

200926160A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

毛細血管拡張性小脳失調症の実態調査、早期診断法確立と、  
病態評価に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 水谷 修紀

平成22（2010）年 5月

# 目 次

I. 総括研究報告	
毛細血管拡張性小脳失調症の実態調査、早期診断法確立と、病態評価に関する研究	
水谷 修紀	----- 1
II. 分担研究報告	
1. 毛細血管拡張性小脳失調症の実態調査、早期診断法確立に関する研究	
森尾 友宏	----- 11
2. 毛細血管拡張性小脳失調症の診療基盤の整備と病態の解明	
高木 正稔	----- 16
3. 毛細血管拡張性小脳失調症患者の神経評価スケールの作成	
熊田 聡子	----- 20
4. 毛細血管拡張性小脳失調症の神経障害に関する臨床神経病理学的解析	
林 雅晴	----- 21
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 22

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

## 毛細血管拡張性小脳失調症の実態調査、早期診断法確立と、病態評価に関する研究

研究代表者 水谷 修紀

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 発生発達病態学分野・教授

研究要旨：毛細血管拡張性小脳失調症(AT)のフォローアップ調査、ATにおける呼吸器機能、嚥下機能、神経機能などの評価法の確立、ATにおける免疫の評価、AT簡易診断法の確立と検証、ATMの腫瘍発生防御機構における役割の検討、ATにおける糖尿病発症機構の研究、ATにおける免疫機能発生発達の研究、ATにおける小脳失調の研究を行った。またATに関する情報を集約したホームページを作成し情報を広く発信し、東京医科歯科大学を中心とした診療拠点を整備し、ATの診療にかかわるであろう医療関係者および患者、患者家族にとって有意義なシステムを構築した。

研究分担者氏名

森尾 友宏・東京医科歯科大学・准教授

高木 正稔・東京医科歯科大学・講師

熊田 聡子・東京都立神経病院・医長

林 雅晴・東京都神経科学総合研究所

・副参事

### A. 研究目的

この研究では毛細血管拡張性小脳失調症(AT)患者を対象としたデータ収集を行い、早期診断・早期診療を目指した簡易診断法や、AT患者の呼吸・嚥下・神経機能評価法を開発し、AT責任遺伝子産物ATMの新たな機能を探索することから、ATの診断・治療に還元することを目的とする。得られた結果は、新たな患者診療の手引きとして提供する。

### B. 研究方法

研究班を中心とした共同研究体制によっ

て実施する。また原発性免疫不全症班とは連携により、情報や検体の共有を行う。

#### 1) 毛細血管拡張性小脳失調症(AT)のフォローアップ調査

2007年の全国調査は、症状・所見、データを網羅する内容であった。今回は(1)診断と(2)合併病変及び社会的問題点の詳細なデータ収集、及び(3)データベース構築を目的とした調査を行い、診断未確定例には診断手段を提供する。今回は前回回答を得た基幹病院を中心とした調査を行う。

#### 2) ATにおける呼吸器機能、嚥下機能、神経機能などの評価法の確立

ATでは進行性神経障害に伴い、様々な機能障害を呈するが、誤嚥を回避する気道・食道の機能、呼吸機能、神経・運動・高次脳機能の正確な評価は困難である。海外施

設及び国外患者支援団体との共同体制の中で、神経専門医を中心に、情報を収集し、機能評価法を確立する。

### 3) ATにおける免疫の評価

ATにおける免疫不全症発症の機構を明らかにするため臨床検体を用いた免疫の評価を細胞表面抗原の解析やTRECを用いた解析を行う。

### 4) AT簡易診断法の確立と検証

DNA損傷刺激後のリン酸化ATMをフローサイトメトリーで測定することによる、ATの簡易診断法を開発する。さらに実用化に向け、微量検体で迅速かつ確実に解析する工夫をすると共にATMヘテロ異常を高感度で検出するシステムを確立する。また、AT類似疾患を見逃さないために、DNA損傷修復異常全般を検出する方法も模索する。

### 5) ATMの腫瘍発生防御機構における役割の検討

AT患者での腫瘍発生は大きな問題であり、化学療法に対する副作用も顕著で予後も著しく不良である。ATMによる腫瘍発生監視機構とその破綻を、分子、細胞、個体レベルで解析する。特にATM異常と小児腫瘍発生について重点的に解明を試みる。

### 6) ATにおける糖尿病発症機構の研究

るい瘦や耐糖能異常はAT患者における問題の一つである。ATMの脂肪細胞の分化における役割や、ATM欠損における耐糖能異常について、詳細な検討を行い、その基礎病態を明らかにする。

### 7) ATにおける免疫機能発生発達の研究

ATの主要症状である免疫不全についてリンパ球分化の観点から検討を行う。

### 8) ATにおける小脳失調の研究

ATの主要症状である小脳失調について病理学的な解析を行う。

### 9) ATに関する情報発信環境の整備

ホームページを作成し、医療者、患者家族への情報の発信を行う。

### 10) ATに関する診療中核施設の整備

ATに関する知識の豊富な医師を持つ施設を中核として専門性の高い連携体制を整える。また治療法の指針を作成する。

### 11) AT患者会の設立

患者家族に対するATに関する情報発信環境の整備の一環として患者会の設立を行う。

#### 「倫理面への配慮」

アンケート調査は研究対象者に対する人権擁護上の配慮、個人情報の保護を最大限に行った。また疫学研究に関する倫理指針を遵守した。実験上必要とされる遺伝子資料、動物の取り扱いは、「生物の多様性に関する条約のバイオセーフティーに関するカルタヘナ議定書」に基づく「遺伝子組み換え生物等の使用等の規則による生物多様性の確保に関する法律」を遵守し、また東京医科歯科大学内動物実験規則、組み換えDNA実験安全管理規則に準拠した。

## C. 研究結果

### 1) 毛細血管拡張性小脳失調症(AT)のフォローアップ調査

今回、2007年の全国調査で回答の得られたAT患者の診療を行っている60施設に2次調査を依頼した。33通の回答を得て中間解析を行った。21名の追跡可能だった症例のうち9名が死亡していた。死亡原因はうち6例が呼吸器合併症で、1例が悪性リンパ腫であった。

### 2) ATにおける呼吸器機能、嚥下機能、神経機能などの評価法の確立

AT患者のための適切なリハビリテーションプログラムを構築し、また神経障害に対する治療薬の効果を的確に評価するためには、神経症状の客観的評価基準が不可欠である。最近AT診療に携わる各国の小児神経科医による国際委員会が発足し、患者の神経症状を半定量的に評価するスケールの作成を開始した。本年より本研究班の一員が同委員会に参加し、海外との情報交換を行った。今後は、本スケールを用いた国内患者の評価を行いその有用性を検証するとともに、本邦の小児神経科医に情報を発信していく。

### 3) ATにおける免疫の評価

患者ではT細胞の新生を示す指標であるTRECs (T cell receptor excision circles)が低く、またそれを反映してCD45RA陽性naïve T細胞が減少していること、約10%の患者では免疫グロブリンクラススイッチ異常があることを明らかにした。感染症との関連では、EBVに対して脆弱性を示す可能性が示唆された。

### 4) AT簡易診断法の確立と検証

フローサイトメトリー法を用いたATの簡易診断方法の確立を行った。本方法を用いることにより、従来1週間から数カ月かかったATの細胞生物学的な診断を1日で行えるようになった。

