

C S 診断センターにおいては年度間に新規に 1 例の C S A (4 歳男児例)、2 例の C S B (ともに成人例；22 歳男性と 40 歳女性) を確定した。他の 1 例は 30 歳の女性で低身長、早老様顔貌で当初 C S が疑

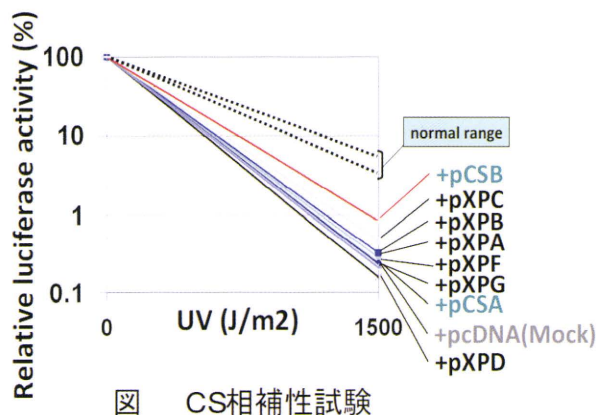


図 CS相補性試験

われたが細胞生物学的に否定された。さらに 2 症例 (14 歳男児、31 歳男性) については現在解析中である。このうち遅発型 C S B の 1 例 (図) に新規変異をヘテロに同定し (C229T /3549delG)、興味深いことに前者の変異は 皮膚症状のみしか呈さない稀な遺伝性疾患；UV-sensitive syndrome (UVSS) に見られたもの同じであった (表)。

また C S の社会的認知を高めるための啓蒙活動を目的として「C S の集い 2010」を東京にて主催した (平成 22 年 10 月 30 日；医療従事者対象、10 月 31 日；一般市民対象)。

	XP	CS	UVSS	自験例
Sun sensitivity (skin, cells)	+	+	+	+
Freckling	+	-	+ mild	+ mild
High risk of skin cancer	+	-	-	-
Ocular abnormalities	+ cornea	+ retina	-	-
Neurological degeneration	- or +	+	-	+ mild
NER defect GGR	+	-	-	-
TCR	+	+	+	+
Developmental defect	+	++	-	-
Internal malignancy	+?	-	-	+
Responsible gene	XPA-G XPV	CSA CSB XPB/D/G	CSA CSB (C229T homo) Unknown	CSB (C229T / 3540delG)

表 Comparison of XP, CS, UVSS and our case

D. 考察

今回の遅発型 C S B 症例の結果は UVSS が遅発型 C S B に移行する可能性あるいは UVSS が独立疾患ではなく C S B という包括的な疾患概念の中に位置する可能性を示唆する。

宿主細胞回復能が指標の新規 C S 診断システムにおいて、C S 細胞に C S 遺伝子を導入しても相補 (DNA 修復能の正常レベルまでの回復) が少ないことから、軽症 C S の確定診断のためにも、導入 C S 遺伝子の細胞内発現をさらに上げるような何らか工夫 (ケミカル処理など) を考慮する必要がある。

E. 結論

C S は稀な疾患ではあるが患者のためには本邦唯一維持している C S 診断センターは引き続き継続することが重要であると考え。またその過程で得られる貴重な臨床材料 (多彩な臨床症状を呈する患者皮膚由来の初代培養線維芽細胞など) を詳細に検討することにより C S の病態のさらなる解明がいつそ進むものと予想する。このような病態の解明は近い将来 iPS 細胞などによる再生医療が進歩した後に可能となるかもしれない「遺伝病の根本的な治療」に対しても有用な情報をもたらすものであろう。最後に C S 患者会を通して、C S 患者・家族は C S という疾患の認知が低い故に多くの社会的制約や差別を受けていることが判明した。今年度開催したような市民や医療関係者を対象とした研修会はこれからも有用と考える。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) 森脇真一 皮膚科領域の遺伝医療 臨床講義 皮膚科の臨床 52；351-358, 2010
- (2) Moriwaki S Ten Years of Clinical and Laboratory Work on Xeroderma Pigmentosum. Bulletin of the Osaka Medical College 56；1-7, 2010
- (3) 森脇真一 色素性乾皮症 看護大辞典第二版、医学書院
- (4) 森脇真一 色素性乾皮症を疑ったらずどんな検査をするか What's new in 皮膚科学 2010-2011 p196-197, 2010 (メディカルビュー社)

