

201024176A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

コケイン症候群の病態解明および治療とケアの指針
作成のための研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 久保田 雅也

平成23（2011）年3月

目次

[I] 総括研究報告書	・・・・・・・・・・ 2
コケイン症候群の病態解明および治療とケアの指針作成のための研究	
研究代表者 久保田雅也 国立成育医療研究センター神経内科 医長	
[II] 分担研究報告書	
1. コケイン症候群の発生頻度	・・・・・・・・・・ 6
分担研究者 久保田雅也 国立成育医療研究センター神経内科 医長	
2. 遅発型（3型）コケイン症候群の臨床経過	・・・・・・・・・・ 8
分担研究者 久保田雅也, 分担研究者 星野英紀 国立成育医療研究センター神経内科 医員	
研究協力者 柏井洋文、奥村さやか、寺嶋宙 国立成育医療研究センター神経内科 フェロー	
3. コケイン症候群患者由来培養細胞における紫外線抵抗化生理因子の解析	・・・・・・・・ 12
分担研究者 杉田克生 千葉大学教育学部養護教育学基礎医科学部門 教授	
研究協力者 喜多和子 千葉大学大学院医学研究院 環境生化学講座 講師	
4. コケイン症候群の中樞神経病理所見、および他の臓器病理所見の解析	・・・・・・・・ 15
分担研究者 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	
5. コケイン症候群の分子遺伝学的解析	・・・・・・・・ 19
分担研究者 森脇真一 大阪医科大学感覚器機能形態医学講座皮膚科学 教授	
6. XPG null マウスにおけるコケイン様臨床症状に関する研究	・・・・ 22
分担研究者 中根裕信 鳥取大学医学部機能形態統御学講座ゲノム形態学分野 助教	
7. コケイン症候群の酸化ストレスマーカー解析	・・・・・・・・ 24
分担研究者 田沼直之 都立府中療育センター 小児科 医長	
8. コケイン症候群における不随意運動の検討	・・・・・・・・ 27
分担研究者 熊田聡子 都立神経病院 神経小児科 医長	
9. 軽症型コケイン症候群の分子遺伝学的な検討	・・・・・・・・ 30
分担研究者 立石 智 熊本大学 発生医学研究所 発生制御部門 講師	
[III] 研究成果の刊行に関する一覧表	・・・・・・・・ 34
[IV] 参考資料	・・・・・・・・ 39
「コケイン症候群（CS）の集い2010」資料	
[V] 班員名簿	・・・・・・・・ 42
[VI] 研究成果（論文）抜粋	・・・・・・・・ 43

研究課題：「コケイン症候群の病態解明および治療とケアの指針作成のための研究」

研究代表者 久保田雅也（国立成育医療研究センター神経内科 医長）

研究要旨 コケイン症候群(CS)を対象とし以下の研究を行った。(1)CS の日本における発生頻度の検討、(2)CS の診療実態と死亡原因の詳細の検討、(3) CS の治療とケアの指針作成のための資料解析、(4) CS の基礎的病態の解明を目的に全国実態調査の解析、および神経病理、分子生物学、分子遺伝学、細胞生物学、神経生理学などの手法を用い CS の臨床実態と基礎的病態にせまる成果をあげることができた。この成果は今後の CS の「包括的診断・治療およびケア指針」作成につながると考えられる。

分担研究者

(1) 杉田克生 千葉大学教育学部養護教育学基礎医学部門 教授

(2) 林雅晴 財団法人東京都医学研究機構 東京都神経科学総合研究所 副参事研究員

(3) 森脇真一 大阪医科大学感覚器機能形態医学講座皮膚科学 教授

(4) 中根裕信 鳥取大学医学部機能形態統御学講座ゲノム形態学分野 助教

(5) 立石智 熊本大学 発生医学研究所 発生制御部門 講師

(6) 田沼直之 都立府中療育センター小児科 医長

(7) 熊田聡子 都立神経病院神経小児科 医長

(8) 星野英紀 国立成育医療研究センター神経内科 医員

A. 研究目的

コケイン症候群(CS) (は常染色体劣性遺伝形式での DNA 修復の異常を原因とする稀少難病であるが、古典型とされる CS 1 型、新生児期より発症する重症型とされる CS 2 型、より軽症の経過をたどる CS 3 型、および色素性乾皮症-コケイン症候群 (XP-CS) に分類される。いずれも著名な低身長、低体重、小頭を呈し、視力障害、聴力障害、中枢神経および末梢神経障害の進行により重度の精神運動発達遅滞を合併し、多様

な症状が出現するため小児科、皮膚科、眼科、耳鼻科、リハビリ科、整形外科、泌尿器科などが協力して診療にあたるべき疾患である。今回の本研究班の目的としては(1)CS の日本における発生頻度の検討、(2)CS の診療実態と死亡原因の詳細の検討、(3) CS の治療とケアの指針作成、(4) CS の基礎的病態の解明があげられる。これらにより CS 患者の QOL 改善と一般の疾病理解、治療ケア体系の確立をめざすものである。

B. 研究方法

本研究班の活動は上記目的中(1)-(3)のような全体の研究活動とともに個々の研究分担者による(4)に関する研究より成り立つ。

(1)-(3)に関して 21年度の厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）「コケイン症候群の実態把握および治療とケアの指針作成ための研究」において我が国の小児科臨床研修病院、療育施設、計921病院にCSの診療の有無と死亡例調査を行い、回収率73.2%でCS生存例34名、死亡例39名という結果をえた。さらにCS生存例34名、死亡例39名の診療実態と死亡に至る経過の詳細を二次調査により尋ねた結果CS生存例17名(CS 1 型14名、CS 3 型3名)、死亡例15名(CS 1 型13名、CS 2 型2名)、合計32名の臨床経過が集積された。これらのデータを詳細に解析検討することにより(1)CSの日本における発生頻度の検討、(2)CSの診療実態と

死亡原因の詳細の検討、(3) CSの治療とケアの指針作成をすすめた。

(4)に関して 中枢神経病理所見(視床下部障害)と体温調節障および睡眠障害の解析、患者由来培養細胞における紫外線抵抗化生理因子の解析、各種DNA修復試験、分子生物学的手法を駆使したCS確定診断法の樹立、XPG nullマウスにおけるコケイン様臨床症状に関する検討、神経症状発症や早発老化における酸化ストレスの関与の検討、不随意運動の神経生理学的解析により(4) CSの基礎的病態の解明に関する研究を行った。

(倫理面での配慮)

全ての研究は、研究参加者の自発的な同意に基づくことを前提とし、必要に応じ研究者所属機関の倫理委員会の承認を得て行った。詳細は各分担研究報告書を参照。

C. 研究結果

(1) CSの日本における発生頻度の検討

全国調査におけるCSの発生頻度は100万出生あたり1.72と判明した。患者数の実態を反映していないと思われる1960年代を除外すると100万出生あたり2.10となり、1980年以降で計算するとこれは2.57となる。今回の調査の不十分性を考慮するとCS発生頻度は日本においては西ヨーロッパにおける値2.7よりもやや少ないが大きくは変わらないといえる。(久保田)

(2) CSの診療実態と死亡原因の詳細の検討

二次調査によるとコケイン症候群生存例17名(CS1型14名、CS3型3名)、死亡例15名(CS1型13名、CS2型2名)、合計32名の臨床経過が集積され、CS2型およびCS3型の発症頻度はCS1型の1割以下であることが判明した。死亡例15名の死亡時平均年齢は18.3才、平均体重は8.4kgと著明な成長障害を認め、8名は著明な腎不全が死因に関係し、4名は重症肺炎が死因であった。拡張型心筋症が2名にみられた。今回の死亡時平均年齢は平成5年度長寿科学総合研究報告書「早老症の疫学」にお

