

「神経伝達物質GABAの異常による発達脳の障害」

演者：夏目 淳（名古屋大学医学部小児科）

第3部 一瀬班：14：20～15：20 座長 一瀬 宏（東京工業大学大学院生命理工学研究科 教授）

①ジストニアの分類と治療の現状について

演者：長谷川 一子（国立病院機構相模原病院）

豊島 至（秋田大学医学部医学教育センター）

②モデルマウスから神経活動を記録することによりジストニアの発症機構を解析する

演者：南部 篤（自然科学研究機構生理学研究所）

③ビオプテリン代謝異常モデルマウスを用いたジストニア発症機構の研究

演者：一瀬 宏（東京工業大学大学院生命理工学研究科）

休憩：15：20～15：20

第4部 患者家族会の要望 15：30～16：00 座長 山田 章子（小児神経伝達物質病家族会代表）

① AADC欠損症：山田章子（東京）

② SSADH欠損症：久保田正代（千葉）

③ メンケス病：田中智次（大阪）

第5部 総合討論 16：00～16：20 司会 新宅治夫（大阪市立大学医学部小児科学教授）

閉会の辞 一瀬 宏（東京工業大学大学院生命理工学研究科 教授）

平成22年度「厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業」

テーマ 3班合同公開シンポジウム

# 「難病・希少疾患を 理解し克服する」

平成23年  
2月 27日(日)  
午前11時～午後4時



【会場】 帝京大学講堂

本部棟4階・第1会議室

住所: 東京都板橋区加賀2丁目11-1

電話: 03-3964-1211 (代表)

内線1494 (小児科遺伝代謝研究室)

当日の連絡先: 児玉浩子携帯090-9956-0772

【定員】 100名

事前申し込みが必要です

下記宛てにFAXでお申し込み下さい

FAX: 03-3579-8212

帝京大学小児科: 厚生労働省難治性疾患  
合同シンポジウム宛て

【参加費】 無料



地図 (<http://www.teikyo-u.ac.jp/hospital/guidance/map/index.html>)

【主催】

・Menkes病・occipital horn症候群の疫学調査、早期診断基準確立、治療法開発 (研究代表 帝京大学 教授 児玉浩子)

・小児神経伝達物質病の診断基準の作成と新しい治療法の開発に関する研究 (研究代表 大阪市立大学 教授 新宅治夫)

・Aicardi-Goutières症候群等のピオテリン代謝異常を伴う疾患の診断方法確立および治療法開発のための横断的研究 (研究代表 東京工業大学 教授 一瀬 宏)

## [Ⅱ] 分担研究報告

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

## Aicardi-Goutières syndrome の疫学—二次調査

研究分担者 長谷川一子 独立行政法人国立病院機構相模原病院神経内科  
研究分担者 豊島 至 国立大学法人秋田大学 医学部  
研究代表者 一瀬 宏 国立大学法人東京工業大学生命理工学部

### 研究要旨

Aicardi-Goutières syndrome（以下 AGS）の疫学調査を平成 21 年度に引き続いて行った。前回は概数を明らかにすることを目標とし、今回は AGS の臨床像の調査と遺伝子診断の有無、今後の遺伝子診断の希望など、および小児の脳内石灰化を来している症例群と TORCH 症候群とされている群に AGS が混入していないかの検討を中心に調査した。アンケート配布枚数は 371 通で回収は 60 通であった。その結果 AGS は 4 症例、小児期での脳内石灰化例は 14 例、TORCH 症候群は 22 症例であった。小児期での脳内石灰化例の内 2 症例、TORCH 症候群では 8 症例が AGS の可能性が高いと思われた。今回の調査対象は小児神経専門医と神経内科専門施設を対象としたため、小児膠原病での AGS 症例については抽出することができなかつたため、今後対象を変えた調査が必要と思われた。

### A. 研究目的

昨年度に行った Aicardi-Goutière syndrome: AGS 等のビオプテリン代謝異常を伴う疾患群の疫学一次調査では、1852 通の送付に対して 760 通の回答（40.2%）を得た。その結果海外での経験例を含めて AGS 例は 9 人の回答者から返答が得られた。小児での不明な脳内石灰化病変の経験は 59 名、TORCH 症候群の経験は 208 名、ビオプテ