- (5) 森脇真一 色素性乾皮症 皮膚科セミナリウム 日本皮膚科学会雑誌 120 : 1861-1867, 2010
- (6) 森脇真一 色素性乾皮症 からだと光の事典 p171-175, 2010 (朝倉書店)
- (7) 森脇真一 色素性乾皮症 小児科臨床ピクシス p64-65, 2010 (中山書店)
- (8) 森脇真一 色素性乾皮症 子どもの皮膚疾患の診かた 小児科 51 : 670-671, 2010 (金原出版)
- (9) 森脇真一 色素性乾皮症 日本小児皮膚科学会雑誌、29 ; 1-5, 2010
- (10) Takahashi Y, Endo Y, Sugiyama Y, Inoue S, Iijima M, Tomita Y, Kuru S, Takigawa M, Moriwaki S Novel XPA Gene Mutations Resulting in Subtle Truncation of Protein in Xeroderma Pigmentosum Group A Patients with Mild Skin Symptoms. J Invest Dermatol 130:2481-8, 2010
- (11) 森脇真一 光線過敏症 日本皮膚科学会平成 22 年度中部支部企画研修講習会テキスト
- (12) 森脇真一 高齢者の光線過敏症をみたら？ 高齢者の皮膚トラブル FAQ (診断と治療社) p94-97, 2011
- (13) Hirata Y, Koga S, Fukui N, Yu A, Koshida S, Kosaka Y, Moriwaki S 5-Aminolevulinic acid (ALA) - mediated photodynamic therapy to superficial malignant skin tumors using Super Lizer™ J Dermatology, in press.
- (14) Bradford PT, Goldstein AM, Tamura D, Khan SG, Ueda T, Boyle J, Oh K-S, Imoto K, Inui H, Moriwaki S, Emmert S, Pike KM, Raziuddin A, Plona T, DiGiovanna JJ, Tucker MA, Kraemer KH CANCER AND NEUROLOGIC DEGENERATION IN XERODERMA PIGMENTOSUM: LONG TERM FOLLOW-UP CHARACTERIZES THE ROLE OF DNA REPAIR J Med Genet, in press
- (15) 森脇真一 色素性乾皮症 皮膚疾患 最新の治療 2011-2012 p116, 2011 南江堂
- (16) 森脇真一 遺伝性光線過敏症の分子診断と患者ケア 日本皮膚科学会雑誌 学術大会号 120 : 2582-2583, 2010
- (17) 森脇真一 皮膚疾患と看護 小児臨床看護学各論 小児看護学 (改訂 12 版) p415-425 医学書院 2011 学会発表
- (1) 森脇真一 色素性乾皮症の病態と日常生活での注意点 色素性乾皮症患者家族の集い (岡山皮膚難病支援ネットワーク) 平成 22 年 2 月 6 日 (岡山)
- (2) 森脇真一 光環境と皮膚～色素性乾皮症と向き合って～第 15 回京都皮膚科治療フォーラム 平成 22 年 3 月 18 日 (京都)
- (3) 中西伸夫、森脇真一 UV^s 症候群は late onset のコケイン症候群に移行する？第 39 回 UV-ABCclub 平成 22 年 3 月 20 日 (京都)
- (4) 森脇真一 遺伝性光線過敏症の分子診断と患者ケア 教育講演 第 109 回日本皮膚科学会総会 平成 22 年 4 月 17 日 (大阪)
- (5) 森脇真一 「色素性乾皮症を知ろう」 市民公開講座 第 32 回光医学・光生物学会 平成 22 年 8 月 1 日 (東京)
- (6) 森脇真一 光線過敏症：基礎から最新の知見まで 日本皮膚科学会平成 22 年度中部支部企画研修講習会 平成 22 年 9 月 10 日 (大阪)
- (7) Moriwaki S Experience of laboratory diagnosis of XP, CS and TTD in Japan XERODERMA PIGMENTOSUM AND OTHER DISEASES OF HUMAN PREMATURE AGING AND DNA REPAIR: MOLECULES TO PATIENTS 2010.9.21-24 (Lansdowne, VA) , USA
- (8) 森脇真一 CS の遺伝と診断 CS の集い 2010 平成 22 年 10 月 30 日 (東京)
- (9) 森脇真一 CS 患者とともに 20 年 CS の集い 2010 平成 22 年 10 月 31 日 (東京)
- (10) Moriwaki S, Sakai Y, Nakanishi N, Nakamura S, Takahashi M, Toda K Progression of UV sensitive syndrome to adult onset Cockayne syndrome in a patient with CSB mutations 第 35 回日本研究皮膚科学会 平成 22 年 12 月 3 日 (和歌山)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
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」

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

研究要旨

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關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。

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

A. 研究目的

XPG null マウスにおけるコケイン様臨床症状と各臓器の病変との関係を病理学的に検討し、同マウスがコケイン症候群の疾患動物としての有用性を調べることを目的とする。

B. 研究方法

XPG null マウスにおけるコケイン様臨床症状の検討するために、各日令のXPG null マウス（～3週令）の組織検索を行う。検索には、各日令マウスを灌流固定した標本を作成し（固定条件を一定にするため）、光学顕微鏡（場合によっては透過電子顕微鏡を用いて）で検索する。当然、ヒトとマウスの種の違いには、細心の注意を払って検索する。ヒトのコケイン患者さんの剖検症例の所見を参考にして、以下の点に留意する。同マウスの皮下組織、性腺、網膜、聴覚器、小脳[小脳失調]、関節[関節拘縮、亀背]、脳の髄鞘化[髄鞘障害]、歯・唾液腺等を検索する。[]内は、コケイン症候群の臨床症状を示す。

（倫理面への配慮）

本研究は、鳥取大学・動物実験安全委員会に実験計画の承認を受けて実施している。

C. 研究結果

XPG null マウスにおけるコケイン様臨床症状の検討の過程で、同マウスの歩行異常が、小脳の異常だけでなく関節の可動域制限にも一因があると考えられた。予備実験で同マウス膝関節の病理学的検索から、関節空隙の狭小化や関節周囲組織の異常が観察された。

D. 考察

コケイン症候群の患者さんの関節拘縮の病理報告がなく詳細は不明であるが、XPG null マウスの歩行異常の病変として、小脳の異常だけでなく、関節病変に着目することで今回の所見を得た。コケイン患者さんのリハビリ担当者で関節拘縮の病態と同マウスの病変との関係を検討できたことも重要であった。今後、さらに末梢神経の病変を解析する必要があるが、同マウスのコケイン症候群の疾患動物として有用性が明らかになるだろう。

E. 結論

XPG null マウスの歩行異常の一因として、小脳の異常のみならず、関節の病変が関わる可能性を示し、同マウスのコケイン症候群の関節拘縮の病態解析モデルとしての可能性が示された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

今後発表予定。

2. 学会発表

1) 中根裕信ら. “コケイン症候群のモデル動物としての *Xpg* ノルマウスの検討.” 第4回日本エビジェネティクス研究会年会. 要旨集 p94、米子市 (2010. 5. 28-29)

2) 中根裕信 “CS モデルマウスの解析” コケイン症候群 (CS) の集い 2010、東京都渋谷区代々木ロレアルビル, (2010. 10. 30-31)

3) 中根裕信ら. “DNA 修復異常症における DNA 損傷応答の違いによる脳神経病変への関与-ATLD, NBS, XPA の神経病変.” BMB2010 Workshop(招待講演)、神戸市(2010, 12. 8)

4) Hironobu Nakane “Differential DNA damage signaling accounts for distinct neural apoptotic responses in DNA repair deficient mice of ATLD, NBS, XPA, XPG - Insight from neuropathology of DNA repair-deficiency disorders -“