るCS12例の死亡時平均年齢12.9才よりも高くなっている。同報告書では死亡原因は14例中6例が腎不全であった。今回の死亡時平均年齢の上昇がどのような原因であるのかは不明だが腎不全以外の呼吸循環、栄養管理など日常のケアが影響していることが推定された。

腎機能データの記載のあった1型死亡例12例(平均18.8才、14-27才)のBUNは平均47.3mg/dl(17.4-132, 中央値38.5), Crは平均2.8mg/dl(0.44-10, 中央値0.97)と著明な腎機能低下を認めた。1型1例のみで26才より腎不全に対し腹膜透析が施行されたが27才で腎不全が進行し死亡している。これに対し1型生存例16名の平均年齢は22.3才、平均体重は19.5kg、腎機能低下は1名のみであった。生存例では歩行可能10名中8名、有意語10名中7名を認めたが、死亡例では歩行可能12名中6名、有意語12名中6名とわずかだが差を認めた。約半数の1型CSの予後やQOLに腎不全が大きく影響していることがわかる。今回は腎機能低下の詳細な経過は不明であった。腹膜透析等の治療介入の是非や時期の検討とともに腎不全の基本的病態や進行のマーカーの検討が今後の課題である。

(3) CSの治療とケアの指針作成

全国調査において約8割の患者が小児科以外に、拘縮予防や良姿勢維持のためのリハビリ科、齲歯治療のための歯科口腔外科、腎不全、高血圧のための腎臓内科、糖尿病などのための内分泌科、難聴フォローのための耳鼻咽喉科、視機能フォローのための眼科、てんかん発作のための小児神経科、療育施設での全身管理など多くの科でのフォローを受けていることが判明したが、その包括化、体系化の必要性が重要と思われた。その中で治療とケア指針作成のための重要な項目を1.診断・経過フォローのためのチェック項目および2.長期フォロープログラムとして以下にあげた。

1. 診断・経過フォローのためのチェック項目

1. 体重、身長、頭囲の測定

2. 精神・運動発達の評価
3. 齲歯の評価
4. 日光過敏症など皮膚科的评价
5. 白内障、網膜色素変性症、視機能など眼科的評価
6. ABR での聴力評価
7. 頭部 CT および MRI
8. 貧血の有無
9. 腎機能・肝機能の評価
10. 糖尿病の有無のチェック
11. 骨格系の評価
12. 末梢神経障害評価のための神経伝導検査

2. 長期フォロープログラム

1. 精神発達遅滞の評価と個別対応による教育プログラム
2. 歩行もしくは移動機能促進および良姿勢維持のための理学療法
3. 成長障害に対する栄養計画
4. 筋緊張亢進、振戦に対する薬剤投与
5. 聴力障害に対する評価と補聴器などの治療
6. 白内障、角膜びらん、視機能の評価と治療
7. 皮膚の日光過敏症に対する日焼け止めクリーム、サングラスの使用
8. 齲歯予防のための徹底した歯科的ケア
9. 腎機能、肝機能フォロー
10. 高血圧フォローと治療
11. 睡眠障害に対する評価と薬物療法の検討
12. 体温調節障害の評価と対策の検討

23 年度には上記項目の詳細を診断・治療とケアの指針として総合的に検討報告する予定である。

(4) CS の基礎的病態の解明

様々な視点から CS の基礎的病態に迫る研究がなされた。コケイン症候群 (CS) 患者における紫外線 (UVC) 致死感受性を軽減化 (UVC 耐性化) するヒト生体内生理活性因子の探索を目指し、annexin II の作用を調査した。その結果、不死化 CS 細胞 (CS3BES および CS1ANS) を recombinant annexin II で前処理すると、紫外線致死耐性化することを見出した。その致死抵抗化の

メカニズムに、annexin II のカルシウム依存的な細胞膜への結合と phosphatidylinositol 3-kinase を介するシグナル伝達系が関与することが示唆された。(杉田、喜多)

コケイン症候群 (CS) 患者では睡眠異常、体温調節障害が合併する。CS の視床下部障害を明らかにし、治療法を考案するため、アンケート調査、剖検脳での視床下部評価、melatonin 代謝物の尿中排泄に関する ELISA 定量を進めた。5 例のアンケート解析では体温調節障害が睡眠障害より多くみられた。また、高度の萎縮を示す 4 CS 剖検脳の視床下部で亜核の形成が確認された。さらに睡眠制御に重要な役割を担うメラトニンの代謝物の尿中排泄が低下している可能性が示唆された。(林)

コケイン症候群 (CS) など紫外線性 DNA 修復異常で発症するすべての遺伝性光線過敏症に対する本邦唯一の診断センターを本年度も研究分担者の施設で維持し、各種 DNA 修復試験、分子生物学的手法を駆使して本年度は新規に 3 例の CS を確定診断した。さらに CS が疑われて本年度に依頼のあった 3 症例については 1 例は非 CS であることが判明し、2 例に関しては現在解析中である。CS B と確定した遅発型の 1 症例では新規変異がヘテロにみられ (C229T / 3549delG)、前者の変異は皮膚症状のみしか呈さない他の稀な遺伝性疾患 ; UV-sensitive syndrome (UVSS) に見られたものと同様であった。この結果は CS B と UVSS の異同を考察する上で興味深い。CS 相補性試験の高感度化に向けた評価系の検討も現在進行中である。(森脇)

XPG null マウスは、成長障害、小脳失調症状、短寿命を示しコケイン症候群のモデルと考えられていて小脳の発育不全、皮下脂肪の欠如が観察された。最近、XPG null マウスの歩行異常に関与する関節の異常を見だし、XPG null マウスがコケイン症候群の関節拘縮モデルとしての可能性が示された。(中根)

蛍光試薬を用いる簡易細胞診断法により、2

例のコケイン症候群が疑われる患者様由来の繊維芽細胞を用いて、細胞診断を行った。細胞診断は、紫外線に対する感受性試験、不定期 DNA 合成試験 (UDS)、RNA 合成回復試験 (RRS) の 3 つの基準により行った。2 例ともコケイン症候群であると診断した。簡便で定量的な手段により、信頼性の高い診断を行うことができた。(立石)

コケイン症候群 (CS) 患者は小頭症、小脳失調、感音性難聴、末梢神経障害など多彩な神経症状を呈する。CS の神経症状の発症に酸化ストレスが関与していることを明らかにし、治療法を考案するため、CS 患者の尿中酸化ストレスマーカ―の ELISA 定量と、剖検脳での DNA 特異的な酸化ストレスマーカ― (thymidine glycol、TG) の神経病理学的解析を進めた。CS における TG 沈着に関する剖検脳での染色により、大脳基底核・小脳変性における DNA 酸化ストレスの関与が示唆された。(田沼)

コケイン症候群症例に見られる不随意運動について解析した。従来の報告よりも低年齢から、前腕及び手指に振戦様の不随意運動が見られ、手指を捻転または過伸展させるアテトーゼ様運動が混在した。同時記録した表面筋電図ではミオクローヌスにジストニアの混在する所見が示された。小脳性失調症の治療薬である TRH 製剤を投与した 2 例において、振戦様不随意運動の軽減が見られた。コケイン症候群の神経病変は、大脳白質・小脳・基底核・末梢神経・脳幹・脊髄と多巣性であるが、主病変の一つである小脳萎縮が不随意運動の発現に関与している可能性が示唆され、今後治療法を検討する上で重要な所見と考えた。(熊田)