リン代謝異常症（ほとんどが瀬川病と思われる）は 9 名の回答があった。その際、AGS を経験医からは遺伝子診断の希望があり、班長と協議し、遺伝子診断、および遺伝子試料収集システムの構築を行った。遺伝子診断システムの構築を行った後、AGS その他のビオプテリン代謝異常疾患群の臨床像および、遺伝子診断の希望について二次調査を行った。

## B. 研究方法

一次調査で疾患の経験ありと回答があった医師に対してビオプテリン代謝異常を伴う疾患の遺伝子診断および遺伝子試料の収集についての案内、臨床像に対する二次調査を郵送法で行った。

配布枚数は371通であった。調査内容はAGSの経験数、小児で脳内石灰化の経験数、TORCH症候群の経験の有無である。内容の詳細については添付した別紙を参照とされたい。

### (倫理面への配慮)

研究内容について相模原病院の倫理審査会を受審し、研究の承認を得た。遺伝子診断については日本神経学会遺伝子診断ガイドラインおよび、遺伝子診断に関連した10学会のガイドラインに沿って行うこととした。その他、研究に当たっては個人情報保護法、臨床研究に関する指針を遵守した。

## C. 研究結果

回収数は60通（回収率は16%）で、本報告書を記載している時点でも回答が散発的にある状況である。回収の結果AGS症例は4症例、小児期での脳内石灰化症例は14症例、TORCH症候群は22症例であった。

### 1) AGS症例について

回答の得られた4症例については全例女性で発症年齢は出生時であった。全例で遺伝子診断はなく、胎生期感染徴候はなかった。臨床像としては進行性の小頭症が4/4、痙

縮が3/4、ジストニア姿勢3/4、高度の精神発達遅滞が4/4、痙攣が1/4であった。検査所見ではMRIでは全例で脳萎縮、白質ジストロフィー2/4、頭蓋内石灰化3/4、その他として脳梁欠損が1例でみられた。髄液では持続性のリンパ球増多が3/4で、インターフェロン $\alpha$ の増加が2/4でみられた。その他の合併症として血小板減少が2症例、肝酵素上昇が2例、日心は2例でみられた。

### 2) 小児期脳内石灰化症例について

小児期脳内石灰化は12症例（男性6名、女性6名）であったが、全例生存しており、多くは出生後1ヶ月以内に発症している。臨床像としては進行性の小頭症が4例、痙縮が3例、ジストニア姿勢が3例、高度の精神発達遅滞が7例、痙攣が9例であった。検査所見ではMRIで脳萎縮が4例、白質ジストロフィーが2例、脳内石灰化の部位は基底核の石灰化が5例であり、他の7例では記載があるものでは一定の傾向はなかった。また、髄液での炎症所見が3例でみられ、皮疹は1例でみられた。すなわち、臨床像からAGSが疑われる症例は3例といえた。

### 1) TORCH症候群について

TORCH症候群との回答は22例であったが男性13例、女性8例と男性に多い傾向があった（1例は性の記載なし）。16名が生存中で、発症年齢は出生時遅くても1歳以内に発症していた。胎生期感染徴候は11名であり、8名では感染徴候がなかった。原疾患としてはサイトメガロ感染、トキソ

プラズマ, 風疹, ヘルペスの順であったが, 後2者がの頻度は少なかった. 臨床像では進行性の小頭症が3例, 痙縮が7例, ジストニア姿勢が1例, 高度の精神発達遅滞が10例, 痙攣が9例でみられた. 画像診断では脳萎縮が6例, 白質ジストロフィーが4例, 脳内石灰化が12例であった. その他の合併症としては血小板減少症, 肝障害, 間歇的発熱が各1例だった. この群ではAGS疑い例は胎児期感染徴候のみられなかった8症例と思われた.