1st RIRBM International Symposium — Genome Damage and Non-Cancerous Diseases — (invited speaker), March 3 – 4 (Thu. – Fri.), 2011 Koujin Conference Hall on Kasumi Campus, Hiroshima University 講演予定

5) Hironobu Nakane et al. “Histopathological analysis of impaired spermatogenesis in xeroderma pigmentosum group A gene (*Xpa*)-deficient mice”

第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会, 横浜市 (2011. 3. 28-30) 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

7. コケイン症候群の酸化ストレスマーカー解析

研究要旨

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ーの ELISA 定量と、剖検脳での DNA 特異的な酸化ストレスマーカー（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。

分担研究者

田沼直之（都立府中療育センター・小児科医長）

A. 研究目的

Cockayne 症候群（CS）は DNA 修復機構のうち転写関連の塩基損傷修復機構の遺伝的欠損により生じる疾患で、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、腎障害などがみられる。CS 患者では多彩な神経症状がみられるが、発症機序についての解析は十分に行われていない。我々はこれまでに剖検脳での神経病理学的解析を通じて CS 患者の神経変性での酸化ストレスの関与を明らかにしてきた。本年度は新たな患者での尿中酸化ストレスマーカー解析を行うとともに、剖検脳において RNA に含まれない塩基 deoxythymidine から生じる DNA 特異的な酸化ストレスマーカー thymidine glycol (TG) の沈着を免疫組織学的に検討した。

B. 研究方法

(1) 昨年度解析した CS 5 例（8～29 歳）に加え、本年度新たに 2 例の CS 患者（10 歳男性、8 歳女性）で、採取した尿中の 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) (DNA 酸化障害マーカー)、ヘキサノイルリジン付加体 (HEL) (脂質酸化的障害マーカー)、抗酸化能 potential anti-oxidant (PAO) を ELISA キット（日本老化制御研究所製）を用いて測定した。8-OHdG、HEL は尿中クレアチニン値にて補正し、正常対照の測定値の平均値 + 2SD を cut off 値とした。

(2) CS 剖検脳 5 例（死亡時年齢 7～18 歳）と年齢相当対照の海馬を含む側頭葉皮質、大脳基底核、小脳、脳幹の連続切片において、日本老化制御研究所製 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）

本研究計画は府中療育センター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) CS 例では年長例 2 例で HEL の上昇を認め、うち 1 例は PAO の低下がみられた。新たな 2 症例（CS5, 6）の 8-OHdG、HEL 値は正常であったが、1 例（CS5）で PAO の低下を認めた（表 1）。

(2) 4 例の被殻・淡蒼球の石灰化周囲のグリア細胞に TG 陽性核が確認され、3 例の小脳顆粒細胞にも陽性核がみられた（表 2）。さらに海馬・脳幹に TG 陽性核を有するグリア細胞が認められた。なお 30 歳未満の対照では陽性核をほとんど確認できなかった。

D. 考察

生体組織中の 8-OHdG は、DNA 修復酵素により速やかに除去され尿中に排泄されるが、TG は生体内に長期間残留する。TG 沈着に関する剖検脳での染色により、8-OHdG の解析結果と類似し、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。さらに 8-OHdG とは異なり、CS においてもレンズ核石灰化周囲、脳幹＞海馬のグリア細胞、小脳顆粒細胞に陽性所見が見られた。今後、base excision repair (BER) での酸化ストレス処理に関与する oxoguanine DNA glycosylase 表出を検討し、TG 沈着が BER に及ぼす影響を検討する。また、新たなバイオマーカーとしてタンパク質の酸化修飾体であるカルボニル化タンパク質の測定を CS 患者血清で行う予定である。

一方、本研究班の昨年度の報告で CS における

腎障害について、死亡例では半数以上で認められたのに対し、生存例では少ないことがわかった。この点について、(1) 二次調査に登録された剖検例を含む死亡例の解析、(2) 日本コケイン症候群ネットワーク(家族会)を通じてのアンケート調査を行い CS における腎障害の実態を明らかにする予定である。

E. 結論

CS 患者の神経症状発症や早発老化には酸化ストレスの関与が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanuma N, et al. The axonal damage marker tau protein in the cerebrospinal fluid is increased in patients with acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. Brain Dev. 32(6): 435-9, 2010.
- 2) 三輪菜穂, 田沼直之, 林雅晴. 著明な高 IgE 血症を呈した重症心身障害児の剖検例. 脳と発達 42: 367-71, 2010.

2. 学会発表

- 1) 林雅晴, 宮田理英, 田沼直之. 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) 田沼直之ら. 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 52 回日本小児神経学会総会, 福岡 (2010, 5. 21).

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. コケイン症候群における尿中酸化ストレスマーカー、抗酸化能の解析

症例	年齢・性	運動機能	腎障害	8-Hydroxy- 2'-deoxyguanosine (ng/mg creatinine)	Hexanoyl-lysine adduct (pmol/mg creatinine)	Potential Anti-Oxidant ($\mu\text{mol/L}$ antioxidant power)
対照 (20 例, 8~66 歳)				(平均 \pm SD) 10.2 \pm 3.3 (平均+2SD) 16.8	76.1 \pm 43.9 163.9	10087.3 \pm 4900.1
CS1	29歳・女性	介助歩行	あり	11.8	627.8 \uparrow	2100.9 \downarrow
CS2	29歳・女性	介助歩行	あり	9.3	187.2 \uparrow	5286.1
CS3	21歳・男性	介助歩行	?	8.4	27.9	16827.0
CS4	11歳・女性	車椅子	?	16.8	109.4	7143.1
CS5	10歳・男性	車椅子	?	12.8	73.2	2293.8 \downarrow
CS6	8歳・女性		?	15.5	70.0	5857.2
CS7	8歳・女性	車椅子	?	18.4 \uparrow	172.1 \uparrow	5841.9
CS			平均	13.3	181.1	6478.6
			SD	3.8	205.0	4940.0