以上のように多彩な視点からコケイン症候群の病態が解析され今後のさらなる研究の進捗が待たれる。

以上の臨床および基礎医学的な研究遂行と

並行して稀少難病としてのコケイン症候群を医療者や一般に周知してもらうために 2010 年 10 月 30-31 日「CS の集い 2010」を開催した。

(参考資料参照) また本研究班の活動をより広く知ってもらうために今年度中に本研究班のホームページを立ち上げる予定である。医療者の知らないことから来る診断の遅れや患者家族の知られていないことから来る無用の心理的負荷の軽減に役立つと考えている。

D. 考察

本研究班では今年度全国調査によるコケイン症候群の臨床実態の検討および基礎的な病態に迫る研究を総合的に行うことができた。来年度はこれらをさらに進化・統合させさせ、診断・治療およびケア指針を作成する予定である。

E. 結論

コケイン症候群の臨床実態の検討および基礎的な病態に迫る研究を行うことができ「包括的診断・治療およびケア指針」作成につながる成果が出せた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

「研究成果の刊行に関する一覧表」参照

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究課題：コケイン症候群の病態解明および治療とケアの指針作成のための研究

1. コケイン症候群の発生頻度

研究要旨

コケイン症候群(CS)は常染色体劣性遺伝疾患であり、頻度は100万人に1人程度のまれな疾患とされるが正確な発生頻度については不明である。今回昨年度の本研究班の全国調査データを基にCSの発生頻度を解析、検討した。今回の全国調査においてCSの発生頻度は100万出生あたり1.72と判明した。患者数の実態を反映していないと思われる1960年代を除外すると100万出生あたり2.10となり、1980年以降で計算するとこれは2.57となる。今回の調査の不十分性を考慮するとCS発生頻度は日本においては西ヨーロッパにおける100万出生あたり2.7よりもやや少ないが大きくは変わらないといえる。

分担研究者

久保田雅也（国立成育医療研究センター神経内科 医長）

A. 研究目的

コケイン症候群(CS)は常染色体劣性遺伝疾患であり、頻度は100万人に1人程度のまれな疾患とされるが正確な発生頻度については不明である。今回昨年度の本研究班の全国調査データを基にCSの発生頻度を解析、検討した。

B. 研究方法

全国の小児科臨床研修認定施設、小児病院、療育施設合計921病院にCS生存例および過去の死亡例についての一次調査を行い合計674病院から回答を得た（回収率は73.2%）。この結果CS生存例34名、死亡例39名、合計73名という結果が判明し患者有りとの回答を得た病院・施設に臨床経過の詳細を尋ねる二次調査票を実施した。その結果、CS生存例17名（CS1型14名、CS3型3名）、死亡例15名（CS1型13名、CS2型2名）、合計32名の臨床経過が集積された。この結果を基にCSの発生頻度を産出した。

（倫理面での配慮） 研究遂行に際し、臨床研究に関する倫理指針を遵守した。

C. 研究結果

32名中臨床経過および出生年月日の明らかな31名の5年ごとの出生年を表にまとめた。（1名は年齢不明のため除外した） また厚生労働省平成21年人口動態統計の年間推計中の第1表人口動態総覧の年次推移 (<http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/suikai09/index.html>) より年間出生数を求め、出生100万人あたりのCS発生頻度を計算した。

年	n/5年	n/100万出生あたり
2005	1	0.94
2000-2004	4	0.696
1995-1999	4	0.671
1990-1994	3	0.494
1985-1989	9	1.339
1980-1984	5	0.656
1975-1979	2	0.226
1970-1974	2	0.198
1965-1969	0	0
1960-1964	1	0.122
平均	3.1	0.534

表 今回の全国調査でのコケイン症候群の5年ごとの発生人数および100万出生あたりの発生人数

2005 年以降は 2005 年の 1 名のみの診断でありこの例に限って 2005 年出生数から 100 万出生あたりの発生頻度を求め、他はある年に実際は偏っていても当該 5 年間での 100 万出生あたりの発生頻度を求めた。2005 年以降はおそらく未診断例があると思われ 2005 年以降 1 人とすると過小に見積もる可能性があるからである。全国調査のデータから計算すると 100 万出生あたりの CS の発生頻度は 0.534 となった。

これをもとに一次調査を行った病院・施設に全ての CS 患者が関わっている、および二次調査で回答の来なかった 73 名中 41 名の年齢分布が今回の 31 名と同じであるという 2 つの仮定の下に出生 100 万あたりの CS 発生頻度を求めると $(0.534/0.732) \times (73/31) = 1.72$ となる。(0.732 は一次調査の回収率)

今回の全国調査では CS の発生頻度は 100 万出生あたり 1.72 である。患者がほとんど把握できなかった 1960 年代を除外すると 100 万出生あたり 2.10 となる。1980 年以降で計算するとこれは 2.57 となる。

D. 考察

CS の発生頻度は 100 万人に 1 人とされていたが本邦での実体は不明であった。今回の全国調査の結果 100 万出生あたり 1.72 という結果が出たが、いくつか注意が必要である。大半の CS は小児科領域でのフォローがなされるであろうが今回の調査には成人神経内科でのフォローや小児科以外でのフォロー（整形外科、リハビリ科、眼科、耳鼻科、皮膚科）のみの患者は把握されていない可能性がある。また低年齢での診断の困難さがあり最近 5 年間の少なさはおそらく未診断が影響していると考えられる。また 1960 年代での患者数は実態を表しているとはいえないであろう。1960 年代を除外すると 100 万出生あたり 2.10 となった。また 1980 年以降で計算するとこれは 2.57 となった。Kleijer et al(1)によると西ヨーロッパにおける CS の発生頻度は 100 万出生あたり 2.7 である。これは今回の我々の得た値よりも大きい。

先に述べた今回の調査の不十分性を考慮すると CS 発生頻度は日本においては西ヨーロッパにおけるよりもやや少ないが大きくは変わらないといえる。

E. 結論

今回の全国調査において CS の発生頻度は 100 万出生あたり 1.72 と判明した。1980 年以降でこれを計算するとこれは 2.57 となる。

今回の調査の不十分性を考慮すると CS 発生頻度は日本においては西ヨーロッパにおける発生頻度 2.7 よりもやや少ないが大きくは変わらないといえる。

文献

(1) Kleijer WJ et al. Incidence of DNA repair deficiency disorders in western Europe: Xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome and trichothiodystrophy. DNA Repair (Amst). 2008;7:744-50.

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 古山晶子、久保田雅也 Cockayne 症候群の運動発達 「ここまでわかった小児の発達」五十嵐隆、久保田雅也 編集 中山書店 2010 pp170-173
- 2) 久保田雅也 ヒトの随意運動の発達 「ここまでわかった小児の発達」五十嵐隆、久保田雅也 編集 中山書店 2010 pp2-6.