#### D. 考察

アンケート調査からはAGSと思われる症例は4例で, 全例とも遺伝子診断は未験であった. 原因不明の小児期脳内石灰化症例, 原因の同定されないTORCH症候群にAGSが含まれている可能性が示唆された. なお, 今回のアンケート調査は神経系の医師(小児神経専門医, 神経学会教育認定施設, 準教育施設, 教育関連施設)を対象としていたため, 凍瘡を主体とする群, SLE様葉皮疹を主体とする群に対する調査が欠落している可能性もある. 今後は関連学会との連携の上で調査を行うことにより, 疫学調査の精度が高まることが期待される. 今回, AGSを含むビオプテリン関連代謝異常症の遺伝子診断システムの構築を行った. この遺伝子診断システムをもとに, 承諾が得られ, 各種ガイドラインに則ったカウンセリングなどの後に遺伝子診断を希望される症例について, また, 原因不明の乳幼児

期に発症する脳症, 原因不明の小児期に発症する脳内石灰化症例群, 感染の明らかでないTORCH症候群についても, 遺伝子診断を行っていく予定である.

#### E. 結論

AGS症例は4例抽出することができた. 小児期発症の脳内石灰化症例, TORCH症候群の一部にAGSが混入している可能性が示唆された.

#### F. 健康危険情報

なし.

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 平田 幸一, 長谷川 一子, 渡邊 雅彦, Claudia Trenkwalder, レストレスレッグス症候群の鑑別診断と治療, 日本医学会雑誌, 138, RLS13-16 (2010)
2. 長谷川 一子, パーキンソン病治療の動向, 最新医学, 65, 861 - 780 (2010)
3. 長谷川 一子, Huntington 病統一スケール (UHDRS), 神経内科, 73, 597-605 (2010)
4. 長谷川 一子, ジストニアとは, Clinical Neuroscience 別冊, 28, 742-745 (2010)
5. 水野 未邦, 山本 光利, 久野 貞子, 長谷川 一子, 服部 信孝, パーキンソン病治療における徐放性製剤の意義, 新薬と臨牀, 59, 1820-1833 (2010)

6. 長谷川 一子、パーキンソン病の臨床  
診断および鑑別診断  
—臨床症状から、総合臨牀、59、2404-2411

(2010)

2. 学会発表  
なし

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし

**H. 知的所有権の取得状況**

(予定を含む)

1. 特許取得  
なし

厚生労働科学研究費補助金（難病疾患克服研究事業）

分担研究報告

## アンケート調査から明らかになった瀬川病症例の検討

研究分担者 豊島 至 秋田大学医学部医学教育部 教授

### 研究要旨

371 通の調査依頼に対し、16 名から 25 症例の報告があった。このうち 23 例が瀬川病であるとされ 11 症例で GCH1 の変異が見出された。症状は診断基準によく一致し、症例間の症状の変動は軽微であった。

#### A. 研究目的

ピオプテリン代謝酵素異常症の一つとして瀬川病が知られているが、その有病率について検討した。また、診断基準を設定して症例探索を行ったが、この基準が妥当であったかを検討した。

#### B. 研究方法

一次調査で症例ありとするものに二次調査用紙を送付し、記入後返送してもらった。

#### C. 研究結果

371 通の調査依頼に対し、16 名から 25 症例の報告があった。このうち 23 例が瀬川病であるとされ 11 症例で GCH1 の変異が見出された。

全体で男：女（8：17）年齢（22y±15）

発症年齢（8y±8）観察期間（10y±10）GCH1 変異陽性例で男：女（2：9）年齢（23y±18）発症年齢（11y±11）観察期間（9y±9）と男女比以外ではよく一致した。

症状では 1) 下肢ジストニアにより歩行障害をきたす（瀬川病 23 例中 20 例、GCH1 変異陽性例 11 例中 8 例）、2) 尖足がある（11：5）、3) 内反尖足がある（10：5）、4) 日内変動がある（20：10）、6) 昼から夕方にかけて症状が悪化する（21：10）、7) 睡眠によって改善する（15：6）、8) 固縮がある（12：7）、9) 姿勢時振戦がある（6：2）、10) レボドパにより著明に改善する（21：10）であった。ほぼ均一であったが、全例で合致したわけでもなかった。基準は妥当と思われた。