CS1 と CS2 は双胎例、CS4 と CS7 は姉妹例。

\uparrow は平均+2SD (cut off 値) 以上の上昇、 \downarrow は平均-SD 以下の低下を示す。

表 2. コケイン症候群剖検脳 5 例の thymidine glycol (TG) 免疫組織学的解析

Cases	Age/Sex	Hippocampus		Dentate gyrus		Putamen		Globus pallidus		Thalamus	
		Neuron	Glia	Neuron	Glia	Neuron	Glia	Neuron	Glia	Neuron	Glia
1	7yrs/Female	1+	1+	(n/A)	(Calcifi)	1+	1+	1+	(-)	(-)	
2	15yrs/Male	(-)	(-)	(-)	(Calcifi)	1+	(\pm)	(-)	(-)	(-)	
3	16yrs/Female	(-)	(-)	(-)	(Calcifi)	1+	(\pm)	2+	(\pm)	2+	
4	18yrs/Male	(-)	(-)	(-)	(Calcifi)	(-)	(Calcifi)	(-)	(-)	(-)	
5	18yrs/Male	(-)	1+	(-)	(Calcifi)	1+	(\pm)	1+	1+	1+	
		Cerebellar granule cells		Dentate nucleus		Raphe nucleus		Pontine nucleus		Dorsal funiculum	
		Neuron	Glia	Neuron	Glia	Neuron	Glia	Neuron	Glia	Neuron	Glia
1	7yrs/Female	2+	(-)	(\pm)	1+	2+	(-)	(-)	1+	1+	
2	15yrs/Male	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(n/A)	(n/A)	(\pm)	(\pm)	
3	16yrs/Female	(-)	(-)	(\pm)	(\pm)	1+	1+	2+	(\pm)	(\pm)	
4	18yrs/Male	2+	(-)	1+	(-)	(-)	(-)	(\pm)	1+	1+	
5	18yrs/Male	2+	(-)	(\pm)	(\pm)	1+	(\pm)	1+	(\pm)	1+	

Calcifi : 石灰化

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」

8. コケイン症候群における不随意運動の検討

研究要旨

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ム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。

分担研究者

氏名 熊田聡子
(東京都立神経病院神経小児科・医長)

A. 研究目的

コケイン症候群の神経症状としては、精神運動発達遅滞、知的退行、痙性四肢麻痺、小脳性失調、末梢神経障害、視力及び聴力障害が知られているが、不随意運動の報告は少ない。今回コケイン症候群に見られる不随意運動を解析し、この起源について検討した。

B. 研究方法

コケイン症候群 6 例(6-29 歳、全例女性)の不随意運動をビデオにて検討。内 4 例ではビデオ・表面筋電図同時記録を行い解析を加えた。成人 2 例では画像及び電気生理学的病巣診断を行い、また、脊髄小脳変性症の治療薬である TRH 製剤の効果を検討した。

(倫理面への配慮)

ビデオの撮影ならびに研究会などにおける公開について保護者の同意を得た。TRH 製剤投与についても保護者の同意を得た。

C. 研究結果

6 例いずれにおいても、前腕及び手指に振戦様の不随意運動が見られ、これに手指を捻転または過伸展させるアテトーゼ様の運動が混在した(図 1)。これらの不随意運動は随意運動時や精神的緊張時に増強した。表面筋電図では、不規則な持続の短い筋放電がしばしば拮抗筋間に同期して認められ、ミオクロームスと考えられた(図 2)。また拮抗筋間で同期性の持続の長い筋収縮も認められ、一部の筋群では他動的筋伸展時に拮抗筋の筋収縮が認められた(Westphal 徴候)。これらはジストニアの混在を示す所見と考えられた。中枢及び末梢神経系病変について詳細に検討した成人 2 例では、コケイン症候群に特徴的とされる大脳白質変性・小脳萎縮・基底核石灰化・末梢神経障害に加え、脳幹・脊髄萎縮も認められた。大脳皮質の易興奮性を示唆する巨大感覚誘発電位は認められなかった。この 2 例に TRH 製剤を投与したところ、振戦様不随意運動の減少を認めた。

図 1. コケイン症候群 29 歳女性例に見られた上肢の不随意運動。手関節及び手指を伸展・屈曲させる比較的律動的な素早い運動。しばしば指を擦り合わせるような捻転性の肢位を示し、また手

指を過伸展する。背側骨間筋に筋萎縮を認める。

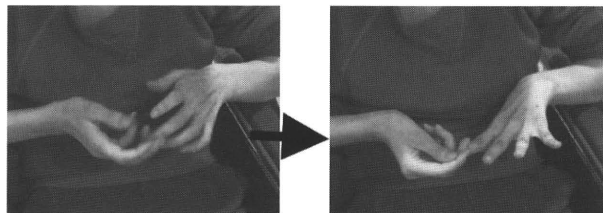
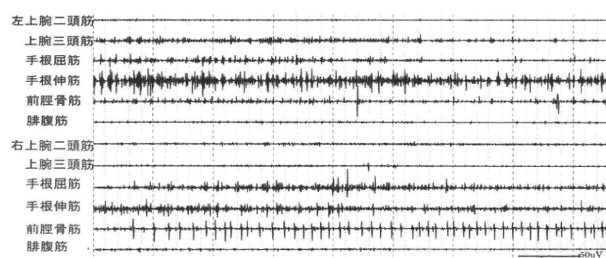


図2. 図1と同時記録した表面筋電図。左優位の手根筋群に持続の短い筋放電を認め、しばしば拮抗筋間で同期。同様の筋放電は右優位の下腿筋群にも認められる。振戦に特徴的な拮抗筋間の相反性収縮は明らかでない。