2. 学会発表

- 1) 平成 23 年小児神経学会で発表予定。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究課題：「コケイン症候群の病態解明および治療とケアの指針作成のための研究」

2. 遅発型（3型）コケイン症候群の臨床経過

研究要旨

コケイン症候群は発症年齢と症状の重篤度により、古典型(1型)と重症型(2型)とに分けられていたが、近年、より軽症で発症年齢の遅い3型の報告がなされている。今回昨年度の本研究班の全国調査データの中から3例の3型患者を抽出しその臨床経過の詳細を検討した。3型は他の型と比較し1. 発症が遅い(症状の顕在化が遅い) (10代中盤以降)。2. 歩行困難になる年齢が遅い(20代後半)。3. 自力歩行可能で通常の運動能力を示す時期が少なくとも10代中盤一後半までは続き、その後ゆっくり退行する。4. 日常会話は(ある程度)可能な時期がある。5. 齲歯が目立たない。6. 特徴的顔貌が初期には目立たない。7. 日光過敏性は顕在化しにくい。8. 発症が遅いが中枢神経、末梢神経、腎臓、視覚、聴覚の病変は他の型と同様に徐々に出現する。腎機能低下は軽度にとどまる。等が特徴であった。1例はCT上大脳の石灰化を欠いており文献的にも20代での知的レベルがかなり保たれている場合同様の報告がある。コケイン症候群3型の表現型は多彩であるが進行が緩徐であることは共通しており人種による特異的な差はなく遅発性発症に関する遺伝子の関与が想定される。

分担研究者

久保田雅也 (国立成育医療研究センター神経内科 医長)

星野英紀 (国立成育医療研究センター神経内科 医員)

研究協力者 柏井洋文、奥村さやか、寺嶋宙
(国立成育医療研究センター神経内科 フェロー)

A. 研究目的

コケイン症候群(CS)は常染色体劣性遺伝疾患であり、頻度は100万人に1人程度とまれな疾患とされる。近年、DNA修復機構の一つであるヌクレオチド除去修復異常、特に転写と共役したDNA修復の異常であることが明らかになっている。発症年齢と症状の重篤度により、古典型(1型)と重症型(2型)とに分けられていたが、近年、より軽症で発症年齢の遅い3型の報告がなされている。今回はこの遅発型(3型)コケ

イン症候群の臨床経過の詳細を検討した。

B. 研究方法

全国の小児科臨床研修認定施設、小児病院、療育施設合計921病院にコケイン症候群生存例および過去の死亡例についての一次調査を行った。患者有りとの回答を得た病院・施設に臨床経過の詳細を尋ねる二次調査票を実施した。その結果、コケイン症候群生存例17名(CS1型14名、CS3型3名)、死亡例15名(CS1型13名、CS2型2名)、合計32名の臨床経過が集積された。この生存例の中で3名の遅発型(3型)コケイン症候群を他の型と比較し臨床的特徴を抽出した。3例のうち2例は双胎で現在31才の女性、他の1例は46才男性であった。

(倫理面での配慮)

研究遂行に際し、臨床研究に関する倫理指針を遵守した。

C. 研究結果

(1) 症例1、2 双胎2例(31才女性)の経

過（2人ともほぼ同様の経過をとった）：四人姉妹の次女、三女として双胎、未熟児で出生（詳細は不明）。乳幼児期の発達歴に異常なし。小学校低学年までは運動能力も正常だった。小学校高学年より、マラソンで最下位になるなど運動が苦手となり、歩行時の軽いふらつき、上肢振戦が徐々に出現し、学業成績も落ちてきた。姉妹で同様の経過をたどったが、妹のほうがやや症状は先行していた。

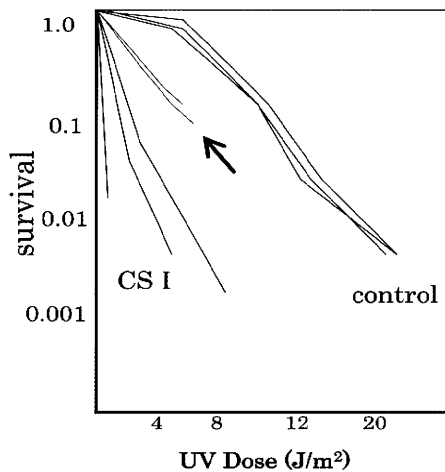


図1 皮膚線維芽細胞の紫外線感受性

短大入学時歩行時ふらつきが顕在化し、精査を受けるも診断には至らず、脊髄小脳変性症の疑いでフォローされていた。頭部 CT, MRI 上基底核石灰化、大脳半球、脳幹、小脳に著明な萎縮を認める。徐々に特異顔貌が明らかとなり、24歳時、皮膚線維芽細胞の紫外線感受性試験を行ったところ、CS 1型と正常コントロールの中間の感受性を示したため臨床症状と合わせてCS 遅発型（3型）と診断した（図1）。24才時、筋トーンは上下肢でやや低下、深部反射は上下肢で低下、Babinski 反射陰性、上下肢深部感覚障害あり、関節抗縮が進行し（尖足、肘外反）、28才で歩行困難、車いす使用となった。28才時尿閉、腎後性腎不全のため2人とも入院。入院時所見として体重 31kg である。ある程度の会話、意思疎通は可能、発語は断続的でゆっくり、構音は不明瞭。典型的な Cockayne 様顔貌あり。皮膚は薄く粗造で乾燥している。眼

振なし、眼球運動正常、自力での立位、座位保持不可、四肢の筋緊張亢進あり。rigidity あり。足関節拘縮、変形あり。振戦あり、上肢に dystonia 様の不随意運動あり。深部腱反射は消失、Babinski 反射陽性、食事は全量経口摂取可能であるが摂取量は落ちてきている。BUN 76.3mg/dl、Cr 1.63mg/dl、UA 11.0mg/dl、Na 131mEq/l、K 6.2mEq/l、Cl 105mEq/l（以上姉のデータ）と腎機能の著明な低下を認めた。尿タンパク（3+）、尿潜血（3+）であった。膀胱バルーンカテーテルを留置したところ、混濁した血尿が大量に排泄された。輸液とバルーンカテーテル留置のみで尿性状、血液データは速やかに改善した。エコー、CTにて膀胱壁の著明な肥厚を認めた。妹も右優位の両側水腎症、水尿管、膀胱の著明な拡大を認めた。また、血液検査にて同様の腎機能低下もあり、姉と同様、腎後性腎不全と考えられた。原病による末梢神経障害のため、下位型の神経因性膀胱になり、膀胱排尿筋の収縮不全があり、残尿の増加に対し、長期間にわたって不十分な圧迫排尿が行われたことにより、炎症性の膀胱壁の肥厚と腎後性腎不全を引き起こしたと考えられた。バルーンカテーテル留置のみで速やかに尿所見、血液検査所見が改善したことから、腎機能自体は保たれていたといえる。2例ともバルーンカテーテル留置、抗生剤持続投与を行い、現在月に1回取り替えている。腎機能は正常、尿路感染もなく経過している。

30才で2人とも初めて齲歯の処置と抜歯を行った。齲歯はCSにおいて早期から出現し、唾液分泌の低下が原因とされるが、2人とも唾液分泌はむしろ多いことが特徴であった。

30才過ぎから2人ともそれまで問題なかった睡眠リズムが不安定となり、夜間覚醒、不穏、昼間の気分障害が顕在化した。リスパダール少量により一時不眠、不穏は消失したが意欲や活動性が低下したため、てんかん発作はないものの脳波異常はあるためバルプロ酸を投与したところこれらは改善した。

(2) 症例 3 46 才男性の経過

在胎週数 40 週、3000g で出生、仮死があったが詳細は不明。歩行開始 1 才 3 か月、有意語は 1 才すぎから出現。幼児期から知的障害はあったが日常会話は可能であった。歩行は不安定であった。10 才過ぎから聴力が徐々に低下するも 20 代まで自転車でパチンコ屋へ通うこともできた。30 代から運動期機能、知的機能が低下、視力障害も出現した。41 才で療育施設に入所、既に寝たきりだったが発語はわずかにあり。入所後食事摂取量増加に伴い糖尿病を発症。入所前より高血圧があったが現在 (46 才) は無治療で経過。また尿中アルブミン高値、クレアチニンクリアランスの低下があり低形成腎の可能性あり。現在発語もなくほとんど無反応であるが経口摂取は可能である。現在身長 130cm、体重 30.1kg 頭囲 50.2cm、くぼんだ眼、まばらな毛髪、薄い皮膚、発汗低下、体温調節障害、白内障、涙液分泌低下、難聴 (ABR は 100dB でも無反応)、齶歯など CS に特徴的な徴候を認めるが日光過敏性の記載はなく、また頭部 CT 上石灰化はない。脳幹を含めた中枢神経系全体の萎縮を認める。下肢深部反射は低下-消失、病的反射は認めず、足関節の拘縮を認める。けいれん発作の既往があり (詳細不明) 抗てんかん薬を服用中である。