変異は 6 種類であったが家系ごとで異な



っていた。ミスセンス変異が3家系、ノンセンス変異が2家系、イントロン変異が1家系であった。

自験例を表に示す。

#### D. 考察

我が国での瀬川病の有病数は25名程度であることが明らかになったが、多数例を診療している施設からの回答がなかったの  
で、最大100名程度であると推定される。

#### E. 結論

今回用いた瀬川病の診断基準はおおむね妥当であると思われた。その中でGCH1変異の見出される症例は約半数に過ぎないことも明らかになった。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### H. 知的所有権の取得状況

(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

自験例

	症例 1	症例 2	症例 3
性	女	女 (症例 1 の母)	女 (症例 1 の家系?)
年齢	32 歳	61 歳	35 歳
発症年齢	4 歳	30 歳	8 歳
下肢ジストニアにより歩行障害をきたす	+→-	+→-	+→-
尖足がある			
内反尖足がある	+→-		+→-
日内変動がある	+→-	+→-	+→-
昼から夕方にかけて症状が悪化する	+→-	+→-	+→-
睡眠によって改善する	+→-	-	-
固縮がある	+	+	+→-
姿勢時振戦がある	-	-	-
レボドパにより著明に改善する	+	+	+
その他		書痙 (レボドパ無効)	

Aicardi-Goutières syndrome(エカルディーグティエール症候群；AGS)等のビオプテリン代謝異常を伴う疾患に関する二次調査のお願い

拝啓

霜月の候、皆様にかかれましては益々ご健勝で診療に、研究に励まれていることとお喜び申し上げます。

さて、昨年は Aicardi-Goutières syndrome:AGS 等のビオプテリン代謝異常を伴う難病についてご回答をいただきありがとうございました。1852 通の送付に対して 760 通の回答をいただき、回収率もおかげさまで 40%を超えました。AGS 等の疾患は大変希少な難病と存じますが、ご回答の結果 AGS 例は 9 人の先生でご経験ありと判明いたしました。その他、小児での不明な頭蓋内石灰化病変の経験のある先生は 59 名、TORCH 症候群の経験は 208 名の先生、ビオプテリン代謝異常症（ほとんどが瀬川病と思われる）のご経験は 9 名の先生でございました。AGS を経験された先生からは遺伝子診断についてのお問い合わせもいただき、班といたしましては遺伝子診断、および遺伝子試料収集システムの構築について検討してまいりました。

そこで今回、ご回答を寄せられた先生にビオプテリン代謝異常を伴う疾患の遺伝子診断および遺伝子試料の収集についてのご案内、および、ご回答をいただいた症例についての二次調査をお願いいたしたく存じます。以下のようにお願いできれば幸甚でございます。

1. AGS 症例：別紙にご記入をいただいた後、AGS は症例も少ないため、二次調査は煩雑さを避けるため、可能であれば病歴サマリーをお願いできれば幸いです。
2. 頭蓋内石灰化症例、TORCH 症候群：AGS の不全型が含まれていることが想定されるため、別紙にご記入をいただき、可能であれば病歴サマリー、石灰化の図示をお願いします。
3. ビオプテリン代謝異常症が疑われる症例：別紙にご記入をお願いいたします。

敬具

お忙しい中大変恐縮ですが、12月末までにアンケート調査用紙をご返送いただければ幸いです。ご協力のほど、どうぞよろしくお願い申し上げます。

平成 22 年度「アイカルディーグティエール症候群等のビオプテリン代謝異常を伴う疾患の診断方法確立および治療法開発のための横断的研究班」

<研究代表者>

〒226-8501 神奈川県横浜市緑区長津田4259-B7  
東京工業大学大学院生命理工学研究科 一瀬 宏  
Tel: 045-924-5822 Fax: 045-924-5807

<疫学調査担当>

〒228-8522 神奈川県相模原市桜台18-1  
国立病院機構相模原病院神経内科 長谷川一子

〒010-8542 秋田県秋田市本道1-1-1  
秋田大学医学部医学教育センター 豊島 至

## Aicardi-Goutières syndrome; AGS の概要

【疾患概要】常染色体劣性遺伝性の疾患である。家族性の幼児期に見られる脳症で、脳内石灰沈着と髄液細胞数上昇があり、偽先天性トキソプラズマ脳症 あるいは偽 TORCH 症候群とも呼ばれる。Cree 脳症も同一範疇である。

