum and Cockayne syndrome. *The 40th International Symposium of The Princess Takamatsu Cancer Research Fund*, Tokyo, Japan, November 9-12, 2009.
- (5) 末友寿美、西條将文、田中亀代次、「ヌクレオチド除去修復における DDA1 の機能解析」第 32 回日本分子生物学会年会、横浜、2009 年 12 月 9 日～12 日
- (6) 竹立新人、西條将文、田中亀代次、「The DDB2 complex-mediated ubiquitylation around the lesions in chromatin contributes to the global genome nucleotide excision repair」、第 32 回日本分子生物学会年会、横浜、2009 年 12 月 9 日～12 日
- (7) 成田 央、伊藤伸介、田中亀代次、「ヌクレオチド除去修復因子複合体の機能解析」第 32 回日本分子生物学会年会、横浜、2009 年 12 月 9 日～12 日
- (8) 鈴木恭子、西條将文、倉岡 功、成田 央、田中亀代次、「ヒト RNA ポリメラーゼ II による転写の正確性と転写伸張因子添加による影響」第 32 回日本分子生物学会年会、横浜、2009 年 12 月 9 日～12 日

H. 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) の神経症状への抗酸化療法開発を目指して酸化ストレス研究を進めた。A 群 XP (XPA)・D 群 XP 患者で尿・髄液中の酸化ストレスマーカーを測定したところ、一部の XPA 患者で尿中の抗酸化能 (指標 potential antioxidant) の低下、髄液中 DNA 酸化ストレスマーカーの上昇が認められた。生体内に長時間残存する DNA の酸化ストレスマーカー thymidine glycol に関する剖検脳での免疫組織化学染色では、XP > Cockayne 症候群に、淡蒼球・小脳歯状核変性への DNA 酸化ストレスの関与が示唆された

A. 研究目的

A 群色素性乾皮症 (XPA) の脳病変における DNA 酸化ストレスの関与を明らかにしてきた。また、XPA・D 群色素性乾皮症 (XPD) の患者尿で酸化ストレスマーカー測定を行い、脂質酸化ストレスマーカー hexanoyl-lysine (HEL) の上昇がみられることを昨年度の本会議で報告した。本年度は、XPD・XPD 患者数を増やして尿での酸化ストレスマーカー測定を継続するとともに抗酸化能の測定も試みた。さらに一部の XPD・XPD 患者で髄液の酸化ストレスマーカー測定を開始した。加えて XPA と Cockayne 症候群 (CS) の剖検脳において、塩基 deoxythymidine から生じる DNA 酸化ストレスマーカー thymidine glycol (TG) の蓄積を免疫組織化学的に検討した。

B. 研究方法

1) XPA8 例と XPD1 例の尿において、HEL と DNA 酸化ストレスマーカー (8-OHdG)、銅イオン還元反応を利用したトータルな抗酸化能を短時間で測定する potential antioxidant (PAO) を日本老化制御研究所 (JaICA) 製キットで定量した。2) XPA3 例と XPD1 例の髄液において HEL と 8-OHdG を定量した。3) XPA・CS のそれぞれ 5 剖検例の側頭葉皮質、大脳基底核、小脳、脳幹の連続切片において

JaICA 製 TG モノクローナル抗体による免疫染色を行った。

(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. 研究結果

1) 尿中 HEL 上昇を示した XPA4 例中 1 例と XPD1 例で PAO の軽度低下がみられた。XPD1 例での HEL 上昇は年齢が長じるにつれて正常化した (表 1)。2) XPA1 例で髄液中 8-OHdG 値の上昇が認められた (表 2)。3) XPA5 例中 4 例の淡蒼球と小脳歯状核、3 例の海馬歯状回と小脳顆粒層でグリア細胞 > 神経細胞に TG 陽性核が認められた (表 3)。一方、CS5 例中 4 例で被殻の石灰化周囲と小脳顆粒層のグリア細胞に TG 陽性核が確認された。

D. 考察

XP 患者尿では脂質酸化ストレスマーカーの上昇に比して、抗酸化能の低下はそれ程目立っていなかった。尿酸化ストレスマーカーを呈する年長の XPA 患者が抗酸化機能を有するビタミン C・E 等を服用していることが関係している可能性が考えら