以上の 3 例からコケイン症候群 3 型の特徴の特徴としては

1. 発症が遅い (症状の顕在化が遅い) (10 代中盤以降)。
2. 歩行困難になる年齢が遅い (20 代後半)
3. 自力歩行可能で通常の運動能力を示す時期が少なくとも 10 代中盤-後半までは続き、その後ゆっくり退行する。
4. 日常会話は (ある程度) 可能な時期がある。
5. 齶歯が目立たない。
6. 特徴的顔貌が初期には目立たない。
7. 日光過敏性は顕在化しにくい。
8. 発症は遅いが中枢神経、末梢神経、腎臓、

視覚、聴覚の病変は他の型と同様に徐々に出現する。腎機能低下は軽度にとどまる。等があげられる。

D. 考察

遅発型、軽症型、成人型などと分類されるコケイン症候群 3 型は今回の双胎例の紫外線感受性に象徴されるように他の型と比較し病態は同じだとしても進行が緩徐であることが特徴である。発症は遅く、進行は緩徐であるがほとんどの末梢神経および中枢神経系の障害はいずれ顕在化する。しかし他の型で死因にもなりえる腎臓病変は軽度である。Miyachi et al. (1) は 55 才と 42 才のコケイン症候群兄弟例 (相補群 B) を報告している。兄は日光過敏性を有しているが特異的顔貌、齶歯、小頭もなく、軽度難聴があり IQ70、CT 上脳萎縮はあるも石灰化なし、軽度瘻性があり、安静時右手と頭部に振戦を認めている。弟は日光過敏性を有し小頭で CT 上基底核石灰化があり、軽度瘻性、尖足、同様の振戦を認め IQ<60 と臨床的には兄より重い。2 人とも低身長、糖尿病罹患はあるが腎機能低下は記載なし。今回臨床経過を報告した症例 3 コケイン症候群 46 才男性は頭部 CT 上石灰化を認めていないが中枢神経系全般の萎縮はある。Kennedy et al. (2) も脳の石灰化を欠くコケイン症候群 25 才女性を報告している。この患者は日光過敏性、低身長、特徴的な顔貌、小頭、難聴、振戦があり IQ78→65 であった。Miyachi et al. (1) の 55 才男性、Kennedy et al. (2) の 25 才女性と今回の症例 3 はいずれも CT 上大脳の石灰化を欠いているが共通するのは 20 代での知的レベルがかなり保たれていることである。今回報告した症例 1、2 の基底核石灰化がいつ出現したかは確認しえていないが 3 型の中でも基底核石灰化を欠く症例がありコケイン症候群において知的障害が重くない場合基底核石灰化は必ずしも診断の必須条件にはならないといえる。コケイン症候群 3 型の表現型は多彩であるが進行が緩

徐であることは共通しており人種による特異的な差はなく遅発性発症に関する遺伝子の関与が想定される。

E. 結論

コケイン症候群3型は今回の双胎例の紫外線感受性に象徴されるように他の型と比較し病態は同じだとしても進行が緩徐であることが特徴である。発症は遅く、進行は緩徐であるがほとんどの末梢神経および中枢神経系の障害はいずれ顕在化する。腎機能低下は軽度にとどまる。知的障害が重くない場合基底核石灰化を欠く場合もある。3型表現型に人種による特異的な差はなく遅発性発症に関する共通の遺伝子の関与が想定される。

文献

- (1) Miyauchi H, Horio T, Akaeda T, et al. Cockayne syndrome in two adult siblings. *J Am Acad Dermatol* 1994;30:329-335.
- (2) Kennedy RM, Rowe VD, Kepes JJ. Cockayne syndrome: An atypical case. *Neurology* 1980;30:1268-1272.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 古山晶子、久保田雅也 Cockayne 症候群の運動発達 「ここまでわかった小児の発達」五十嵐隆、久保田雅也 編集 中山書店 2010 pp170-173
- 2) 久保田雅也 ヒトの随意運動の発達 「ここまでわかった小児の発達」五十嵐隆、久保田雅也 編集 中山書店 2010 pp2-6.

2. 学会発表

- 1) 平成23年小児神経学会で発表予定。

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

なし

研究課題：「コケイン症候群の病態解明および治療とケアの指針作成のための研究班」

3. コケイン症候群患者由来培養細胞における紫外線抵抗化生理因子の解析

研究要旨

コケイン症候群 (CS) 患者における紫外線 (UVC) 致死感受性を軽減化 (UVC 耐性化) するヒト生体内生理活性因子の探索を目指し、annexin II の作用を調査した。その結果、不死化 CS 細胞 (CS3BES および CS1ANS) を recombinant annexin II で前処理すると、紫外線致死耐性化することを見出した。その致死抵抗化のメカニズムに、annexin II のカルシウム依存的な細胞膜への結合と phosphatidylinositol 3-kinase を介するシグナル伝達系が関与することが示唆された。

分担研究者

杉田克生 (千葉大学教育学部・教授)

研究協力者：喜多和子 (千葉大学大学院医学研究院)

A. 研究目的

コケイン症候群 (CS) 患者における紫外線 (UVC) 致死感受性を軽減化 (UVC 耐性化) するヒト生体内生理活性因子や薬品・食品素材の発見を目指している。すでに、その耐性化をサイトカインの一種であるヒトインターフェロンが CS 患者由来培養細胞 (CS 細胞) にて示すことを報告している (Sugita K., *et al.*, *Mutat. Res.*, 357, 177-81, 1996) ことより、サイトカイン様因子の探索を行うこととした。このインターフェロンによる作用メカニズムについては、究極、シャペロンを介して行われるとの示唆を得ており、Heat Shock Protein (HSP) 類の関与を見出している。一方、シャペロンないしシャペロンに結合する分子の中には、細胞外への放出や血液中の存在が報告されている。本研究では、シャペロン HSP27 結合タンパク質 annexin II による CS 細胞の UVC 耐性化を検証した。

B. 研究方法

(1) 培養ヒト細胞

CS 細胞: 英国 MRC Genome Damage and Stability Centre の Prof. Lehmann より不死化 CS 細胞

(CS3BES および CS1ANS) を提供され、実験に用いた (Mayne L.V., *et al.*, *Exp. Cell Res.* 162, 530-8, 1986)

(2) 細胞培養

牛血清を 10%(w/w) と抗生物質 (100 µg/mL ストレプトマイシンと 100 units/mL ペニシリン) を含む minimum essential medium (MEM) 中で培養した。直径 100 mm ディッシュ (コーニング細胞培養用ディッシュ) を使用した。

(3) UVC 照射

254 nm の波長を主として発生する紫外線ランプ (6-W National germicidal lamp, 1 J/m²/sec) を使用し、線量は UV radiometer (UVR-254, 東京光学機械) を使用し測定した。細胞への紫外線照射は、培養液を除き、phosphate buffer saline (PBS) でディッシュを洗った後、PBS を除いた状態で行った。