### 5) ATMの腫瘍発生防御機構における役割の研究

発がん機構を明らかにするため骨髄増殖性疾患モデルマウスであるBCR-ABLトランスジェニックマウスとATMノックアウトマウスを交配した。その結果ATMヘテロノックアウトマウスのバックグラウンドのみでマウスの白血病化が促進されることが明らかとなった。

### 6) ATにおける糖尿病発症機構の研究

1次調査により、約30%のAT患者に糖尿病を発症することが明らかとなった。この原因として、脂肪細胞の分化障害がインスリン抵抗性を規定しているのではないかと考え検討を行ったところ、ATMの機能が欠損することにより脂肪細胞の分化が障害され、その結果インスリン感受性に働くアディポネクチンが分泌されないため、AT個体でインスリン抵抗性が生じ、その結果2型糖尿病が発症することが明らかとなった。

### 7) ATにおける免疫機能発生発達の研究

ATにおける発がん機構の解明に関しては白血病リンパ腫の発症頻度が高い点からリンパ球分化とがん遺伝子によるゲノム不安定性発症機構に注目し研究を行っ

た。

マウス ES 細胞を用いた研究から A-T 責任遺伝子 ATM の機能が欠損することにより、T リンパ球分化が double negative 3 (DN3) ステージで止まることを明らかにした。

## 8) ATにおける小脳失調の研究

Ataxia telangiectasia-like disorder (ATLD) の兄弟剖検例において、中枢神経系全般にみられる Mre11 蛋白表出低下に加えて、DNA の酸化ストレスが関与して限局的な小脳変性 (Purkinje 細胞の脱落) が生じることを証明した。AT においても同様な病態の追究が、小脳変性の解明に有用であると考えられた。

## 9) ATに関する情報発信環境の整備

AT患者の会の設立と患者の疾患に対する理解促進のため、ホームページの作成を行った。ホームページ作成に当たっては、米国 A-T Children's project の許諾の下に同ホームページの日本語版制作を行うことにした。同ホームページの中から患者家族にとって有用と考える情報の抽出をおこない、わかりやすい表現で翻訳した。内容は AT の疾患概念から遺伝、診断、予後、日常生活におけるアドバイスを含むものとなっており、患者家族のみならず、AT の診療経験の乏しい医療関係者にとっても重要な情報を提供できるものとなっている。また AT 診断のてびきを作成し、ホームページ上で公開した。  
[www.tmd.ac.jp/med/ped/atcp/index.html](http://www.tmd.ac.jp/med/ped/atcp/index.html)

## 10) ATに関する診療中核施設の整備

10-1) AT 治療センターの設立に向けた準備

AT 治療センター設立に向け海外の状況の視察を行った。また希少疾患診療においては優れた AT 専門医との連携が必須と考え、海外の著名な AT 専門医 (米、英、伊など) との連携システムを構築した。これにより本邦において AT 治療センターを設立したい、情報の収集と適切な医療が行える体制を確立できると考えられる。

10-2) AT に発症した悪性腫瘍疾患治療ガイドラインの作成

多数例の AT に発症した悪性腫瘍診断経験のある St. Jude Children's Research Hospital より AT に発症した悪性腫瘍治療のガイドラインを入手した。これに基づき生存率の非常に低い AT に発症した悪性腫瘍の治療方法の指針を検討した。そのためにも AT 治療センターと連携しコンサルテーションが行えるシステムが必要と考えられ、St. Jude Children's Research Hospital との連携システムを構築した。

## 11) AT患者会の設立

AT 患者の会の設立し情報の共有を図ることにより患者の日常生活の質の向上、医療の向上に向けた準備を行った。AT 患者友の会は患者家族中心となることを踏まえ、患者家族に本研究目的意を広く広報し、AT 患者友の会設立に向けたボランティアの募集を行い、1 家族の協力を得られた。今後、二次調査を利用して、各地域で核となりうる家族ならびに主治医とコンタクトを試みる。全国的な患者家族会組織の設立に向けたネットワークの構築への第一歩を踏み出した。

#### D. 考察

AT患者診療を今後展開していくに必要な基礎研究、臨床面での土台を作ることができた。

まず2007年に引き続き日本におけるATの実態把握のためにフォローアップ調査を行った。本疾患は非常に予後不良の疾患であり、新たな治療法開発が再確認された。また死亡原因の上位を占める呼吸器合併症、悪性腫瘍への対策が必要なことが、明らかとなった。呼吸器合併症の多くは誤嚥性肺炎に引き続き発症するものと推察される。そこでATにおける呼吸器機能、嚥下機能、神経機能などの評価法の確立を行い、一定の評価表に基づくリハビリテーションの介入を行える容易になった。今後前方視的に評価、リハビリテーションを行いレトロスペクティブなコーホートと比較検討していく必要があると考えられた。この様にATの診療を行っていく上で様々な困難があることが明らかとなり、こういった困難を乗り越えていくために、また日本全国で比較的均一な医療を行っていくためには、正確な診断、一定の指針が必要である。

本研究班ではフローサイトメトリー法を用いたATの簡易診断方法の確立を行い、また遺伝子診断をPIDJとの連携で行える体制を確立した。また診療における指針となるべき、診断基準、治療指針を作成し、ATに関する情報を発信するホームページを作成した。これらにより医療従事者、また患者家族の受ける利益は非常に大きいと考えられる。

将来的にATの治療法を確立して行くには、基礎研究による病態の理解が重要と考えられる。ATにおける神経症状発症機構、耐糖

能異常、免疫不全、発がん性に注目して各々の基礎研究を推進した。なかでも耐糖能の原因が脂肪細胞の分化障害によることを証明できた意義は非常に大きいと考えられる。この発見からATに発症した耐糖能異常の治療法として脂肪細胞の分化を誘導するpioglitazone (アクトス<sup>®</sup>) やtroglitazoneが治療に有用である可能性が示唆された。

AT類縁疾患でMre11異常症のATLDの脳の検討から酸化ストレスが広範囲で起こっていることが明らかとなった。この結果から神経症状の進行の抑制に抗酸化剤が有用となる可能性が示唆された。ATでどのように免疫不全が発症するかリンパ球分化の観点から研究を行い、従来から言われているT細胞受容体 $\alpha$ 鎖の再構成の失敗によるリンパ球分化の障害以外にもT細胞受容体 $\beta$ 鎖の再構成の段階で障害があることが明らかとなった。これらの発見から、リンパ球分化と免疫不全との関連でDNA障害応答機構にかかわる分子がどのように免疫を調整しているか、解明するための糸口を導きだしたと考えられる。

米国においてはATの診断治療を行うクリニックが整備されて、またその専門家を簡単に探すことができる。本邦においてはこの疾患の治療に携わることの少ない医師が診断治療に当たることが予想される。こういった場面においてそのサポート体制を確立したことにより、本邦におけるATの診断治療の基礎水準を上げることができたと考えられる。また基礎研究からAT発症機構の研究を行い、一部国際的評価に耐えうる結果を出しつつある。今後、この1年間の研究成果をさらに発展させることが可能と考えられる。現在の状況では解析途中のもの