### 【原因遺伝子】

5つのサブグループ (AGS1-AGS5) に分類されている。AGS1 の原因遺伝子は、DNA エキソヌクレアーゼである TREX1 であり、AGS2-AGS4 はリボヌクレアーゼ H2 のサブユニット (AGS2 は RNaseH2B, AGS3 は RNaseH2C, AGS4 は RNaseH2A) である。2009年7月に AGS5 の原因遺伝子が、SAMHD1 であることが同定された。

### 【遺伝形式】

常染色体劣性、孤発性、常染色体優性

### 【主な症状】

- 遺伝性脳症であるが、胎生期ウイルス感染様の表現形をとる。； pseudo-TORCH 症候群 (TORCH 症候群；先天性 Toxoplasma, Rubella, CMV, HSV 感染症)
- 多くの患者は生後1年以内に亜急性の脳症として発症する。
- 四肢の痙縮、ジストニア姿勢、躯幹の筋緊張低下、また、約半数に痙攣が報告されている。
- 乳児期に重篤な発達障害を示し、進行性の小頭症、痙縮、ジストニア姿勢、高度の精神発達遅滞がみられ、小児期早期に死亡する。
- 画像では脳萎縮、白質ジストロフィー、頭蓋内石灰化 (基底核その他) があり、検査では慢性的な髄液リンパ球増多、髄液中のインターフェロン $\alpha$ とネオプテリンの増加がみられる。感染指標には異常がない。

### 【合併症】

- 新生児期から発症した症例で、神経系外の合併症としては血小板減少症、肝脾腫、肝酵素上昇、間歇的発熱がみられ、感染症を思わせる。
- 免疫異常を生じることもあり、4割の症例で凍瘡様皮疹を生じ SLE 様となることもある。
- 補体が減少し IgG と IgM は上昇する。

## DYT 5 ジストニア，瀬川病

### 診断指針

- i) 遺伝様式 常染色体優性（遺伝子座 14q22.1-22.2, 遺伝子 *GCH1* 遺伝子産物 GCH1）
- ii) 発症年齢 10 歳以下に多いが、成人発症例もある。
- iii) 神経所見 下肢ジストニアにより歩行障害をきたす。  
尖足，内反尖足が多い。  
日内変動があり，昼から夕方にかけて症状が悪化し，睡眠によって改善する。  
固縮，姿勢時振戦がある。  
レボドパにより著明に改善する。
- iv) 臨床検査所見 画像所見に異常はない。  
髄液中ホモバニリン酸の低下。
- v) 鑑別診断 他のレボドパ反応性ジストニア  
常染色体劣性若年発症パーキンソニズムなど

診断の判定：日内変動を伴う下肢ジストニアでレボドパによく反応し，GTP cyclohydrolase 1 (*GCH1*)活性の低下か *GCH1* の変異がみられることによる。成長とともに日内変動の程度は減少する。髄液中ピオプテリン，ネオプテリンの低下は DYT5 を強く示唆する。*GCH1* の変異の検出はやや困難である。

(別紙1)

－遺伝子診断および検体送付システムについて－

1. 遺伝子診断・遺伝子解析のご希望がある場合には一瀬，長谷川，豊島のいずれかにご連絡ください。メールアドレスは，k-hasegawa@sagamihara-hosp.gr.jp です。
2. 遺伝子診断・遺伝子解析のご要望のご連絡の前に，あらかじめ貴病院もしくは貴医院でご使用の遺伝子診断・遺伝子解析用の同意書を用いて，患者様またはご家族から遺伝子診断・遺伝子解析研究に関する書面による同意を得ていただくことを原則としております。
3. もし遺伝子診断・遺伝子解析用の同意書がない場合にはご相談ください。
4. 患者様が死亡されているが，ご家族が診断を希望されている場合にもご相談ください。
5. 遺伝子解析の場合にはご家族（特に両親もしくは祖父母，発症が疑われる同胞）からの採血なども検査させていただけると有用であることが多くみられます。ご家族からの採血が可能かどうかのご連絡もいただけると幸いです。
6. ご連絡をいただいた場合，当方から貴施設の SRL の地区担当に連絡をいたします。SRL の担当者が試料の受け取り，DNA の抽出などを行い，当方に移送します。
7. 採血は全血で EDTA 管（7ml－1本，可能であれば2本）でお願いします。SRL 担当者が採血当日に受け取りに参ることができない場合には，凍結（貴施設の冷凍庫）に保存していただければ問題ございません。
8. 遺伝子診断などに付随いたします個人情報につきましては，個人情報および遺伝子などに関する倫理規定を遵守いたしますが，お手数ですが貴院から SRL にご依頼される際に暗号化（例：緑区-1 など）していただけると幸いです。
9. 速やかに遺伝子診断などを行う予定ですが，ご不明の点につきましては一瀬までご連絡くだされば，対応させていただきます。