(4) Annexin II タンパク質の精製

大腸菌にて、次のような方法で作製した組換え体タンパク質を使用した。PCR 増幅した *annexin II* cDNA を GST 融合型組換えタンパク質発現ベクター pGEX6P (GE ヘルスケアバイオサイエンス) に挿入した。このプラスミドを大腸菌 BL21 株へトランスフォーメーションし、0.2 mM IPTG 存在下で GST-annexin II タンパク質を発現させた。大腸菌より細胞ライゼートを抽出し、これをグルタチオンセファロース 4B カラム (GE ヘルスケアバイオサイエンス) にアプライした。カラムに吸着した

GST-annexin II タンパク質は、Precision Protease (GEヘルスケアバイオサイエンス)を用いてカラム内で GST と recombinant annexin II (rANX II)に限定分解させた後、rANX IIのみを溶出した。次いで、10 mM グルタチオンを含む溶液で、GST を溶出した。精製した、rANX II および GST は、透析した後、ポアサイズ 0.22 μ M のフィルターで滅菌し、 -80°C で保存した。この rANX II を UVC 照射前 0.5 μ g/ml で 24 時間メEDIUM 中へ添加した。比較タンパクとして GST を用いた。

C. 研究結果

(1) rANX II による不死化 CS 細胞の紫外線致死耐性化

培養液中に rANX II を添加された CS3BES 細胞と CS1ANS 細胞とともに、GST を添加されたコントロール細胞に比べ、UVC 致死耐性化した (図 1)。

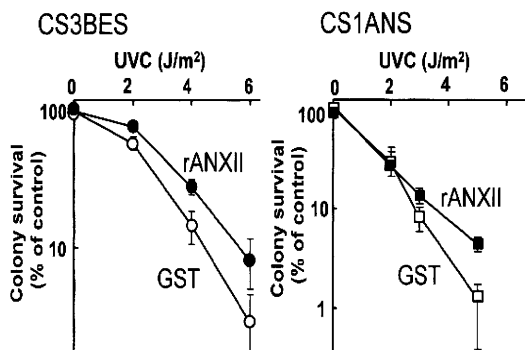


図 1. rANX II 前処理による不死化 CS 細胞の紫外線致死耐性化

(2) rANX II による紫外線致死耐性化作用の機序

カルシウムに親和性の高いキレート試薬 EGTA(5mM)、あるいは抗 annexin II 抗体を、rANX II とともに CS3BES 細胞の培養液に添加すると、rANX II による致死耐性化効果が抑制された (図 2 A)。さらに、phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) 阻害剤の LY29004 (50 μ M)でも、rANX II による致死耐性化効果が抑制された (図 2 B)。

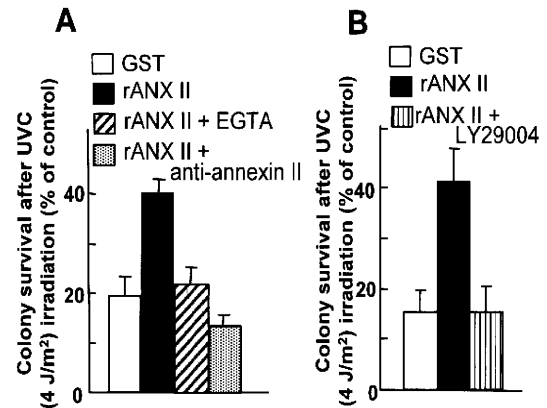


図 2 EGTA と抗 annexin II 抗体 (A) および PI3K 阻害剤 (B) による rANX II の紫外線耐性化効果の抑制

D. 考察

平成 21 年度は、初代培養 CS 細胞(CSBB)について検討し、rANX II 添加による UVC 致死耐性化作用を認めた。本年度は、不死化 CS 細胞においても、rANX II による UVC 致死耐性化が起こることを見出した。その作用は、抗 annexin II 抗体により抑制されることから、rANX II サンプル中の微量の混在成分に起因するのではなく、annexin II によることが示された。また、カルシウムキレート試薬および PI3K 阻害剤により、rANX II の紫外線致死耐性化効果が抑制された。この結果から、耐性化機構に、rANX II のカルシウム依存的な細胞膜への結合と PI3K を介するシグナル伝達系が関与することが示唆された。今後、さらに、メカニズムの詳細を解明したい。

CS 細胞は、DNA 修復に関わる分子の欠損が知られている。従って、CS 細胞で欠損している分子に関わる以外の DNA 修復経路の活性化が annexin II により、もたらされている可能性もある。今後、その経路の探索も行いたい。また、annexin II がヒト血清中に存在するか否か、もし存在するならば CS 患者の血清中の濃度はどの程度かを調査する必要がある。その上で、annexin II がヒト体液中の生理活性因子として機能する場合、その機能を高めることによる治療法の開発も、一つの可能

性と考えられよう。一方、annexin II やインターフェロンの作用と類似の化合物が、薬品・食品の中に存在するか否かを調査する必要もある。特に、植物中に存在する可能性を追究している。植物は、太陽光紫外線による傷害に対応して生存してきたと考えるからである。

E. 結論

紫外線感受性の CS 細胞を rANX II で前処理すると、紫外線致死耐性化した。rANX II による致死耐性化の詳細なメカニズムは未だ不明であるが、rANX II のカルシウム依存的な細胞膜への結合と PI3K を介するシグナル伝達系の関与が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Torii M, Shimoyama I, Sugita K., Phonemic and semantic working memory in information processing in children with high function pervasive developmental disorders. IMJ Vol 17, No 1, 35-39, 2010.
- 2) Sugita K., Suzuki N, Oi K, Allen-Tamai M, Sugita Ki, Shimoyama I. Cross-Sectional Analysis for Matching Words to Concepts in Japanese and English Languages. IMJ Vol 17, No 1, 41-45, 2010.
- 3) Chen S-P, Dong M, Kita K., Shi Q-W, Cong B, Guo W-Z, Sugaya S, Sugita K., Suzuki, N. Anti-proliferative and apoptosis-inducible activity of labdane and abietane diterpenoids from the pulp of *Torreya nucifera* in HeLa cells. Mol. Med. Rep. 3, 673-678, 2010.
- 4) Lu J, Hu G, Kita K., Suzuki N. Retrovirus-mediated transduction of a short hairpin RNA gene for GRP78 fails to downregulate GRP78 expression but leads to cisplatin sensitization in HeLa cells, Oncol. Rep. 25, 879-885, 2011.
- 5) Zahed M, Suzuki T, Kita K., Sugaya S, Suzuki N. Screening of novel peptide ligands bound to the carboxy-terminal domain of GRP94 by phage display.

Chiba Medical J. in press.