も、さらなる発展が期待できる事項がある。今後、1) 毛細血管拡張性小脳失調症(AT)のフォローアップ調査は、最終解析を行う。2) ATにおける呼吸器機能、嚥下機能、神経機能などの評価法の確立、臨床現場での評価と解析を行う。3) ATにおける免疫の評価は7) ATにおける免疫機能発生発達の研究と関連付け基礎研究を進展させる。基礎研究4) AT簡易診断法の確立と検証はさらに利便性の高い方法へ進展させる。5) ATMの腫瘍発生防御機構における役割の研究は基礎研究を進展させ、ATにおける悪性腫瘍発症機構とその対策方法を明らかにする。6) ATにおける小脳失調の研究は今後更なる基礎的検討を行うことにより小脳失調発症機構を明らかにする。7) ATに関する診療中核施設の整備は今後行っていく。8) AT患者会の設立も行っていく。これまでの研究もさらなる発展が予想されるが、実際に診療治療に即した研究を行える準備ができたと考えられる。

#### E. 結論

本研究を通して国内のAT患者に医療を提供していくための十分な環境を整えることができた。特に今回作成したホームページはATにかかわる医療者、患者家族にとって非常に有益性の高いものとなっている。また基礎研究を通してATの発症原因の一端に迫ることができた。中でもATで糖尿病が発症する機構を明らかにしたことは大きい。今後AT患者の医療の質の上昇に向けた取り組みを行うに十分な基盤を作ることができた。

#### F. 健康危険情報

特に該当するものはない

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

[海外発行雑誌]

1. Ichijima Y, Yoshioka K, Yoshioka Y, Shinohe K, Fujimori H, Unno J, Takagi M, Goto H, Inagaki M, Mizutani S, Teraoka H. DNA lesions induced by replication stress trigger mitotic aberration and tetraploidy development. *PLoS One*. 5(1):e8821. 2010.
2. Miyai K, Yoneda M, Hasegawa U, Toita S, Izu Y, Hemmi H, Hayata T, Ezura Y, Mizutani S, Miyazono K, Akiyoshi K, Yamamoto T, Noda M. ANA deficiency enhances bone morphogenetic protein-induced ectopic bone formation via transcriptional events. *J Biol Chem*. 284(16):10593-600. 2009
3. Isoda T, Ford AM, Tomizawa D, van Delft FW, Gonzalez De Castro D, Mitsuiki N, Score J, Taki T, Morio T, Takagi M, Saji H, Greaves M, Mizutani S. Immunologically silent cancer clone transmission from mother to offspring. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 106(42):17882-5. 2009
4. Morio T, Takahashi N, Watanabe F, Honda F, Sato M, Takagi M, Imadome KI, Miyawaki T, Delia D, Nakamura K, Gatti RA, Mizutani S. Phenotypic variations between affected siblings with ataxia-telangiectasia: ataxia-telangiectasia in Japan. *Int J Hematol*. 90(4):455-462. 2009
5. Uchisaka N, Takahashi N, Sato M, Kikuchi A, Mochizuki S, Imai K, Nonoyama S, Ohara O, Watanabe F, Mizutani S, Hanada R, Morio T. Two brothers with ataxia-telangiectasia-like disorder with lungadenocarcinoma. *J Pediatr*. 155(3):435-8. 2009
6. Honda M, Takagi M, Chessa L, Morio T, Mizutani S. Rapid diagnosis of ataxia-telangiectasia by flow cytometric



7. monitoring of DNA damage-dependent ATM phosphorylation. *Leukemia*. 23(2):409-14. 2009
8. Albert MH, Bittner TC, Nonoyama S, Notarangelo LD, Burns S, Imai K, Espanol T, Fasth A, Pellier I, Strauss G, Morio T, Gathmann B, Noordzij JG, Fillat C, Hoenig M, Nathrath M, Meindl A, Pagel P, Wintergerst U, Fischer A, Thrasher AJ, Belohradsky BH, Ochs HD. X-linked thrombocytopenia (XLT) due to WAS mutations: Clinical characteristics, long-term outcome, and treatment options. *Blood*.115(16):3231-8.2010.
9. Oba D. Hayashi M. Minamitani M. Hamano S. Uchisaka N. Kikuchi A. Kishimoto H. Takagi M. Morio T. Mizutani S. Autopsy study of cerebellar degeneration in siblings with ataxia-telangiectasia-like disorder.2010, *Acta Neuropathol*. 119: 513-520, 2010.
10. Inoue H. Takada H. Kusuda T. Goto T. Ochiai M. Kinjo T. Muneuchi J. Takahata Y. Takahashi N. Morio T. Kosaki K. Hara T. Successful cord blood transplantation for a CHARGE syndrome with CHD7 mutation showing DiGeorge sequence including hypoparathyroidism. *Eur J Pediatr*. 2010 Jan 6. [Epub ahead of print]
11. Hasegawa D. Kaji M. Takeda H. Kawasaki K. Takahashi H. Ochiai H. Morio T. Omori Y. Yokozaki H. Kosaka Y. Fatal degeneration of specialized cardiac muscle associated with chronic active Epstein-Barr virus infection. *Pediatr Int*.51:846-8.2009.
12. Yoshida H. Kusuki S. Hayashi Y. Ohta H. Morio T. Ozono K. Ex vivo-expanded donor CD4+ lymphocyte infusion againstrelapsing neuroblastoma: a transient graft-versus-tumoreffect. *Pediatric Blood & Cancer*.52: 895-7.2009.
13. Nanki T. Takada K. Komano Y. Morio T. Kanegane H. Nakajima A. Lipsky PE. Miyasaka N. Chemokine receptor expression and functional effects of chemokines on B cells: implication in the pathogenesis of rheumatoid arthritis.
20. DNA-dependent protein kinase-mediated cell death in response to topoisomerase I poison. *Arthritis Res Ther*. 11:R149, 2009.
14. Miyagawa Y. Kiyokawa N. Ochiai N. Imadome K-I. Horiuchi Y. Onda K. Yajima M. Nakamura H. Katagiri YU. Okita H. Morio T. Shimizu N. Fujimoto J. Fujiwara S. *Ex vivo* expanded cord blood CD4 T lymphocytes exhibit a distinct expression profile of cytokine-related genes from those of peripheral blood origin. *Immunology*. 128(3):405-19.2009.
15. Morinishi Y. Imai K. Nakagawa N. Sato H. Horiuchi K. Ohtsuka Y. Kaneda Y. Taga T. Hisakawa H. Miyaji R. Endo M. Oh-Ishi T. Kamachi Y. Akahane K. Kobayashi C. Tsuchida M. Morio T. Sasahara Y. Kumaki S. Ishigaki K. Yoshida M. Urabe T. Kobayashi N. Okimoto Y. Reichenbach J. Hashii Y. Tsuji Y. Kogawa K. Yamaguchi S. Kanegane H. Miyawaki T. Yamada M. Ariga T. Nonoyama S. Identification of severe combined immunodeficiency by T-cell receptor excision circles quantification using neonatal Guthrie cards. *J. Pediatr*. 155(6):829-33. 2009
16. Miyanaga M. Sugita S. Shimizu N. Morio T. Miyata K. Mochizuki M. A significant association of viral loads with corneal endothelial cell damage in cytomegalovirus anterior uveitis. *Br J Ophthalmol*. 17:88-90.2009.
17. Futagami Y. Sugita S. Fujimaki T. Yokoyama T. Morio T. Mochizuki M. Bilateral anterior granulomatous keratouveitis with sunset glow fundus in a patient with autoimmune polyglandular syndrome. *Ocul Immunol Inflamm*. 17:88-90, 2009
18. Takahashi N. Matsukoto K. Saito H. Nanki T. Miyasaka N. Kobata T. Azuma M. Lee S-K. Mizutani S. Morio T. Impaired CD4 and CD8 effector function and decreased memory T-cell populations in ICOS deficient patients. *J. Immunol*. 182:5515-27, 2009
19. Sakasai R, Teraoka H, Takagi M, Tibbetts RS. Transcription-dependent activation of ataxia telangiectasia-mutated prevents *J Biol Chem*. 2010 Mar 19. [Epub ahead of print]