Aicardi-Goutières syndrome 患者調査票 (患者様1名につき1部としてください。)

Aicardi-Goutières syndrome

小児期発症の原因不明な頭蓋内石灰化症例

TORCH 症候群

}の患者様の場合ご使用ください。

1 症例の属性

男 女

生存中：年齢（ ） 死亡：年齢（ ）

発症年齢 出生時から 1月以内 1歳以内 1歳以降：（ ）歳

観察期間 1月未満 1月以上 1年以上

2 家族性発症

あり ( 同胞のみ それ以外；具体的にお書きください( ) )

遺伝子変異が証明されている：具体的にお書きください ( ) )

なし

3 胎生期ウイルス感染様の表現形

あり なし

4 TORCH 症候群：先天性 Toxoplasma, Rubella, CMV, HSV 感染症

あり → Toxoplasma, Rubella, CMV, HSV

なし

5 乳児期の神経症状（複数）

進行性の小頭症、痙縮、ジストニア姿勢、高度の精神発達遅滞

6 画像所見（複数）

脳萎縮、白質ジストロフィー、

頭蓋内石灰化（基底核その他）スケッチをお願いします。

7 検査所見（複数）

慢性的な髄液リンパ球増多、

髄液中のインターフェロン $\alpha$ 増加

髄液中のネオプテリンの増加

感染指標の異常 あり なし

8 合併症（複数）

血小板減少症、肝脾腫、肝酵素上昇、間歇的発熱

免疫異常、SLE 様皮疹、補体減少、IgG 上昇、IgM は上昇

9 遺伝子診断・遺伝子解析のご希望がございましたら、別紙1に従ってご連絡をお願いします。

—可能でしたら病歴サマリーなどの添付をよろしくお願いたします。—

ご協力ありがとうございました。

ピオプテリン代謝酵素異常症の患者様にご使用ください。(一症例につき一枚でお願いします。)

1 症例の属性

- 男                      女  
生存中：年齢（      ）              死亡：年齢（      ）  
発症年齢              出生時から      1月以内      1歳以内              1歳以  
降：（      ）歳  
観察期間              1月未満              1月以上      1年以上

2 神経所見

- 下肢ジストニアにより歩行障害をきたす。  
尖足，内反尖足が多い。  
日内変動がある，  
昼から夕方にかけて症状が悪化する  
睡眠によって改善する。  
固縮，姿勢時振戦がある。  
レボドパにより著明に改善する。

3 臨床検査所見

- 髄液中ネオプテリンの低下

4 遺伝子変異

- 変異が証明されている：具体的にお書きください  
（    ）  
遺伝子検索をしたが異常はみられなかった  
未検  
その他：（    ）

5 現在、瀬川病では浸透率がなぜ低いかについて検討を開始しております。患者様のご両親，祖父母などに採血をおねがいすることが可能でしょうか？

- 可能  
不可能

6 遺伝子診断・遺伝子解析のご希望がございましたら，別紙1に従ってご連絡をお願いします。

—可能でしたら病歴サマリーなどの添付をよろしくお願いたします。—  
ご協力ありがとうございました。



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

## ヒト末梢血細胞におけるAicardi-Goutières Syndrome関連遺伝子の 発現解析

研究分担者 小幡文弥 北里大学医療衛生学部

### 研究要旨

ヒト末梢血T細胞、B細胞、マクロファージにおけるAGS関連遺伝子のmRNA発現パターンを解析した結果、TREX1, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C各遺伝子については細胞間で大きな発現の差はなかったが、SAMHD1遺伝子については、マクロファージにおいて顕著に高い発現が観察された。また樹立されたB細胞株においても5遺伝子すべての発現が確認された