2. 学会発表

- 1) 佐々枝里子、小林悟、中島葉子、岩山秀之、石田敦士、服部文子、安藤直樹、伊藤哲哉、石川達也、杉田克生「コケイン症候群の全身管理プロトコールの作成」第 34 回日本小児神経学会東海地方会 2011/1/29 名古屋
- 2) 田沼直之、宮田理恵、林雅晴、久保田雅也、杉田克生、金子節子、荒木聡、百崎謙、大野耕策「色素性乾皮症・Cockayne 症候群における尿中酸化ストレスマーカー解析」第 51 回日本小児神経学会 2010/5/21-23 福岡
- 3) 喜多和子、杉田克生、陳 仕萍、佐藤哲生、郭文智、鈴木敏和、菅谷 茂、鈴木信夫「細胞外に添加された HSPB-A によるコケイン症候群患者由来細胞の紫外線致死抵抗化」第 53 回放射線影響学会大会 2010/10/20-22 京都

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

コケイン症候群の実態把握および治療とケアの指針作成ための研究

4. コケイン症候群の中樞神経病理所見、および他の臓器病理所見の解析

研究要旨 コケイン症候群（CS）患者では睡眠異常、体温調節障害が合併する。CSの視床下部障害を明らかにし、治療法を考案するため、アンケート調査、剖検脳での視床下部評価、melatonin代謝物の尿中排泄に関するELISA定量を進めた。5例のアンケート解析では体温調節障害が睡眠障害より多くみられた。また、高度の萎縮を示す4CS剖検脳の視床下部で亜核の形成が確認された。さらに睡眠制御に重要な役割を担うメラトニンの代謝物の尿中排泄が低下している可能性が示唆された

分担研究者

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)

A. 研究目的

Cockayne 症候群（CS）は転写関連の塩基損傷修復機構の遺伝的欠損により生じ、発育障害、老人様顔貌、日光過敏症、白内障、網膜色素変性、感音性難聴、末梢神経障害、腎障害などが見られる。CS患者では時に睡眠や体温調節の異常がみられ、視床下部障害の合併が疑われるが、臨床的な解析は十分で行われていない。本年度はCS患者の生活の質を大きく左右する視床下部障害に関して、臨床神経病理学的検討を行った。

B. 研究方法

（1）CS患者家族会「日本CSネットワーク」の協力を得て睡眠・体温調節異常に関するアンケート調査を行い、結果を集計評価した。（2）CS剖検脳5例（死亡時年齢7～18歳）において、視床下部に対する免疫組織化学染色の前提とすべく、通常組織染色標本で亜核の同定を試みた。（3）CS、疾患対照である色素性乾皮症（XP）、年齢相当対照の午前採取スポット尿検体において、睡眠制御に重要な役割を担うメラトニンの主たる代謝物6-sulphatoxymelatonin（aMT6s）の尿中排泄をELISAにより定量評価した。

（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. 研究結果

（1）5例のアンケート集計では体温調節障害

（変動体温、低体温、夏季の高熱）が全例でみられたのに対して、睡眠障害（12歳例：入眠・覚醒障害、21歳例：夜間睡眠中の中途覚醒が頻回）は2例で認められた（表1）。また、家族からの聞き取り調査により二次性徴発現にはあまり問題がみられないことを確認した。（2）高度の脳萎縮にもかかわらず、4剖検脳の組織染色標本で一部の視床下部の亜核を識別できた（図1）。ただし、神経細胞の大きさは対照に比べ小さく、かつ密集していた。（3）午前採取スポット尿検体において、CS患者でのaMT6s尿中排泄が、対照（幼児期に高値、以後年齢に応じてJカーブを描いた）、XP患者より有意に低下していた（図2）。年齢を7～32歳に揃えた場合、尿中aMT6s濃度（ng/mg Creatinine）はそれぞれ対照（n=7）37.4±15.3、XP患者（N=9）24.5±18.2、CS患者19.2±9.1であった。

D. 考察

少数例での解析ではあったが、体温調節障害が睡眠障害より多くみられ、視床下部障害に加えて、CS患者での皮下脂肪減少、発汗障害、末梢循環不全等の関与が推定された。また、睡眠障害と視力障害の重症度との関連も示唆された。今後も例数を増やしてアンケート集計を進めるとともに、睡眠障害を合併した患者でActigraphや睡眠表を用いて概日リズムの評価を試みる。一方、今回、通常組織染色での検討で視床下部亜核をある程度識別できたので、XP剖検脳とともに、視床下部の機能マーカー（vasopressin, tyrosine hydroxylase, hypocretin）に対する免疫組織化学染色を行う予定である。従来、aMT6s尿中排泄は日内変動を示し、覚醒直後の午前スポット尿で最大値を呈することが報告されている。CS患者午前スポット尿でのaMT6s排泄低下を証明するため、対照において6時間おきに採取された複数スポット尿でaMT6s濃度を測定し、午前スポット尿での測定の有用性を検証する。

E. 結論

CS 患者では体温調節障害、睡眠異常の順に視床下部障害が推定される症状がみられた。また、高度の萎縮を示す剖検脳の視床下部で亜核形成が確認された。さらに睡眠制御に重要な melatonin の主たる代謝物 6-sulphatoxymelatonin の尿中排泄が低下している可能性も示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Oba D, Hayashi M, et al. Autopsic study of cerebellar degeneration in siblings with ataxia-telangiectasia-like disorder (ATLD). Acta Neuropathol 119(4): 513-20, 2010
- 2) Hayashi M, et al. An autopsy report of case showing repetitive hypoglycemia and unique cortical dysplasia. Brain Dev 32(4): 289-92, 2010.
- 3) Miyata R, Sasaki T, Hayashi M, et al. Low dose of levodopa is effective for laryngeal dystonia in xeroderma pigmentosum group A. Brain Dev 32(8): 685-7, 2010.
- 4) Hayashi M, et al. Oxidative stress in developmental brain disorders. In: Ahmad S, ed. Neurodegenerative diseases. Austin: Landes Bioscience (in press) (レビュー)
- 5) Hayashi M, et al. Hypothalamic lesions in developmental brain disorders. In: Dudas B, ed. The Human hypothalamus: anatomy, functions and disorders. New York: Nova Science Publishers (in press) (レビュー)

2. 学会発表

- 1) 林雅晴ら. A 群色素性乾皮症と Cockayne 症候群の剖検脳での Thymidine glycol の蓄積. 第 52 回日本小児神経学会総会, 福岡 (2010, 5.21)。
- 2) 林雅晴. CS 研究 最近の進歩. コケイン症候群 (CS) の集い 2010, 東京 (2010, 10.30)。

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。

表 1 CS 患者 5 例でのアンケート集計結果

<u>Age/ Sex</u>	<u>Motor ability</u>	<u>Deaf- ness</u>	<u>Blind- ness</u>	<u>Bed- time</u>	<u>Rising hour</u>	<u>Nap (/day)</u>	<u>Sleep problems</u>	<u>Thermal dysregulation</u>	<u>Poor peripheral circulation</u>
7/M	Walk with support	(-)	1+	21:00 22:00	6:00 7:00	1	(-)	Poikilothermia	1+
9/M	Creep	2+	1+	21:00 22:00	6:00 7:00	1	(-)	Poikilothermia	2+
10/F	Creep	2+	1+	23:00 0:00	7:00 8:00	1	(-)	Hypothermia	1+
12/F	Sit	2+	2+	23:00 3:00	4:00 9:00	1	Hard to sleep and wake up	Fever responding to environment	1+
21/M	Walk with support	2+	1+	20:00 22:00	6:00 8:00	0-1	Frequent arousal during sleep	Fever responding to environment	(-)

図 1 CS 患者の視床下部の Klüver-Barrera 染色 (a. 7 歳例の腹内側核、b. 15 歳例の室傍核)