[国内発行雑誌]

1. 水谷修紀. 毛細血管拡張性運動失調. 日本臨床(別冊) 新領域別症候群(10) 呼吸器症候群第2版 p669-72, 日本臨床社, 2009 (3月)
2. 水谷修紀. がん多発家系-先天性疾患研究からの新展開. 最新医学 64(9) 増刊号 臨床遺伝子学'09-がんの遺伝子学-p56-70, 最新医学社, 2009
3. 高木正稔. DNA 損傷応答機構と骨髄異形成症候群. 血液・腫瘍科 58(2) p231-34, 科学評論社, 2009
2. 森尾友宏: 分類不能型免疫不全症の全国調査と亜群同定. 第3回日本免疫不全症研究会 2010年1月31日、東京
3. 森尾友宏、渡辺信和、高橋聡、中内啓光: HLA-Flow法による SCID-臍帯血ミニ移植後のキメリズム解析 厚生労働省難治性疾患克服研究事業 原発性免疫不全症候群に関する調査研究班 平成21年度班会議2010年1月29日 東京
4. 梶原道子、森尾友宏: *ex vivo* 増殖臍帯血 T細胞 輸注療法臨床試験プロトコール 厚生労働科学研究免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業「臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究」班平成21年度第二回班会議、2010年1月30日、東京

2. 学会発表

[海外]

1. DNA Double-Strand Break Formation Induced by Replication Arrest Depend On Artemis. Takagi M, Unno J, Kiyono T, Honda F, Teraoka H, Maeda D, Masutani M, Morio T, Mizutani S. 51th American Society of Hematology Annual meeting 2009.12.5-8. New Orleans. LA
2. Loss of Non-Inherited Maternal MHC and Materno-Fetal Transmission of p190 Type BCR-ABL Leukemia. Isoda T, Ford AM, Tomizawa D, van Delft FW, De Castro DG, Mitsui N, Score J, Taki T, Morio T, Takagi M, Saji H, Greaves M, Mizutani S. 51th American Society of Hematology Annual meeting 2009.12.5-8. New Orleans. LA
3. Tomohiro Morio: Common variable immunodeficiency (CVID): Molecular basis of immune dysfunction The 2nd Symposium for PID in Asia February 4 - 5, 2010 Kazusa Academia Hall
5. 清水則夫、森尾友宏: 平成21年度厚生労働科学研究(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)「同種造血幹細胞移植成績の一元化登録と国際間の共有およびドナーとレシピエントのQOLを視野に入れた成績の向上に関する研究」研究代表者 谷口修一、2010年1月31日 東京
6. 長澤正之, 小野敏明, 遠藤明史, 青木由貴, 磯田健志, 富澤大輔, 高木正稔, 梶原道子, 森尾友宏, 水谷修紀: 当科における同種造血幹細胞移植(1995-2007年)の検討、第112回日本小児科学会学術総会、2009年4月17日~19日、奈良
7. 遠藤明史, 高木正稔, 青木由貴, 小野敏明, 長澤正之, 森尾友宏, 山本敦子, 荒木聡, 水谷修紀. 化学療法中イホマイド脳症を呈した1例. 第568回日本小児科学会東京都地方会 講話会 2009.9.12 東京

[国内]

1. Tomohiro Morio: Infusion of Ex-vivo Expanded Donor T-Lymphocytes for Intractable Infections and Leukemia. 第32回日本造血細胞移植学会シンポジウム「Cell Therapy for Intractable Infections and Malignant Diseases」2010年2月19日~20日、浜松
8. Isoda T, Takagi M, Nagasawa M, Morio T, Taki T, Taniwaki M, Mizutani S. Materno-fetal transmission and loss of non-inherited maternal MHC in p190 type BCR-ABL leukemia. 2009.10. 第68回癌学会総会 2009.10.1-3 横浜

9. Unno J, Takagi M, Maeda D, Masutani M, Kiyono Y, Teraoka F, Mizutani S. Artemis dependent DNA double strand break formation at stalled replication forks. 第 68 回癌学会総会 2009.10.1-3 横浜
10. Isoda T, Mitsuiki N, Aoki Y, Tomizawa D, Takagi M, Nagasawa M, Morio T, Ochiai N, Taki T, Taniwaki M, Saji H, Mizutani S. Loss of NIMA as a possible role of materno-fetal transmission of p190 type BCR-ABL leukemia. 第 71 回血液学会総会 2009.10.23-25 京都
11. Aoki Y, Mitsuiki N, Endo A, Ono T, Takagi M, Kajiwara M, Nagasawa M, Morio T, Mizutani S, Imadome K. A case of SLE 10years following cord blood transplantation for JMML with mixed chimerism. 第 71 回血液学会総会 2009.10.23-25 京都
12. Takagi M, Mizutani S. Another Aspect of DNA damage response network. 第 51 回日本小児血液学会・第 25 回日本小児がん学会総会 2009.11.27-29、千葉 シンポジウム
13. 満生紀子, 遠藤明史, 小野敏明, 高木正稔, 長澤正之, 森尾友宏, 水谷修紀. 当科における原発性免疫不全症に対する骨髄非破壊的前処置による移植の検討. 第 51 回日本小児血液学会・第 25 回日本小児がん学会総会 2009.11.27-29 千葉
14. 森尾友宏, 水谷修紀: Basic to Clinical: Artemis/Cernunos/Lig4 deficiency, 第 51 回日本小児血液学会, 2009 年 11 月 27 日~29 日、東京
15. 磯田健志, 遠藤明史, 満生紀子, 小野敏明, 青木由貴, 富沢大輔, 高木正稔, 梶原道子, 長澤正之, 森尾友宏, 西尾信博, 濱麻人, 在家祐司, 真部淳, 伊藤雅文, 小島勢二, 水谷修紀. Low grade MDS の骨髄所見を呈した先天性角化不全症 TINF2 変異の一例. 第 51 回日本小児血液学会・第 25 回日本小児がん学会総会 2009.11.27-29 千葉
16. 小野敏明, 遠藤明史, 満生紀子, 高木正稔, 長澤正之, 片山未来, 渡部健, 落合央, 大山敦, 峰岸志津子, 清水則夫, 森尾友宏, 水谷修紀. 急性白血病治療中にカリシウイルス腸炎を発症した 3 例の遷延性ウイルス排泄の検討. 第 51 回日本小児血液学会・第 25 回日本小児がん学会総会 2009.11.27-29 千葉
17. 鬼頭敏幸, 高木正稔, 熊田知浩, 才田聡, 藤井達哉, 森尾友宏, 水谷修紀, 鶴澤正仁. MDS で発症し毛細血管拡張を欠く Ataxia Telangiectasia の女兒. 第 51 回日本小児血液学会・第 25 回日本小児がん学会総会 2009.11.27-29 千葉
18. 梶原道子, 遠藤明史, 満生紀子, 小野敏明, 高木正稔, 長澤正之, 森尾友宏, 水谷修紀. 急性白血病に対する非血縁者間骨髄移植の 10 年後に食道がんを合併した 1 例. 第 51 回日本小児血液学会・第 25 回日本小児がん学会総会 2009.11.27-29 千葉
19. 櫻井直人, 岩本彰太郎, 堀浩樹, 駒田美弘, 松峯昭彦, 中谷中, 高木正稔. Li-Fraumeni 症候群が疑われた、卵巣腫瘍合併骨肉腫の 1 例. 櫻井直人, 岩本彰太郎, 堀浩樹, 駒田美弘, 松峯昭彦, 中谷中, 高木正稔. 第 51 回日本小児血液学会・第 25 回日本小児がん学会総会 2009.11.27-29 千葉
20. 遠藤明史, 満生紀子, 小野敏明, 高木正稔, 長澤正之, 森尾友宏, 水谷修紀. RIST にて臍帯血移植後、TMA、血球貧食症候群を発症して死亡した X 連鎖重症複合型免疫不全症の一例. 第 51 回日本小児血液学会・第 25 回日本小児がん学会総会 2009.11.27-29 千葉
21. 青木由貴, 満生紀子, 遠藤明史, 小野敏明, 高木正稔, 梶原道子, 長澤正之, 森尾友宏, 水谷修紀, 今留謙一. JMML に対し臍帯血移植を施行し 10 年経過後、混合キメリズムの状態です SLE を発症した 1 例. 第 51 回日本小児血液学会・第

