

201024187A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

先天性大脳白質形成不全症の診断と治療に向けた研究

(H22-難治-一般-132)

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 井上 健

国立精神・神経医療研究センター 神経研究所

平成23(2011)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

先天性大脳白質形成不全症の診断と治療に向けた研究

(H22-難治-一般-132)

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 井上 健

国立精神・神経医療研究センター 神経研究所

平成23(2011)年 3 月

目 次

I. 総括研究報告

- 先天性大脳白質形成不全症の診断と治療に向けた研究----- 1
井上 健

II. 分担研究報告

1. 先天性大脳白質形成不全症の全国実態調査(第2報) ----- 9
井上 健、沼田有里佳、有馬恵里子、小坂 仁、黒澤健司、高梨潤一、
出口貴美子、山本俊至、岩城明子
2. 先天性大脳白質形成不全症の疾患分類(改訂) ----- 13
井上 健、小坂 仁、黒澤健司、高梨潤一、山本俊至、出口貴美子、
岩城明子
3. 患者家族を対象とした先天性大脳白質形成不全症の市民公開セミナーの実施
----- 15
井上 健、小坂 仁、黒澤健司、西川智子、高梨潤一、山本俊至、
出口貴美子、岩城明子
4. クルクミン経口投与による Pelizaeus-Merzbacher 病の治療法の開発
----- 18
守村敏史、沼田有里佳、余荔華、岩下晴美、井上 健
5. オートファジーに注目した食品化合物ライブラリースクリーニング
～PLP1 重複の治療薬開発を目指した in vitro 解析系の確立～----- 21
沼田有里佳、守村敏史、井上 健
6. 平成 21・22 年度 PLP1 遺伝子解析の結果報告
～特に開始コドンの変異例解析を中心として～ ----- 24
小坂 仁、新保裕子、永井淳一、黒澤健司
7. MLPA(Multiplex ligation-dependent probe amplification)による *PLP1*
遺伝子コピー数解析 ----- 28
黒澤健司、永井淳一、小坂 仁
8. 先天性大脳白質形成不全症モデルマウスを用いた脳画像研究 ----- 33
高梨潤一
9. ターゲティング・リシーケンスによる先天性大脳白質形成不全症の網羅
的遺伝子解析 ----- 37
山本俊至

1 0. PLP 1 遺伝子変異と臨床病型との関係：先天型 Pelizaeus-Merzbacher 病 から家族性痙性対麻痺 2 型まで	-----	43
岩城明子		
1 1. 先天性大脳白質形成不全症の剖検病理脳検体の収集と解析	-----	46
出口貴美子、伊藤雅之、井上 健		
III. 資料		
平成 2 2 年度班会議資料	-----	50
先天性大脳白質形成不全症の診断基準と治療指針	-----	62
第 2 回公開セミナーお知らせ	-----	82
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	83
V. 研究成果の刊行物・別刷	-----	92

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

先天性大脳白質形成不全症の診断と治療に向けた研究

研究代表者 井上 健 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第二部

研究要旨

先天性大脳白質形成不全症は、原因不明（しかし多くは遺伝性と考えられる）の中樞神経系髄鞘の形成不全を特徴とし、非常に重篤な症状を呈する稀な神経疾患の一群である。罹患している患者の多くは、重度の運動障害と知的発達遅滞をもつ重症心身障害者であり、小児期に死亡する患者も多い。これまで *PLP1* などいくつかの原因遺伝子が同定され、病態が明らかになっている一方、遺伝子検索はおろか診断未確定の患者も多い。また、本邦の患者実態の把握は、ほとんど行われてこなかった。本研究は、これまで個別にこれらの疾患の臨床や研究に関わってきた臨床医と研究者を取りまとめ、全国調査による本邦の臨床実態の把握と診断基準の作成など臨床研究を推進し、さらにその成果を直接、治療法開発へつなげるべく、生体試料の登録保存や疾患モデル動物などの基盤整備を推進するものである。本研究の特色は、「ベッドからベンチへ、ベンチからベッドへ」という臨床・基礎研究一体型の研究組織を構築し、先天性大脳白質形成不全症の診断から治療までにかかる研究を一体的に推進する点である。本年度は、昨年度のフィジビリティ・スタディからの継続で2年目となるが、昨年度からの継続研究課題の実施とともに、新たな研究課題も追加し、より多面的な研究の実施を目指した。