D. 考察

コケイン症候群における不随意運動の報告は少ない。Nance ら(1992)による 140 例の review では、ミオクローヌス 3 例と“不随意運動症”(詳細不明)4 例が記載されているのみである。一方 Rapin ら(2006)は、成人に達したコケイン症候群 21 例の review を行い、9 例に不随意運動が記載されていると報告した(安静時振戦 6 例、コレオアテトーシス 3 例)。今回の我々の検討では、小児期(6-12 歳)の 4 症例にも成人(29 歳)2 症例と類似した上肢の不随意運動が認められた。コケイン症候群における不随意運動は、従来の報告より高頻度に、より低い年齢においても生じている可能性があり、今後の検討が必要と考えた。

コケイン症候群における不随意運動の病態には、小脳・基底核・末梢神経のいずれか、またはこれらが複合して、関与していると考えられる。近年、L-dopa 投与によりジストニアと振戦が軽減した 3 症例が報告され、基底核ドパミン投射路の関与が推定されている(Neilan ら, 2008)。一方、頸部と上肢の激しい不随意運動に対して視床小

脳核の脳深部刺激療法が有効であった症例が報告されており(Hebb ら, 2006)、ここからは小脳の関与が推測される。今回の我々の検討でも、小脳における neuromodulator と考えられている TRH 製剤が振戦を軽減させた。

最近、ヒトの脊髄小脳変性症や、ジストニアの動物モデルにおける研究から、従来基底核に起因すると考えられていた不随意運動の発現に小脳も関与している可能性が示唆され、注目されている(Standaert, 2011)。独立した回路と考えられていた小脳-皮質ループと基底核-皮質ループの間に直接の線維連絡が存在することも明らかにされた(Bostan ら, 2010)。

コケイン症候群の神経障害は多巣性であるので、臨床的検討から不随意運動の起源を確定することは困難であるが、以上に述べたような知見からは、病理学的異常の最も顕著な小脳が不随意運動の発現に大きく関与している可能性も推測される。今後不随意運動に対する治療法を検討する上で、興味ある知見と考えられた。

E. 結論

コケイン症候群における不随意運動は、従来の報告よりも低年齢から高頻度に出現している可能性がある。不随意運動の起源としては、基底核の他に小脳の関与が推測された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

1) コケイン症候群Ⅲ型双胎例に見られた不随意運動の解析。

東京都立神経病院神経小児科¹、国立成育医療センター神経内科²、東京都神経科学総合研究所神経発達・再生研究分野³

熊田聡子¹、久保田雅也²、古山晶子²、

奥村さやか²、柏井洋文²、星野英紀²、林雅晴³
第 52 回日本小児神経学会総会(2010/5/20-22)、
福岡.

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」

9. 軽症型コケイン症候群の分子遺伝学的な検討

研究要旨

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。

研究分担者

立石 智（熊本大学・講師）

：

A. 研究目的

これまで、コケイン症候群の細胞診断は、放射性同位元素を用いる専門的な手技であり、難易度が高かった。今回、蛍光試薬を用いる簡易診断方法により、コケイン症候群の細胞診断をおこなう。また、共同研究者との共同研究により、コケイン A、B 遺伝子の変異部位を同定する。

B. 研究方法

細胞診断は、1. 紫外線に対する感受性試験 2. 不定期 DNA 合成試験 (UDS) 3. RNA 合成回復試験 (RRS) の 3 つの基準により、判定する。すなわち、紫外線に対する感受性を示し、UDS が陽性、RRS が陰性である場合に、コケイン症候群であると判定する。患者様由来の繊維芽細胞からゲノム DNA を抽出し、PCR によりコケイン遺伝子の各エクソン部分を増幅した後に、配列を読むことにより、変異部位を同定する。

（倫理面への配慮）

当該病院または熊本大学大学院生命科学研究部での疫学研究倫理審査委員会およびヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会で審理を経て承認されている。

C. 研究結果

蛍光試薬を用いる方法で、簡易に信頼性のある結果を得られることがわかった。患者様由来の細胞である Kps10 は、既存のコケイン症候群であると判定されている Kpsx6 と同じく、健常人由来の Mori 細胞に比べて紫外線感受性を示した (図 1)。UDS レベルは、どの細胞でも正常レベルであった (図 2)。これに対して、RRS レベルでは健常人由来の Mori 細胞に比べて Kpsx6 および Kps10 では顕著な低下がみられた (図 3)。この画像をイメージングソフトウェアで定量し、統計を考慮して解析をおこなった。以上の結果から Kps10 は、コケイン症候群であると診断した。

これと同様に、名古屋市立大学から分与された繊維芽細胞は、細胞診断の結果、コケイン遺伝子であると判定した (NCU-F10 と命名した)。NCU-F10 と Kps10 は、CSA のエクソン 4 に異常がある可能性があることがわかった。

D. 考察

放射性同位元素を用いる細胞診断方法では、UDS 試験、RRS 試験の両方で、オートラジオグラフィ後のグレイン数を測定することにより、定量をおこなっていた。今回行った蛍光試薬を用いる簡易診断方法では、グレインを観察することはできなかったが、蛍光顕微鏡で撮影したデジタル画像をイメージングソフトウェアで定量することができた。このため、この方法も客観的で信頼性のあるデータが得られることがわかった。今後

は、今回コケイン症候群であると同定された NCU-F10 細胞を用いて、ips 細胞を樹立することをめざす。

E. 結論

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の細胞診断を行った。簡便で定量的な手段により、診断を行うことができた。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Song, I. Y., Palle, K., Gurkar, A., Tateishi, S., Kupfer, G. M., Vaziri, C. Rad18-mediated translesion synthesis of bulky DNA adducts is coupled to activation of the Fanconi anemia DNA repair pathway. **J. Biol. Chem.** 285, (41) 31525-31536. (2010)
2. Day, T. A., Palle, K., Barkley, L. R., Kakusho, N., Zou, Y., Tateishi, S., Verreault, A., Masai, H., Vaziri, C. Phosphorylated Rad 18 directs DNA Polymerase h to sites of stalled replication. **J. Cell Biol.** 191, (5) 953-966. (2010)