- 25 回日本小児がん学会総会  
2009.11.27-29 千葉
22. 清河信敬、恩田恵子、今留謙一、矢島美佐子、中村宏紀、片桐洋子、森尾友宏、藤本純一郎、藤原成悦: ドナーリンパ球輸注を目的とした臍帯血由来活性化 CD4 細胞の性状解析、第 39 回日本免疫学会総会・学術集会、2009 年 12 月 2 日～4 日、大阪
23. Unno J, Takagi M, Maeda D, Masutani M, Kiyono Y, Teraoka F, Mizutani S. Artemis dependent conversion of stalled replication forks to DNA double strand breaks.-A novel role of Artemis as a molecular switch-. 第 32 回分子生物学会年会 2009.12.9-12 横浜
24. Uno H, Takagi M, Sugimoto M, Yasuda A, Mizutani S. ATM regulates adipocyte differentiation, and contributes glucose metabolism in vivo. 第 32 回分子生物学会年会 2009.12.9-12 横浜
25. Kawagishi H, Maruyama M, Takagi M, Sugimoto M. ARF tumor suppressor regulate tumor angiogenesis through the translational control of VEGFA mRNA. 第 32 回分子生物学会年会 2009.12.9-12 横浜
26. 清水則夫、森尾友宏: 移植後微生物モニタリング 平成 21 年度厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 「同種造血幹細胞移植成績の一元化登録と国際間の共有およびドナーとレシピエントの QOL を視野に入れた成績の向上に関する研究」班 班会議(谷口班)、東京、2009 年 8 月 29 日
27. 森尾友宏: ex vivo 増殖臍帯血 T 細胞輸注療法の臨床研究、政策創薬総合研究事業平成 21 年度「臍帯血 DLI の実用化と細胞治療製剤の医薬品化へ向けてのトランスレーショナルリサーチ」(研究代表者 藤原成悦)、2009 年 10 月 20 日、東京
28. 満生紀子、大川哲平、高橋考治、遠藤明史、青木由貴、小野敏明、落合央、峯岸志津子、高木正稔、梶原道子、長澤正之、森尾友宏、水谷修紀: RIST による非血縁臍帯血移植を施行した SCID3 例、小児 H-SCT 研究会、2009 年 10 月 9 日、東京
29. 森尾友宏、松本耕一郎、落合央、峯岸志津子、清水則夫: 891 検体の T 細胞調製におけるウイルス解析 平成 21 年度厚生労働科学研究 再生医療実用化研究推進事業 「再生医療・細胞医療製剤に汎用可能な新規微量高感度品質管理・安全性検証システムの開発と製剤の企画化に関する研究」班 第 1 回班会議(森尾班)、東京、2009 年 9 月 5 日
30. 森尾友宏、大山敦、峯岸志津子: 培養細胞における DNA 損傷修復反応の検出 平成 21 年度厚生労働科学研究 再生医療実用化研究推進事業 「再生医療・細胞医療製剤に汎用可能な新規微量高感度品質管理・安全性検証システムの開発と製剤の企画化に関する研究」班 第 1 回班会議(森尾班)、東京、2009 年 9 月 5 日
31. 森尾友宏、大山敦、落合央、峯岸志津子、梶原道子、清水則夫: 免疫学的再構築と抗原特異的 T 細胞増殖を目的とした移植後養子免疫療法 平成 21 年度厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 「新しい造血幹細胞移植技術の開発に関する研究」班 班会議(池原班)、東京、2009 年 8 月 29 日
32. Takagi M. DNA damage response and hematological disorder. 第 71 回血液学会総 2009.10.23-25 京都シンポジウム

#### H. 知的所有権の出願・所得状況

##### 1. 特許取得

滑膜由来間葉幹細胞(MSCs)の軟骨・半月板再生への応用、特願 2009-525260(国内移行日: 2009/2/23)、関矢一郎、宗田大、森尾友宏、清水則夫、黒岩保幸

##### 2. 実用新案登録 該当なし

##### 3. その他 該当なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

毛細血管拡張性小脳失調症の実態調査、早期診断法確立と病態評価に関する研究  
「毛細血管拡張性小脳失調症の実態調査、早期診断法確立に関する研究」

研究分担者 森尾 友宏

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 発生発達病態学分野・准教授

研究要旨：

Ataxia telangiectasia (以下 AT)は多臓器に影響を与える進行性かつ退行性の疾患であり、DNA 損傷修復異常による様々な症状を呈することが知られている。この研究では、日本における患者の実態を把握し、問題点を抽出すると共に、AT の簡易診断法の確立を目指した検討を行った。その結果、ATM の FACS 解析法を確立し、さらに Western blot による確認と類似疾患の検討、ATM 遺伝子解析による確定診断法も提供することが出来るようになった。これらの成果より、AT Children's Project Japan の HP 立ち上げや、患者の会の設立に向けた作業を実施できた。

#### A. 研究目的

本分担研究では、毛細血管拡張性小脳失調症(AT)患者の実態を把握し、2007年に行った全国調査のフォローアップを行うと共に、ATの確定診断、簡易診断に向けた手法の確立を目的とする。

#### B. 研究方法

##### 1. 毛細血管拡張性小脳失調症(AT)のフォローアップ調査

2007年に行った全国調査は、基本データに加え、各症状・所見、データを網羅する内容であった。今回は回答を得た基幹病院を中心とし(1)診断と(2)合併病変及び社会的問題点についての詳細なデータ収集、及び(3)データベース構築を目的とした調査を行い、診断未確定例には新たな診断手段を提供する。

##### 2. AT簡易診断法の確立と検証

リン酸化 ATM を指標とした Flow cytometer 解析 (FACS) を標準化し、さらに他の DNA 損傷修復反応を検出するシステ

ムも構築する。

同じ検体を用いて ATM 及びその他の DNA 損傷修復関連タンパクの発現を Western blot にて確認する。

##### 3. ATの遺伝子診断

ATM は 66 exons からなる遺伝子であるが、それぞれの exon-intron boundaries を含んだ領域につきすべて塩基配列決定を行える系が確立しており、疑い患者において検査を実施する。

(倫理面への配慮)

本研究では、診療施設あるいは患者より情報提供を受け、問題点の抽出等の作業を行うため、患者の人権擁護のために、情報管理などに十分な配慮を行う必要がある。また ATM の遺伝子解析もおこなわれるため、遺伝子解析に関する各種臨床指針に従い、研究を実施する。