### A. 研究目的

Aicardi-Goutières Syndrome(AGS)は、常染色体劣性遺伝性の幼児期に見られる脳症である。脳内石灰沈着と髄液細胞数の上昇があり、偽先天性トキソプラズマ脳症あるいは偽TORCH症候群とも呼ばれ、胎生期ウイルス感染様の表現形をとる。乳児期に重篤な神経症状を示し、進行性の小頭症、痙縮、ジストニア姿勢、高度の精神発達遅滞がみられ、小児期早期に死亡する。画像では脳萎縮、白質ジストロフィー、頭蓋内石灰化があり、検査では慢性的な髄液リンパ球増多、髄液中のインターフェロン $\alpha$ とネオプテリンの増加がみられる。感染指標には異常がない。炎症・痛みを抑える対症療法がとられるが、根本的治療法はない。

世界で100例以上の患者の報告があるが、国内での患者数は不明である。

AGSは、原因遺伝子別に5つのサブグループ(AGS1-AGS5)に分類されている。AGS1はTREX1遺伝子(3p21.3-p21.2)変異による。AGS2はRNASEH2B遺伝子(13q)、AGS3はRNASEH2C遺伝子(11q13.2)、AGS4はRNASEH2A遺伝子(19p13.13)、AGS5はSAMHD1遺伝子(第20染色体)の変異によっておこる。

我々は、AGS関連遺伝子が、ヒト末梢血細胞においてどのような発現パターンを示すのかを検討した。

### B. 研究方法

被検者：健常者3名を対象とした。末梢血

から、磁気ビーズに結合した抗 CD3 抗体、抗 CD19 抗体、抗 CD14 抗体を用いて、それぞれ T 細胞、B 細胞、マクロファージを分離した。それぞれの細胞分画から、Trisol 試薬を用いて RNA を分離し、cDNA 合成を行った。またヒト B 細胞株 L-KT12, L-KTS3, NAK, ヒトマクロファージ細胞株 THP-1、ヒト骨髄細胞株 HL-60 から同様に RNA 分離と cDNA 合成を行った。

**PCR** : 5 つの AGS 関連遺伝子の翻訳領域をカバーするように PCR プライマーを設計した。PCR 産物を電気泳動し、バンドの強度をコンピュータで読み取って半定量を行った。

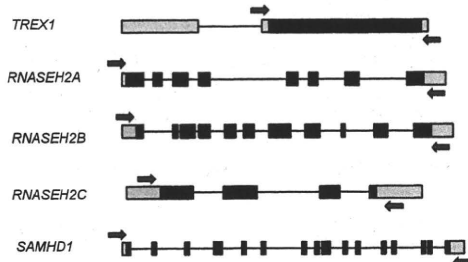
(倫理面への配慮)

本研究の遂行にあたっては、北里大学医学部・病院ゲノム倫理委員会の審査を受け承認を得た(承認番号 B10-121, G10-18、平成 22 年 10 月 4 日)。

### C. 研究結果

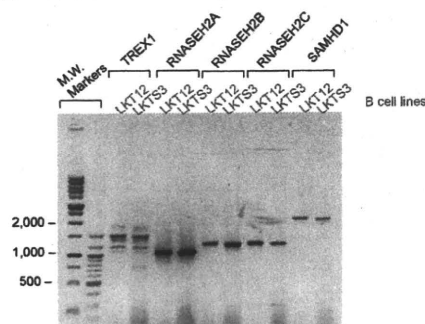
まず、図 1 に示すように設計した PCR プライマーの検証、およびヒト B 細胞株における AGS 遺伝子発現を確認するため、L-KT12, L-KTS3 の 2 つの B 細胞株から RT-PCR を行った。