表1 尿中の酸化ストレスマーカー値・抗酸化能のまとめ

症例	年齢・性	運動機能	聴力障害	呼吸障害	8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (ng/mg cre.)	Hexanoyl-lysine adduct (pmol/mg cre.)	Potential antioxidant (μmol/L antioxidant power)
対照 (17例, 8~58歳)				(平均±SD)	10.5±2.9	69.2±37.7	10509±5211
				(平均+2SD)	16.3	144.6	5298
XPA1	** 29歳・男性	寝たきり	重度	気管切開	23.3 ↑	188.3 ↑	5684
XPA2	26歳・男性	寝たきり	重度	気管切開	15.3	149 ↑	6045
XPA3	24歳・女性	寝たきり	重度	気管切開	38.1 ↑	937.6 ↑	9773
XPA4	22歳・女性	介助歩行	中等度	レボドパ	40 ↑	520.6 ↑	5571
XPA5	19歳・男性	車椅子	重度	レボドパ	14.6	43.7	(n/a)
	18歳・男性	介助歩行	重度	(中等度)	10.8	(n/a)	11128
XPA6	19歳・女性	車椅子	重度	レボドパ	19.5 ↑	536.6 ↑	4256 ↓
**	17歳・女性	介助歩行	中等度	レボドパ	12.7	211.5 ↑	(n/a)
**	16歳・女性	介助歩行	中等度	(中等度)	12.8	94.6	11955
XPA7	18歳・女性	介助歩行	中等度	(-)	12.5	47.4	7579
XPA8	07歳・男性	自立歩行	軽度	(-)	13.6	117.6	8702
XPA9	07歳・男性	走れる	軽度	(-)	14.9	88.6	13434
XPD1	13歳・男性	自立歩行	軽度	(-)	12.2	86.6	8105
	09歳・男性	自立歩行	軽度	(-)	28.9 ↑	166.1 ↑	4202 ↓
XP				(平均±SD)	19.2±9.7	245.2±262.7	8036±3049
				(T検定, p値)	0.003	0.017	0.06

表2 髄液中の酸化ストレスマーカー値のまとめ

症例	年齢・性	運動機能	聴力障害	呼吸障害	8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (ng/ml)	Hexanoyl-lysine adduct (nmol/L)	Total tau protein (pg/ml)
				(Cutoff index)	0.06	6	500
XPA6	20歳・女性	車椅子	重度	レボドパ	<0.06	0.313	109.91
XPA7	18歳・女性	介助歩行	中等度	(-)	0.177 ↑	5.037	206.104
XPA9	7歳・男性	走れる	軽度	(-)	<0.06	4.047	193.988
XPD1	13歳・男性	自立歩行	軽度	(-)	<0.06	5.962	488.024

表3 A群色素性乾皮症剖検脳での thymidine glycol 免疫組織化学染色結果

年齢/性	海馬			被殻		淡蒼球		視床	
	神経細胞	グリア細胞	歯状回	神経細胞	グリア細胞	神経細胞	グリア細胞	神経細胞	グリア細胞
1 19歳/男性	2+	2+	1+	(-)	(-)	(±)	2+	1+	1+
2 19歳/男性	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	(±)	1+
3 23歳/女性	1+	1+	1+	2+	1+	(±)	2+	1+	(±)
4 24歳/女性	(-)	(-)	(±)	(-)	1+	(-)	(±)	(-)	1+
5 26歳/女性	(-)	(-)	1+	(-)	1+	(-)	1+	(-)	1+
年齢/性	小脳		縫線核		橋核		後索核		
	顆粒細胞	小脳歯状核神経細胞	グリア細胞	神経細胞	グリア細胞	神経細胞	グリア細胞	神経細胞	グリア細胞
1 19歳/男性	(-)	1+	1+	(-)	(±)	1+	2+	1+	1+
2 19歳/男性	1+	1+	1+	(±)	1+	(-)	(-)	(-)	(-)
3 23歳/女性	2+	2+	(±)	1+	2+	1+	2+	2+	1+
4 24歳/女性	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	1+	(-)	(-)
5 26歳/女性	(-)	(±)	(-)	(-)	(-)	(-)	(±)	(-)	1+