2. 学会発表

- 1) 立石 智、江藤 瑞菜: Rad18 ノックアウトマウスの自然発癌の形成 日本放射線影響学会 第 53 回大会、2010 年 10 月 20-22 日、京都、
- 2) 柳原 啓見、森 俊雄、立石 智、小林 純也、小松 賢志: NBS1 の DNA 損傷トレランス機構の役割 日本放射線影響学会 第 53 回大会、2010 年 10 月 20-22 日、京都
- 3) 柳原 啓見、立石 智、森 俊雄、小林 純也、小松 賢志: Potential role of NBS1 in translesion synthesis. 日本分子生物学会 第 33 回大会、2010 年 12 月 7-10 日、神戸

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。

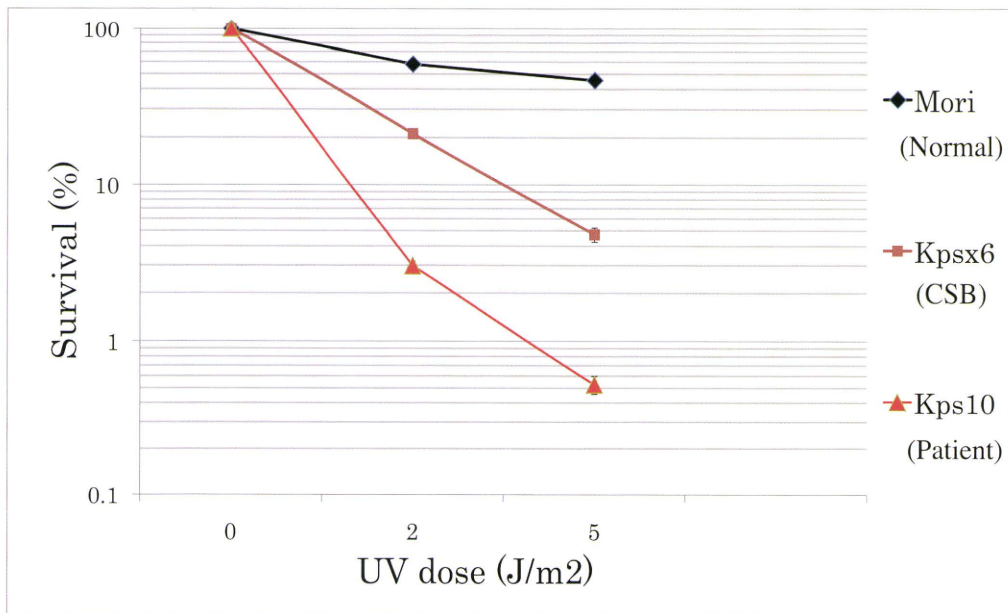
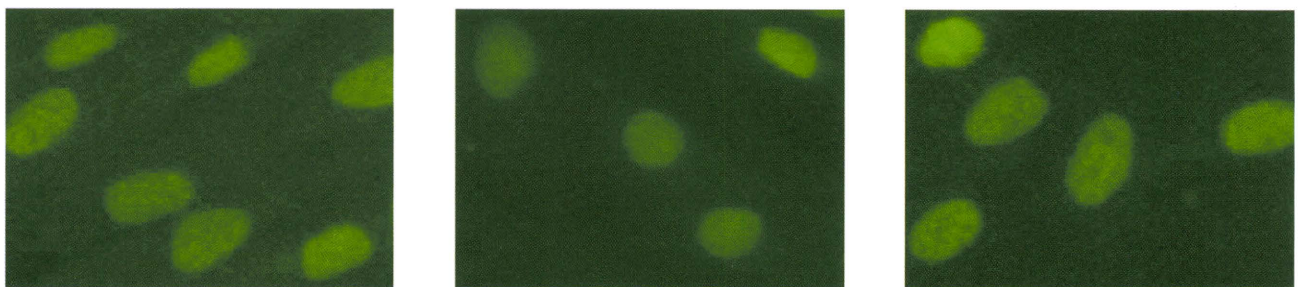


図1. 紫外線に対する感受性試験。健常ボランティア由来の繊維芽細胞である Mori に比べて、既にコケイン症候群であることが確定している繊維芽細胞である Kpsx6 は、紫外線照射に対して感受性を示す。今回、細胞診断を行っている Kps10 も紫外線感受性を示した。

Unscheduled DNA synthesis (UDS)



Mori (Normal)

Kpsx6 (CSB)

Kps10 (Patient)

図2. 不定期 DNA 合成試験

繊維芽細胞に 15 J/m² の紫外線を照射して直後の DNA 修復にともなう DNA 合成を蛍光で可視化した。健常ボランティア由来の繊維芽細胞である Mori に比べて、既存のコケイン症候群患者様由来の Kpsx6 および患者様由来の Kps10 で、ほぼ同程度の不定期 DNA 合成がみられた。

Recovery of RNA synthesis (RRS)

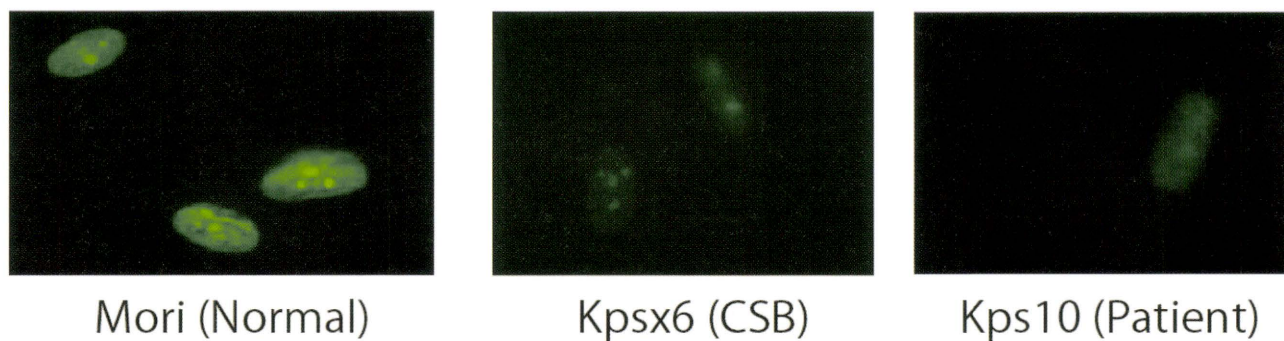


図 3. RNA 合成回復試験

繊維芽細胞に 15 J/m^2 の紫外線を照射して 20 時間後の RNA 合成を蛍光で可視化した。健常ボランティア由来の繊維芽細胞である Mori に比べて、既存のコケイン症候群患者様由来の Kpsx6 では RNA 合成が顕著に低下していることがわかる。これに対して、Kps10 でも RNA 合成が顕著に低下していた。