図1 RT-PCR Primers for AGS-related mRNA analysis



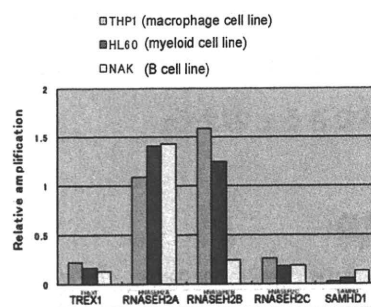
その結果図 2 に示すように、期待された長さのバンドが検出され、B 細胞株は 5 つの AGS 遺伝子すべてを発現することが確認された。

図2. RT-PCR of AGS-related genes in human B cell lines



また、マクロファージ細胞株 THP-1、骨髄細胞株 HL-60、B 細胞株 NAK を比較した結果、TREX1, RNASEH2A, RNASEH2C, SAMHD1 各遺伝子については 3 者間で発現に差はみられなかった(図 3)。

図3. ヒト細胞株における AGS 関連遺伝子の発現

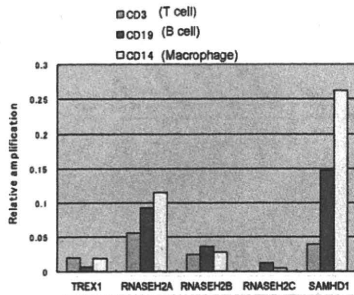


しかし、RNASEH2B 遺伝子に関しては、B 細胞株 NAK は他の 2 細胞株より発現が低かった。

次に、末梢血細胞においても AGS 遺伝子発現に差が見られるか否かを検証するため、3 名の健常者から磁気ビーズを用いて T 細胞、B 細胞、マクロファージを分離した。3 名ともほぼ類似の発現パターンを示し、TREX1, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C 各遺伝子については大きな発

現の差はなかったが、SAMHD1 遺伝子については、マクロファージで顕著に高い発現が観察された (図 4)。

図4. ヒト末梢血細胞におけるAGS関連遺伝子の発現



#### D. 考察

今回、末梢血細胞において5つのAGS遺伝子の発現が確認されたことにより、末梢血細胞から直接分離したRNAからの変異解析が可能であることが示された。また、患者末梢血からEBVによってB細胞株を樹立しておけば、DNA, RNAいずれの解析も可能になり、AGS遺伝子変異探索を効率良く行うことができると思う。

#### E. 結論

ヒト末梢T細胞、B細胞、マクロファージについて、AGS関連遺伝子の発現パターンを確認した。また各種ヒト細胞株におけるAGS遺伝子発現を確認した。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kubo M, Kamiya Y, Nagashima R,

Maekawa T, Eshima K, Ohta E, Obata F.

LRRK2 is expressed in B-2 but not in B-1 B cells, and downregulated by cellular activation.

J Neuroimmunol 2010 229(1-2):123-128.

2. Maekawa T, Kubo M, Yokoyama I, Ohta E, Obata F. Age-dependent and cell-population-restricted LRRK2 expression in normal mouse spleen. Biochem Biophys Res Commu 2010, 392(3):431-435.

3. Ohta E, Kubo M. Obata F. Prevention of intracellular degradation of I2020T mutant LRRK2 restores its protectivity against apoptosis. Biochem Biophys Res Commu 2010, 391(1):242-247.

##### 2. 学会発表

1. 太田悦朗、川上文貴、飯田直幸、山元茉莉、前川達則、服部成介、小幡文弥 LRRK2 の細胞内半減期および LRRK2 ノックダウン下における細胞生存率の解析 第 51 回日本神経学会総会 (東京) 2010.5.20
2. 佐竹渉、水田依久子、渡邊雅彦、武田篤、富山弘幸、中島健二、長谷川一子、小幡文弥、川上秀史、佐古田三郎、山本光利、服部信孝、村田美穂、中村祐輔、戸田達史 ゲノムワイド関連解析は、4つのパーキンソン病感受性遺伝子座を同定した 第 51 回日本神経学会総会 (東京) 2010.5.20

3. 前川達則, 太田悦朗, 佐々木唯, 森小百合, 宮島任司, 東貞弘, 小幡文弥  
I2020T 変異 LRRK2 トランスジェニックマウスの解析 第 51 回日本神経学会総会 (東京) 2010.5.21
- (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
- H. 知的所有権の取得状況**