#### C. 研究結果

##### 1. 毛細血管拡張性小脳失調症(AT)のフォ

## ローアップ調査

2007年に行ったAT患者の臨床症状、合併症、検査データなどに関する解析結果を論文として発表した(*Int Hematol*, 2009)。

これを元にして研究分担者である高木と共にAT患者に対するフォローアップ調査を行った。

## 2. AT簡易診断法の確立と検証

3名の患者において、ATMタンパクの解析を行った。ATM欠損疑いの1名ではリン酸化ATMの発現は正常で、Western blotにおいてもATM遺伝子に異常を認めなかった。その他のDNA損傷修復関連分子(Mre11, NBS1, Rad50, Ku70/80, DNA-PKcsなど)においても発現は正常であった。

副次的な実験結果として、このWestern blotの手法から、Mre11欠損症(Ataxia telangiectasia like disorder: ATLD)を同定した(*J. Pediatr*, 2009)。この患者は共に肺癌を合併しており、悪性腫瘍を併発した初めての症例であった。

またリン酸化ATMのFACS解析以外に、リン酸化ATM、p21の細胞内発現をFACSで検出できるシステムを開発した。

## 3. ATの遺伝子診断

今年度は2名の患者において責任遺伝子解析を行った。1名においてATMの変異を同定した。

## D. 考察

AT患者の実態把握を行い、これを元に課題であったHPの作成や、患者会設立に向けての行動を起こすことができた。

ATの診断については簡易診断法としてのATM FACS法、次に簡便でありさらに他の類似疾患も検討可能なWestern blot法、最終診断としての遺伝子解析のすべての手法を取りそろえることができた。

## E. 結論

本年度の研究により、ATMの実態調査、ATの簡易診断法・確定診断法・その他の類似疾患の検索法の確立を行うことができた。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Albert MH, Bittner TC, Nonoyama S, Notarangelo LD, Burns S, Imai K, Espanol T, Fasth A, Pellier I, Strauss G, **Morio T**, Gathmann B, Noordzij JG, Fillat C, Hoenig M, Nathrath M, Meindl A, Pagel P, Wintergerst U, Fischer A, Thrasher AJ, Belohradsky BH, Ochs HD. X-linked thrombocytopenia (XLT) due to WAS mutations: Clinical characteristics, long-term outcome, and treatment options. *Blood*. 115(16): 3231-8,2010.
2. Oba D. Hayashi M. Minamitani M. Hamano S. Uchisaka N. Kikuchi A. Kishimoto H. Takagi M. **Morio T**. Mizutani S. Autopsy study of cerebellar degeneration in sibilings with ataxia-telangiectasia-like disorder.2010, *Acta Neuropathol*. **119**: 513-520, 2010.
3. Inoue H. Takada H. Kusuda T. Goto T. Ochiai M. Kinjo T. Muneuchi J. Takahata Y. Takahashi N. **Morio T**. Kosaki K. Hara T. Successful cord blood transplantation for a CHARGE syndrome with CHD7 mutation showing DiGeorge sequence including hypoparathyroidism. *Eur J Pediatr*. 2010 Jan 6. [Epub ahead of print]
4. Hasegawa D. Kaji M. Takeda H. Kawasaki K. Takahashi H. Ochiai H. **Morio T**. Omori Y. Yokozaki H. Kosaka Y. Fatal degeneration of specialized cardiac muscle associated with chronic active Epstein-Barr virus infection. *Pediatr Int*.51:846-8.2009.
5. Yoshida H. Kusuki S. Hayashi Y. Ohta H. **Morio T**. Ozono K. Ex vivo-expanded donor CD4+ lymphocyte infusion againstrelapsing neuroblastoma: a transient graft-versus-tumoreffect. *Pediatric Blood & Cancer*.**52**: 895-7.2009.
6. Nanki T. Takada K. Komano Y. **Morio T**.

- Kanegane H. Nakajima A. Lipsky PE. Miyasaka N. Chemokine receptor
7. chemokines on B cells: implication in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* **11**:R149, 2009.
  8. Isoda T. Ford A. Tomizawa D. van Delft F. De Castro DG. Mitsuiki N. Score J. Taki T. Takagi M. **Morio T.** Saji H. Greaves M. Mizutani S. Immunologically silent cancer clone transmission from mother to offspring. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **106**(42):17882-5. 2009.
  9. Miyagawa Y. Kiyokawa N. Ochiai N. Imadome K-I. Horiuchi Y. Onda K. Yajima M. Nakamura H. Katagiri YU. Okita H. **Morio T.** Shimizu N. Fujimoto J. Fujiwara S. *Ex vivo* expanded cord blood CD4 T lymphocytes exhibit a distinct expression profile of cytokine-related genes from those of peripheral blood origin. *Immunology.* **128**(3):405-19.2009.
  10. Morinishi Y. Imai K. Nakagawa N. Sato H. Horiuchi K. Ohtsuka Y. Kaneda Y. Taga T. Hisakawa H. Miyaji R. Endo M. Oh-Ishi T. Kamachi Y. Akahane K. Kobayashi C. Tsuchida M. **Morio T.** Sasahara Y. Kumaki S. Ishigaki K. Yoshida M. Urabe T. Kobayashi N. Okimoto Y. Reichenbach J. Hashii Y. Tsuji Y. Kogawa K. Yamaguchi S. Kanegane H. Miyawaki T. Yamada M. Ariga T. Nonoyama S. Identification of severe combined immunodeficiency by T-cell receptor excision circles quantification using neonatal Guthrie cards. *J. Pediatr.* **155**(6):829-33. 2009.
  11. **Morio T.** Takahashi N. Watanabe F. Honda F. Sato M. Takagi M. Imadome KI. Miyawaki T. Delia D. Nakamura K. Gatti RA. Mizutani S. Phenotypic Variations between Affected Siblings with Ataxia-Telangiectasia: Ataxia-Telangiectasia in Japan. *Int. J. Hematol.* **90**:455-62.2009.
  12. Miyanaga M. Sugita S. Shimizu N. **Morio T.** expression and functional effects of Miyata K. Mochizuki M. A significant association of viral loads with corneal endothelial cell damage in cytomegalovirus anterior uveitis. *Br J Ophthalmol.* **94**(3):336-40.2009.
  13. Uchisaka N. Takahashi N. Sato M. Kikuchi A. Mochizuki S. Imai K. Nonoyama S. Ohara O. Watanabe F. Mizutani S. Hanada R. **Morio T.** Two brothers with ataxia-telangiectasia-like disorder with lung adenocarcinoma. *J. Pediatr.* **155**:435-438, 2009.
  14. Futagami Y. Sugita S. Fujimaki T. Yokoyama T. **Morio T.** Mochizuki M. Bilateral anterior granulomatous keratouveitis with sunset glow fundus in a patient with autoimmune polyglandular syndrome. *Ocul Immunol Inflamm.* **17**:88-90, 2009.
  15. Takahashi N. Matsukoto K. Saito H. Nanki T. Miyasaka N. Kobata T. Azuma M. Lee S-K. Mizutani S. **Morio T.** Impaired CD4 and CD8 effector function and decreased memory T-cell populations in ICOS deficient patients. *J. Immunol.* **182**:5515-5527, 2009.
2. 学会発表
1. Tomohiro Morio : Infusion of Ex-vivo Expanded Donor T-Lymphocytes for Intractable Infections and Leukemia. 第32回日本造血細胞移植学会シンポジウム「Cell Therapy for Intractable Infections and Malignant Diseases」2010年2月19日～20日、浜松
  2. Tomohiro Morio: Common variable immunodeficiency (CVID): Molecular basis of immune dysfunction The 2nd Symposium for PID in Asia February 4 - 5, 2010 Kazusa Academia Hall