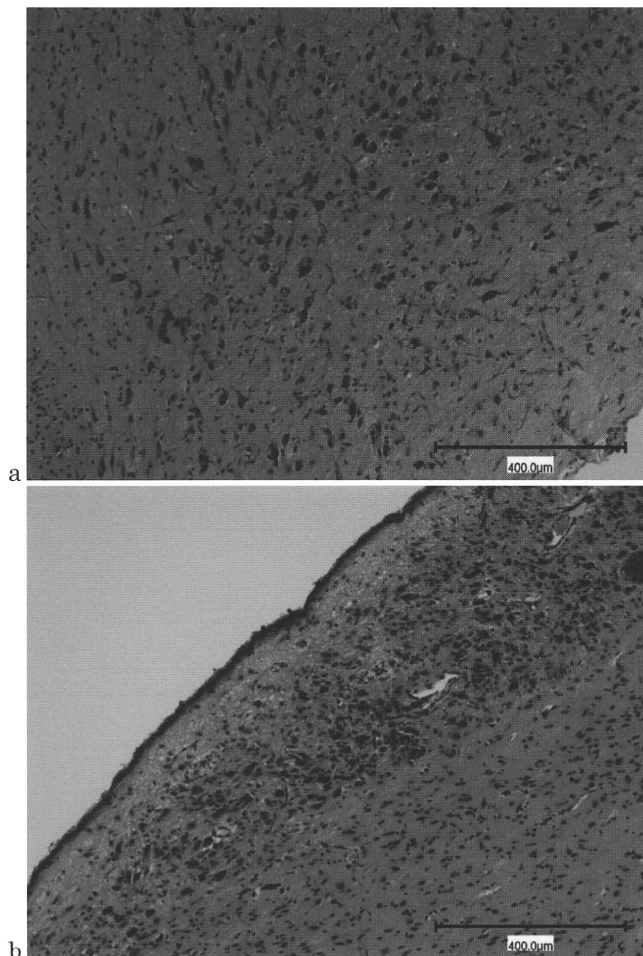
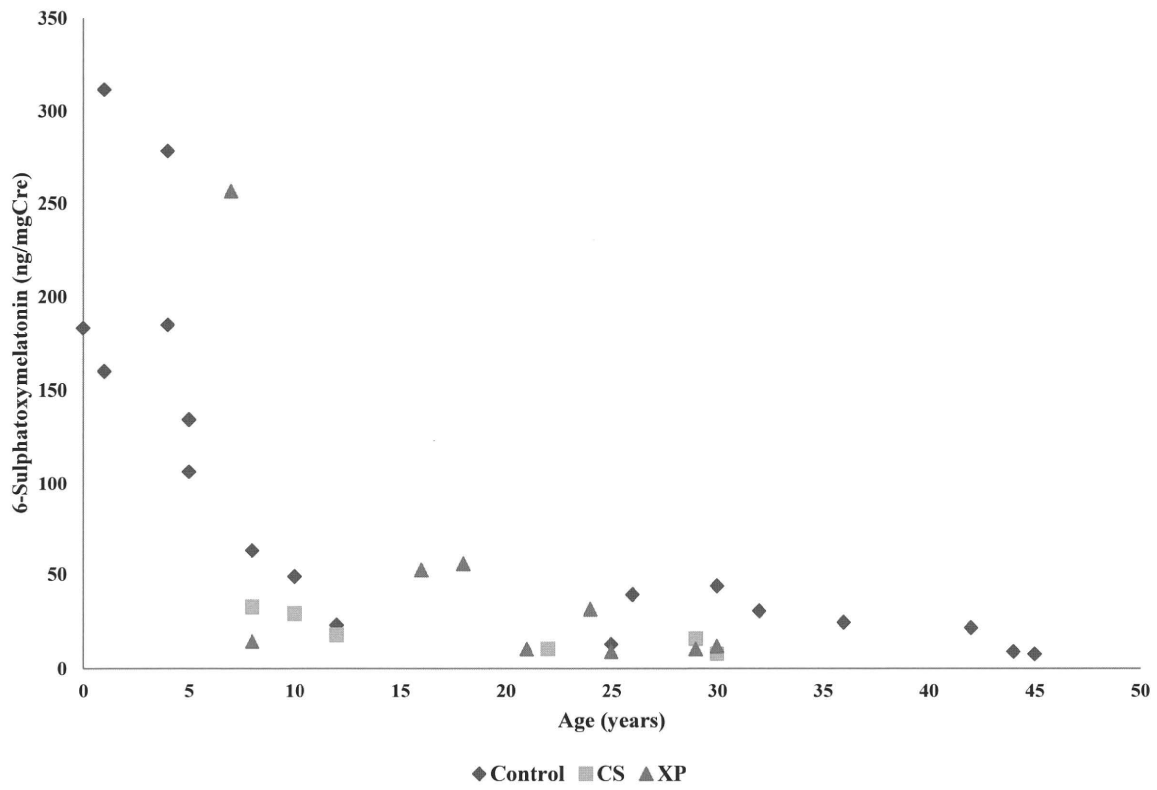


図2 対照 (Control)、Cockayne 症候群患者 (CS)、色素性乾皮症患者 (XP) でのメラトニン代謝物 6-sulphatoxymelatonin の尿中排泄



研究課題：「コケイン症候群の病態解明および治療とケアの指針作成のための研究班」

5. コケイン症候群の分子遺伝学的解析

研究要旨

コケイン症候群（CS）など紫外線性DNA修復異常で発症するすべての遺伝性光線過敏症に対する本邦唯一の診断センターを本年度も研究分担者の施設で維持し、各種DNA修復試験、分子生物学的手法を駆使して本年度は新規に3例のCSを確定診断した。さらにCSが疑われて本年度に依頼のあった3症例については1例は非CSであることが判明し、2例に関しては現在解析中である。CSBと確定した遅発型の1症例では新規変異がヘテロにみられ（C229T /3549delG）、前者の変異は皮膚症状のみしか呈さない他の稀な遺伝性疾患；UV-sensitive syndrome（UVSS）に見られたもの同様であった。この結果はCSBとUVSSの異同を考察する上で興味深い。CS相補性試験の高感度化に向けた評価系の検討も現在進行中である。

分担研究者

氏名（所属・職名）

森脇真一（大阪医科大学皮膚科・教授）

復テスト、④遺伝子解析、⑤タンパク解析などにより行った。③に関しては紫外線照射したレポータープラスミドの宿主細胞回復能を指標にした新規アッセイ系であり、現在至適条件の検討を行っている。

A. 研究目的

研究分担者は平成 10 年よりコケイン症候群（CS）、色素性乾皮症（XP）など紫外線性DNA修復異常で発症するすべての遺伝性光線過敏症の診断センターを本邦で唯一維持し、各種DNA修復試験、分子生物学的手法を駆使してこれまで新規に 17 例のCSを確定診断した。今年度も引き続き新たにCSが疑われて紹介されてきた患者に対して細胞生物学、分子遺伝学的な解析を行い、さらに臨床症状を詳細に検討することにより、CSにおけるゲノタイプ・フェノタイプの関連についての検討を行った。本研究によりCSにおいて多岐にわたる臨床症状の発症機序解明や分子レベルでの情報取得による重症度や予後の推定に役立つものと思われる。

（倫理面への配慮）

上記の研究は大阪医科大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査会において承認されている。研究はその審査会の基準を遵守し、患者あるいは家族の文書による同意を得た後に施行し、その場合検体は連結可能コード化して取り扱った。個人情報には十分配慮し、検体の保管も厳重に行った。またコントロール細胞など一部の細胞はすでに論文などで発表されており本研究者が長年連結不可能化して保持しているものである。

B. 研究方法

CSの確定診断は患者皮膚由来の培養線維芽細胞を用いて①紫外線照射後の不定期DNA合成能（unscheduled DNA synthesis；UDS）測定、②紫外線感受性試験、③相補性群試験などのDNA修

C. 研究結果

CSの確定診断は宿主細胞回復能を指標にした相補性試験にて施行中であるが、レポータープラスミドとともに細胞内に導入したCS遺伝子の mRNA 発現は高レベルである一方で翻訳過程が十分ではなく、部分的な相補しか達成されない（図）。軽症CSの診断目的を含めて現在引き続きこの相補性試験においての最適な条件を検討中である。