[III] 研究成果の刊行に関する一覧表
【H22. 4. 1～H23. 3. 31】

1. 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
古山晶子、 久保田雅也	Cockayne 症候群の 運動発達	五十嵐隆、 久保田雅也	「ここまでわ かった小児の 発達」	中山書店	東京	2010	pp170-17 3
久保田雅也	ヒト随意運動の発達	五十嵐隆、 久保田雅也	「ここまでわ かった小児の 発達」	中山書店	東京	2010	Pp2-6
久保田雅也	MEG を用いた小児 の発達の解析	五十嵐隆、 久保田雅也	「ここまでわ かった小児の 発達」	中山書店	東京	2010	Pp114-11 9
Hayashi M, Miyata R, Tanuma N.	Oxidative stress in developmental brain disorders.	Ahmad S	Neurodegenerati ve diseases	Landes Bi oscience	Austin	2011	(in press)
Hayashi M, Miyata R, Tanuma N, Fukumizu M.	Hypothalamic lesions in developmental brain disorders.	Dudas B	The Human hypothalamus: anatomy, functions and disorders.	Nova Science Publishers	New York	2011	(in press)
森脇真一	色素性乾皮症	和 田 攻 他	看護大辞典	医学書院	日本	2010	
森脇真一	色素性乾皮症	太陽紫外線 防御研究会	からだと光の 事典	朝倉書店	日本	2010	171-175
森脇真一	色素性乾皮症	瀧 川 雅 浩 他	皮膚疾患最新 の治療	南江堂	日本	2011	116
森脇真一	色素性乾皮症	宮 地 良 樹 他	今日の皮膚疾 患治療指針	医学書院	日本	印刷中	
森脇真一	色素性乾皮症を疑っ たらどんな検査をす るか	宮地良樹	What's new in 皮膚科学	メディカ ルビュー 社	日本	2010	196-197
森脇真一	高齢者の皮膚疾患を みたら？	宮地良樹	高齢者の皮膚 トラブル FAQ	診断と治 療社	日本	2010	94-97

Moriwaki S, Kraemr KH	Disorders of DNA repair.	Bickers DR Miyachi Y	Therapy of skin diseases.	Springer		2010	Pp589-95
-----------------------	--------------------------	----------------------	---------------------------	----------	--	------	----------

2. 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
Kubota M, Chida J, Hoshino H, Kashii H, Ozawa H, Koide A, Hoshino A, Koyama A, Mizuno Y, Yamaguchi M, Yao D, Yao M, Kido H	Thermolabile CPT II variants and low blood ATP levels are closely related to severity of acute encephalopathy in Japanese children.	Brain Dev	doi:10.1016/j.braindev.2010.12.012	Epub ahead of print	2011
Saitsu H, Kato M, Okada I, Orii KE, Higuchi T, Hoshino H, Kubota M et al.	STXBP1 mutations in early infantile epileptic encephalopathy with suppression-burst pattern.	Epilepsia	doi:10.1111/j.1528-1167.2010.02728.x.	Epub ahead of print	2010
Kikuchi E, Kubota M, Kamei K, Ito S.	Critical illness polyneuropathy after septic peritonitis in a boy with nephrotic syndrome.	Pediatr Nephrol.	25	1771-2.	2010
Okazaki K, Kondo M, Kubota M, Kakinuma, R, Hoshino A, Kimura H, Itoh S	High-dose lorazepam for convulsive status epilepticus in an infant with holoprosencephaly	Ped Int	52	664-7	2010
Saitsu H, Hoshino H, Kato M, Nishiyama K, Okada I, Yoneda Y, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Kubota M, et al.	Paternal mosaicism of an STXBP1 mutation in OS.	Clin Genet.	doi: 10.1111/j.1399-0004.2010.01575.x.	Epub ahead of print	2010
久保田雅也	いわゆる熱せん妄の病態	小児科	51	935-42	2010

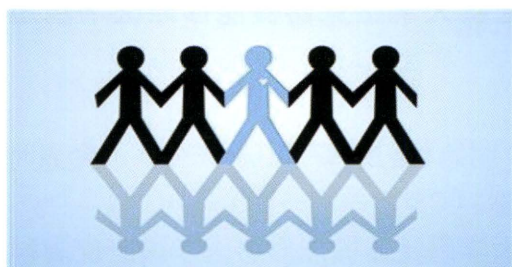
Torii M, Shimoyama I, Sugita K.,	Phonemic and semantic working memory in information processing in children with high function pervasive developmental disorders.	IMJ	Vol 17, No 1	35-39	2010
Sugita K, Suzuki N, Oi K, Allen-Tamai M, Sugita Ki, Shimoyama I.	Cross-Sectional Analysis for Matching Words to Concepts in Japanese and English Languages.	IMJ	Vol 17, No 1	41-45	2010
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 <i>Torreya nucifera</i> in HeLa cells.	Mol. Med. Rep.	Vol 3	673-678	2010
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.	Vol 25	879-885	2011
Oba D, Hayashi M, Minamitani M, Hamano S, Uchisaka N, Kikuchi A, Kishimoto H, Takagi M, Morio T, Mizutani S.	Autopsic study of cerebellar degeneration in siblings with ataxia-telangiectasia-like disorder (ATLD).	Acta Neuropathol	119(4)	513-20.	2010
Hayashi M, Hachiya Y, Arai N.	An autopsy report of case showing repetitive hypoglycemia and unique cortical dysplasia.	Brain Dev	32(4)	289-92.	2010
Miyata R, Sasaki T, Hayashi M, Araki S, Shimohira M, Kohyama J.	Low dose of levodopa is effective for laryngeal dystonia in xeroderma pigmentosum group A.	Brain Dev	32(8)	685-7.	2010