3. 森尾友宏:分類不能型免疫不全症の全国調査と亜群同定。第3回日本免疫不全症研究会 2010年1月31日、東京
4. 森尾友宏、渡辺信和、高橋聡、中内啓光: HLA-Flow法による SCID-臍帯血ミニ移植後のキメリズム解析 厚生労働省難治性疾患克服研究事業 原発性免疫不全症候群に関する調査研究班 平成21年度班会議2010年1月29日 東京
5. 梶原道子、森尾友宏: *ex vivo* 増殖臍帯血 T細胞 輸注療法臨床試験プロトコール 厚生労働科学研究免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業「臍帯血を用いる造血幹細胞移植技術の高度化と安全性確保に関する研究」班平成21年度第二回班会議、2010年1月30日、東京
6. 清水則夫、森尾友宏:平成21年度厚生労働科学研究(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)「同種造血幹細胞移植成績の一元化登録と国際間の共有およびドナーとレシピエントのQOLを視野に入れた成績の向上に関する研究」研究代表者 谷口修一、2010年1月31日 東京
7. 清河信敬、恩田恵子、今留謙一、矢島美佐子、中村宏紀、片桐洋子、森尾友宏、藤本純一郎、藤原成悦:ドナーリンパ球輸注を目的とした臍帯血由来活性化CD4細胞の性状解析、第39回日本免疫学会総会・学術集会、2009年12月2日～4日、大阪
8. 森尾友宏、水谷修紀: Basic to Clinical: Artemis/Cernunos/Lig4 deficiency、第51回日本小児血液学会、2009年11月27日～29日、東京
9. 満生紀子、遠藤明史、小野敏明、高木正稔、長澤正之、森尾友宏、水谷修紀: 当科における原発性免疫不全症に対する骨髄非破壊的前処置による移植の検討、第51回日本小児血液学会 2009年11月27日～29日、東京
10. 清水則夫、森尾友宏: 移植後微生物モニタリング 平成21年度厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 「同種造血幹細胞移植成績の一元化登録と国際間の共有およびドナーとレシピエントのQOLを視野に入れた成績の向上に関する研究」班 班会議(谷口班)、東京、2009年8月29日
11. 森尾友宏: *ex vivo* 増殖臍帯血 T細胞輸注療法の臨床研究、政策創薬総合研究事業平成21年度「臍帯血DLIの実用化と細胞治療製剤の医薬品化へ向けてのトランスレーショナルリサーチ」(研究代表者 藤原成悦)、2009年10月20日、東京
12. 満生紀子、大川哲平、高橋考治、遠藤明史、青木由貴、小野敏明、落合央、峯岸志津子、高木正稔、梶原道子、長澤正之、森尾友宏、水谷修紀: RISTによる非血縁臍帯血移植を施行したSCID3例、小児H-SCT研究会、2009年10月9日、東京
13. 森尾友宏、松本耕一郎、落合央、峯岸志津子、清水則夫: 891検体のT細胞調製におけるウイルス解析 平成21年度厚生労働科学研究 再生医療実用化研究推進事業 「再生医療・細胞医療製剤に汎用可能な新規微量高感度品質管理・安全性検証システムの開発と製剤の企画化に関する研究」班 第1回班会議(森尾班)、東京、2009年9月5日
14. 森尾友宏、大山敦、峯岸志津子: 培養細胞におけるDNA損傷修復反応の検出 平成21年度厚生労働科学研究 再生医療実用化研究推進事業 「再生医療・細胞医療製剤に汎用可能な新規微量高感度品質管理・安全性検証システムの開発と製剤の企画化に関する研究」班 第1回班会議(森尾班)、東京、2009年9月5日
15. 森尾友宏、大山敦、落合央、峯岸志津子、梶原道子、清水則夫: 免疫学的再



構築と抗原特異的 T 細胞増殖を目的とした移植後養子免疫療法 平成 21 年度厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 「新しい造血幹細胞移植技術の開発に関する研究」班 班会議（池原班）、東京、2009 年 8 月 29 日

16. 長澤正之、小野敏明、遠藤明史、青木由貴、磯田健志、富澤大輔、高木正稔、梶原道子、森尾友宏、水谷修紀：当科における同種造血幹細胞移植(1995-2007 年)の検討、第 112 回日本小児科学会学術総会、2009 年 4 月 17 日～19 日、奈良

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

滑膜由来間葉幹細胞(MSCs)の軟骨・半月板再生への応用、特願 2009-525260(国内移行日：2009/2/23)、関矢一郎、宗田大、森尾友宏、清水則夫、黒岩保幸

### 2. 実用新案登録 該当なし

### 3. その他 該当なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

毛細血管拡張性小脳失調症の実態調査、早期診断法確立と、病態評価に関する研究  
「毛細血管拡張性小脳失調症の診療基盤の整備と病態の解明」

研究分担者 高木 正稔  
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 発生発達病態学分野・講師

研究要旨：毛細血管拡張性小脳失調症（AT）の診療基盤整備のための情報発信に必要なホームページの作成を行い、疾患の理解、診断、治療を行う上で必要な情報が得られるシステムを構築した。また基礎研究を行い、AT患者が耐糖能異常を示す原因を明らかにし、また保因者における高発がん性を細胞生物学的に証明できるモデルを構築した。

**A. 研究目的**

毛細血管拡張性小脳失調症（AT）診療基盤 AT患者での腫瘍発生は大きな問題であり、を整備しより良い医療が受けられるようにす 化学療法に対する副作用も顕著で予後も著る。基礎研究を通し疾患の理解を深めること しく不良である。ATMによる腫瘍発生監視機構により治療法開発につなげる。 構とその破綻を、分子、細胞、個体レベルで解析する。特にATM異常と小児腫瘍発生について重点的に解明を試みる。

**B. 研究方法**

**1)ATに関する情報発信環境の整備**

ホームページを作成し、ATについて、診断方法、治療方針、予後など医療者、患者家族への情報の発信を行う

**2)ATに関する診療中核施設の整備**

ATに関する知識の豊富な医師を持つ施設を中核として専門性の高い連携体制を整える。また治療法の指針を作成する

**3)ATにおける糖尿病発症機構の研究**

るい瘦や耐糖能異常はAT患者における問題の一つである。ATMの脂肪細胞の分化における役割や、ATM欠損における耐糖能異常について、詳細な検討を行い、分子生物学的手法を用いて、その基礎病態を明らかにする。

**4)ATMの腫瘍発生防御機構における役割の検討**

**5)ATにおける免疫機能発生発達の研究**

ATの主要症状である免疫不全についてリンパ球分化の観点からマウスES細胞を用いて検討を行う。

**「倫理面への配慮」**

実験上必要とされる遺伝子資料、動物の取り扱いは、「生物の多様性に関する条約のバイオセーフティーに関するカルタヘナ議定書」に基づく「遺伝子組み換え生物等の使用等の規則による生物多様性の確保に関する法律」を遵守し、また東京医科歯科大学内動物実験規則、組み換えDNA実験安全管理規則に準拠した。