れた。一方、髄液中の酸化ストレスマーカーに関しては、少数例での解析ではあったが、8-OHdG 値上昇を示す XPA 例の存在が明らかになった。さらに生体内に比較的長時間残留する DNA 酸化ストレス

マーカー TG の蓄積に関する剖検脳での検討では、8-OHdG と同様に XP > CS で、淡蒼球・小脳歯状核変性への DNA 酸化ストレスの関与が示唆された。

E. 結論

XPでの神経障害にDNA酸化ストレスが関与することがあらためて支持された。一方、尿での酸化ストレスマーカーや抗酸化能の異常には、神経症状のみならず、神経障害に伴い二次的に生じる呼吸障害・耐糖能異常などの合併症、ならびに服用薬物が関与している可能性が想定された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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 2009; 228: 143-6 (レビュー).

- 2) Miyata R, Sasaki T, Hayashi M, et al. Low dose of levodopa is effective for laryngeal dystonia in xeroderma pigmentosum group A. Brain Dev (in press).

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2報). 第51回日本小児神経学会総会、米子(2009、5.30).

H. 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。

D 群およびバリエーション色素性乾皮症に生じた 皮膚悪性腫瘍に対する治療経験とその検討

研究分担者 倉持 朗 埼玉医科大学皮膚科教授

研究要旨

D 群およびバリエーション色素性乾皮症に生じた皮膚悪性腫瘍に対し、治療を行ったので、その症例を提示し、検討を行った。

色素性乾皮症における皮膚悪性腫瘍の予防には、色素性乾皮症を早期に診断し、紫外線曝露を防ぐことが重要である。

基底細胞癌、有棘細胞癌や悪性黒色腫については、出来る限り早期に切除を行うのが原則であるが、進行癌に対する治療で、化学療法を施行した報告例は少なく、検討されていない。今回バリエーション色素性乾皮症に生じた進行期悪性黒色腫に対し化学療法を施行し、長期間、回復しない汎血球減少を来した症例を経験した。アルキル化剤の使用については、色素性乾皮症であるために中止したり、通常とは異なる投与法を要する、ということはないと考えられている。

難波純英
土田哲也

埼玉医科大学皮膚科助教
埼玉医科大学皮膚科教授

今回、XPD、XPV に生じた皮膚悪性腫瘍 3 症例を経験したので、治療の実際を提示し、その問題点について検討した。

A. はじめに

色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum: XP) はヌクレオチド除去修復 (nucleotide excision repair: NER) 欠損型の A ~ G 群と、NER は正常であるが損傷乗り越し機構に障害のあるバリエーション型の 8 つの相補性群に分けられる。

A、C 群は、乳幼児期から露光部皮膚にサンバーンを来とし、早ければ 10 歳前後より皮膚癌を生じる。D 群およびバリエーション群は、皮膚症状がそれほど重篤ではないため診断が遅れることにより、紫外線への曝露が多くなり、やはり皮膚悪性腫瘍の出現頻度が高くなる。

基底細胞癌 (basal cell carcinoma: BCC)、悪性黒色腫 (malignant melanoma: MM) でも早期癌であれば、外科的切除により根治が得られるが、進行癌については化学療法が必要となる場合がある。XP に生じた皮膚悪性腫瘍に対して化学療法を行った例は、過去に数例しか報告されていない。

B. 症例

症例 1 : 40 歳女

家族歴 : 両親がいとこ婚

現病歴 : 幼少時の日光曝露にて、両上肢、顔面に日焼け後の色素沈着が残るため、近医を受診したが『大丈夫』といわれ、特に遮光に気をつけることなく経過。40 歳時に左頬部に 8 × 6mm 大の BCC が出現したため、当科紹介受診。

診断 : 1) 不定期 DNA 合成能 (UDS) が 45%。2) 紫外線致死感受性 ($D_0 = 0.9\text{J/m}^2$)。3) 細胞融合を用いた相補性群試験 (complementation test) にて、D 群 85TO とのみ相補せず。以上より XPD 群と診断 (東京女子医科大学第二病院、佐藤吉昭先生に依る)。神経症状の合併はない。

経過 : 右頬に潰瘍を形成した黒色小結節、右鼻翼部に黒色丘疹が出現。

右頬部腫瘍の病理組織検査では、表皮基底層から