Hayashi M, Miyata R, Tanuma N	Decrease in acetylcholinergic neurons in the pedunculopontine tegmental nucleus in a patient with Prader-Willi syndrome.	Neuropathology		Epub ahead of print	2010
森脇真一	皮膚科領域の遺伝医療	皮膚科の臨床	52	351-358	2010
森脇真一	色素性乾皮症	日本皮膚科学会雑誌	120	1861-1867	2010
森脇真一	色素性乾皮症	小児科臨床ピクシス (中山書店)		64-65	2010
森脇真一	色素性乾皮症	小児科	51	670-671	2010
森脇真一	色素性乾皮症	日本小児皮膚科学会雑誌	29	1-5	2010
森脇真一	遺伝性光線過敏症の分子診断と患者ケア	日本皮膚科学会雑誌	120	2582-2583	2010
Hirata Y, Koga S, Fukui N, Yu A, Koshida S, Kosaka Y, Moriwaki S	5-Aminolevulinic acid (ALA) - mediated photodynamic therapy to superficial malignant skin tumors using Super Lizer™	J Dermatology,			in press
Takahashi Y, Endo Y, Sugiyama Y, Inoue S, Iijima M, Tomita Y, Kuru S, Takigawa M, Moriwaki S	Novel XPA Gene Mutations Resulting in Subtle Truncation of Protein in Xeroderma Pigmentosum Group A Patients with Mild Skin Symptoms.	J Invest Dermatol	130	2481-2488	2010

Bradford PT, Goldstein AM, Tamura D, Khan SG, Ueda T, Boyle J, Oh K-S, Imoto K, Inui H, Moriwaki S, Emmert S, Pike KM, Raziuddin A, Plona T, DiGiovanna JJ, Tucker MA, Kraemer KH	CANCER AND NEUROLOGIC DEGENERATION IN XERODERMA PIGMENTOSUM: LONG TERM FOLLOW-UP CHARACTERIZES THE ROLE OF DNA REPAIR	J Med Genet,				in press
Song, I.Y., Palle, K., Gurkar, A., Tateishi, S., Kupfer, G. M., Vaziri, C.	Rad18-mediated translesion synthesis of bulky DNA adducts is coupled to activation of the Fanconi anemia DNA repair pathway.	J. Biol. Chem.	285	31525-31536	2010	
Day, T. A., Palle, K., Barkley, L. R., Kakusho, N., Zou, Y., Tateishi, S., Verreault, A., Masai, H., Vaziri, C.	Phosphorylated Rad 18 directs DNA Polymerase η to sites of stalled replication.	J. Cell Biol.	191	953-966.	2010	
Tanuma N, Miyata R, Kumada S, Kubota M, Takanashi J, Okumura A, Hamano S, Hayashi M.	The axonal damage marker tau protein in the cerebrospinal fluid is increased in patients with acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion.	Brain Dev	32	435-9.	2010	

[IV] 参考資料

「コケイン症候群（CS）の集い 2010」資料



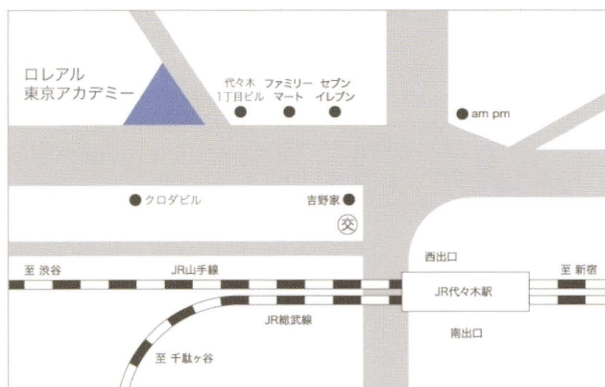
「コケイン症候群（CS）の集い 2010」開催のご案内

コケイン症候群（以下CS）は100万人に1人に発症する珍しい遺伝病です。現在、日本ではCS患者さんは30数人いるといわれていますが、人数が少ないために医師やその他の医療従事者の間でもCSという病気の存在が認知されていないのが現状です。病気の特徴は早くに年をとる。紫外線に弱く皮膚に炎症がおきやすい、耳が聞こえなくなる、目が見えなくなる、歩くのが困難になって車椅子での生活を余儀なくされる、などの特徴を有し、ほとんどの子供たちは20歳までに亡くなっていきます。残念ながら現在の医療ではCSの治療法はありません。

今から15年前に日本で、CSという同じ痛みを共通の思いとして子供達、家族同士で分かち合い、その活動を支援する会としてCS家族会（「分かち合いと助け合い日本コケイン症候群ネットワーク」）ができました。この家族会はこれまでに色々な活動をしてきましたが、もっと多くの方にこの病気の存在を知って頂きたいと思い、このたび日本ロレアル株式会社からの多大なるご支援とご協力により「CSの集い 2010」を開催させて頂く事となりました。また、今回、会社の方のご厚意によりCSの子供達、お母様に日焼け止めクリームをたくさんプレゼントして頂きました。クリームと一緒に届いた暖かい気持ちのプレゼントを受け取り、毎日、子供達とお母様、ご家族は一生懸命に生きておられます。どうぞそんな子供達とご家族にぜひ会いに来てください。

日時 平成22年10月31日（日曜日） 10時開始（予定）
内容 コケイン症候群患者会の紹介および会の歩み、患者会父兄より
ロレアル 100LOVE HANDS PROJECTによるハンドマッサージ

場所



ロレアル 東京アカデミー
〒151-8572 東京都渋谷区代々木1-20-2 ロレアルビル

事前のお申し込みは必要ありませんので、直接会場にお越しください。

詳細につきましては 03-6911-8572 増井・望月までお問い合わせいただきますようお願いいたします。