**C. 研究結果**

**1)ATに関する情報発信環境の整備**

AT患者の会の設立と患者の疾患に対する

理解促進のため、ホームページの作成を行った。ホームページ作成に当たっては、米国A-T Children's projectの許諾の下に同ホームページの日本語版制作を行うことにした。同ホームページの中から患者家族にとって有用と考える情報の抽出をおこない、わかりやすい表現で翻訳した。内容はATの疾患概念から遺伝、診断、予後、日常生活におけるアドバイスを含むものとなっており、患者家族のみならず、ATの診療経験の乏しい医療関係者にとっても重要な情報を提供できるものとなっている。またAT診断のてびきを作成し、ホームページ上で公開した。

[www.tmd.ac.jp/med/ped/atcp/index.html](http://www.tmd.ac.jp/med/ped/atcp/index.html)

## 2)ATに関する診療中核施設の整備

### 2-1)AT 治療センターの設立に向けた準備

AT 治療センター設立に向け海外の状況の視察を行った。また希少疾患診療においては優れた AT 専門医との連携が必須と考え、海外の著名な AT 専門医(米、英、伊など)との連携システムを構築した。これにより本邦において AT 治療センターを設立しさい、情報の収集と適切な医療が行える体制を確立できると考えられる。

### 2-2)AT に発症した悪性腫瘍疾患治療法ガイドラインの作成

多数例の AT に発症した悪性腫瘍診断経験のある St. Jude Children's Research Hospital より AT に発症した悪性腫瘍治療のガイドラインを入手した。これに基づき生存率の非常に低い AT に発症した悪性腫瘍の治療方法の指針を検討した。そのためにも AT 治療センターと連携しコンサルテーションが行えるシステムが必要と考えられ St. Jude Children's Research Hospital との連携システムを構築した。

## 3)ATにおける糖尿病発症機構の研究

1次調査により、約30%のAT患者に糖尿病を発症することが明らかとなった。この原因として、脂肪細胞の分化障害がインスリン抵抗性を規定しているのではないかと考え検討を行ったところ、ATM の機能が欠損することにより脂肪細胞の分化が障害され、そ

の結果インスリン感受性に働くアディポネクチンが分泌されないため、AT 個体でインスリン抵抗性が生じ、その結果2型糖尿病が発症することが明らかとなった。

## 4)ATMの腫瘍発生防御機構における役割の研究

発がん機構を明らかにするため骨髄増殖性疾患モデルマウスである BCR-ABL トランスジェニックマウスと ATM ノックアウトマウスを交配した。その結果 ATM ヘテロノックアウトマウスのバックグランドのみでマウスの白血病化が促進されることが明らかとなった。

## 5)ATにおける免疫機能発生発達の研究

AT における発がん機構の解明に関しては白血病リンパ腫の発症頻度が高い点からリンパ球分化とがん遺伝子によるゲノム不安定性発症機構に注目し研究を行った。マウス ES 細胞を用いた研究から AT 責任遺伝子 ATM の機能が欠損することにより、Tリンパ球分化が double negative 3 (DN3)ステージで止まることを明らかにした。

## D. 考 察

ATの診療を行っていく上で様々な困難があることが明らかとなってきており、こういった困難を乗り越えていくために、また比較的均一な医療を日本全国で行っていくためには、正確な診断、一定の指針が必要である。そのためまた診療における指針となるべき、診断基準、治療指針を作成し、ATに関する情報を発信するホームページを作成した。これらにより医療従事者、また患者家族の受ける利益は非常に大きいと考えられる。

米国においてはATの診断治療を行うクリニックが整備されて、またその専門家を簡単に探すことができる。本邦においては、この疾患の治療に携わることの少ない医師が診断治療に当たることが予想される。こういった場面においてそのサポート体制を確立したことにより、本邦におけるATの診断治療の基礎水準を上げることができたと考える。

将来的にATの治療法を確立して行くには、

基礎研究による病態の理解が重要と考えられる。ATにおける神経症状発症機構、耐糖能異常、免疫不全、発がん性に注目して各々の基礎研究を推進した。なかでも耐糖能の原因が脂肪細胞の分化障害によることを証明できた意義は非常に大きいと考えられる。この発見からATに発症した耐糖能異常の治療法として脂肪細胞の分化を誘導するpioglitazone (アクトス®) やtroglitazoneが治療に有用である可能性が示唆される。ATでどのように免疫不全が発症するかリンパ球分化の観点から研究を行い、従来から言われているT細胞受容体 $\alpha$ 鎖の再構成の失敗によるリンパ球分化の障害以外にもT細胞受容体 $\beta$ 鎖の再構成の段階で障害があることが明らかとなった。これら発見からリンパ球分化と免疫不全との関連でDNA障害応答機構にかかわる分子がどのように免疫を調整しているか、解明するための糸口を導きだしたと考えられる。

## E. 結論

ATの診療を行う上で必要な情報が容易に得られるシステム及びコンサルテーションシステムを確立した。ATにおける耐糖能異常の発生機構を明らかにした。AT保因者における高発がん性を細胞生物学的に説明した。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Sakasai R, Teraoka H, Takagi M, Tibbetts RS. Transcription-dependent activation of ataxia telangiectasia-mutated prevents DNA-dependent protein kinase-mediated cell death in response to topoisomerase I poison. *J Biol Chem*. 2010 Mar 19. [Epub ahead of print]
2. Ichijima Y, Yoshioka K, Yoshioka Y, Shinohe K, Fujimori H, Unno J, Takagi M, Goto H, Inagaki M, Mizutani S, Teraoka H. DNA lesions induced by replication stress trigger mitotic aberration and tetraploidy development. *PLoS One*. 2010 Jan 21;5(1):e8821.

3. Honda M, Takagi M, Chessa L, Morio T, Mizuatni S. Rapid diagnosis of ataxia-telangiectasia by flow cytometric monitoring of DNA damage-dependent ATM phosphorylation. *Leukemia*. 2009. 23:409-14.
4. Morio T, Takahashi N, Watanabe F, Honda F, Sato M, Takagi M, Imadome K, Miyawaki T, Delia D, Nakamura K, Gatti RA, Mizutani S. Phenotypic variations between affected siblings with ataxia-telangiectasia: ataxia-telangiectasia in Japan. *Int J Hematol*. 2009. 90:455-62.
5. Isoda T, Ford AM, Tomizawa D, van Delft FW, De Castro DG, Mitsui N, Score J, Taki T, Morio T, Takagi M, Saji H, Greaves M, Mizutani S. Immunologically silent cancer clone transmission from mother to offspring. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009. 106:17882-5

### 2. 学会発表

1. Materno-fetal transmission and loss of non-inherited maternal MHC in p190 type BCR-ABL leukemia. Isoda T, Takagi M, Nagasawa M, Morio T, Taki T, Taniwaki M, Mizuatni S. 2009.10. 第68回癌学会総会 2009.10.1-3 横浜
2. Artemis dependent DNA double strand break formation at stalled replication forks. Unno J, Takagi M, Maeda D, Masutani M, Kiyono Y, Teraoka F, Mizutani S. 第68回癌学会総会 2009.10.1-3 横浜
3. Loss of NIMA as a possible role of materno-fetal transmission of p190 type BCR-ABL leukemia. Isoda T, Mitsui N, Aoki Y, Tomizawa D, Takagi M, Nagasawa M, Morio T, Ochiai N, Taki T, Taniwaki M, Saji H, Mizutani S. 第71回血液学会総会 2009.10.23-25 京都
4. DNA damage response and hematological disorder. Takagi M. 第71回血液学会総会 2009.10.23-25 京都 シンポジウム