研究組織

研究代表者

井上 健 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第二部 室長

研究分担者

小坂 仁 神奈川県立こども医療センター 神経内科 部長

黒澤健司 神奈川県立こども医療センター 遺伝科 部長

高梨潤一 亀田メディカルセンター 小児科（神経担当） 部長

山本俊至 東京女子医科大学 統合医科学研究所 准教授

岩城明子 九州大学 生体防御医学研究所 助教

出口貴美子 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第二部 研究生

1. 研究目的

先天性大脳白質形成不全症は、遺伝性の中樞神経系髄鞘の形成不全を本態とする重篤かつ稀な神経疾患の一群で、代表的疾患として Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) が知られている。いくつかの原因遺伝子が同定され、病態が明らかになっている一方、臨床的には遺伝子検索はおろか診断未確定の患者も多い。また、本邦での患者実態の把握は全く行われていない。また、本疾患の診断基準や分類も十分に行われおらず、さらに、治療法も存在し

ない。すなわち、本疾患を取巻く状況には、今後解決せねばならない課題が数多く存在する。

そこで、本研究ではPMDを代表とする先天性大脳白質形成不全症に関する臨床実態の調査と診断基準の確立、遺伝子診断の推進、治療法開発に向けた基盤整備の推進を目的とする。

我々は、昨年度より先天性大脳白質形成不全症に関する全国実態調査と診断基準と治療指針の策定、病態解明や治療法開発のための基盤整備等の総合的な研究を開始した。本研究では、昨年度からの課題をさらに押し進めるとともに、特に臨床研究では遺伝子診断の体制の確立と推進、患者家族とのネットワークの確立を重点的に進める。基盤研究では、患者生体試料の登録と収集、遺伝子解析あるいは画像解析の手法を用いた病態解明、新規疾患遺伝子の同定、さらに治療法を開発するための基盤整備を進め、臨床研究と基盤研究が有機的に連携した研究を推進する。

本研究が必要な医療的背景として、以下の点が上げられる。

第1に、今後の先天性大脳白質形成不全症に関する診断の標準化や厚生労働行政の基盤になる知見を得るために、まず本邦における患者実態の把握が必要である。これまで疾患自体が稀であり、患者数や医療の実態についての情報が全くなかった。そこで、全国レベルでの実態把握調査が必要である。

第2に、先天性大脳白質形成不全症は稀であり、生化学的な診断指標がなく確定診断が困難であるが、近年MRIなどの画像診断技術や遺伝子診断技術の進歩により、正確な診断が可能になりつつある。これらの情報を統合し、臨床場面で有用な本疾患の診断や治療のためのシステマチックなガイドラ

インの確立が必要である。

第3に、遺伝子診断の確定に基づく病態の解明と治療法の開発のための生体試料のシステマチックな収集・保存が非常に重要になり、そのための基盤整備が必要である。現在、この疾患には、根本的な治療法が存在しない。しかし、遺伝子・再生治療の技術進歩により、近い将来、治療法が開発される機会が訪れると期待されるが、そのためには、正確な臨床情報とリンパ芽球や皮膚線維芽細胞などの生体試料の登録保存システムの確立が重要である。

本研究の最大の特徴は、班員により高度先進医療として確立された遺伝子診断システムが、本邦で最初の遺伝子診断の保険適用疾患の一つとして認可されている点である。これはすなわち、実態の把握を遺伝子レベルで、正確かつ効率的に行えることを意味する。また、研究代表者は、疾患の分子病態の解明や診断法の開発を行い、さらに治療法開発へ向けた体制を整備していることである。また、すでに欧州や米国の研究グループとの交流もあり、国際的な共同研究も開始していることも特色の一つである。すなわち、臨床実態調査研究の枠を超え、その成果をすぐに病態解明と治療研究のため活かせる体制を整え、「ベッドからベンチへ、ベンチからベッドへ」をスムーズに行うトランスレーショナルな研究を行うことを念頭におき、実際にこの疾患の研究に携わる研究者や医師からなる小回りのきく研究班を立ち上げた。

2. 研究方法

A. 臨床の実態の把握調査と診断の推進のための研究

(1) 全国疫学調査の結果の集計とフィードバック

H21年度より実施している全国実態

調査について、昨年度末に収集した二次調査の結果を集計し、統計学的解析を進め、これを学会で報告および論文で公表できるようにまとめる。調査協力施設には、結果の概要とともに、調査への協力に関しての礼状を送付する。これに、遺伝子解析研究、生体試料の登録あるいは画像診断研究の案内も同封し、他の研究課題への参加を募る。また二次調査の対象患者には、患者家族会の情報や遺伝子診断に関する情報等も積極的に提供する。

(2) 画像と遺伝子診断を含めた診断基準と疾患分類、治療指針の確立

昨年度に、臨床診断基準および治療指針の案を作製した。本年度は、昨年度の疾患分類を見直し、新たに1疾患を加え、11疾患とした改訂版を作成する。さらに、これらに班員の知見を含め最新の画像および遺伝学的解析の学術的知見を加味し、より詳細かつ専門的な総説的内容を加えた高度な診断と臨床評価と治療のためのガイドラインを確立する。MRIとMRSのによる病態評価、遺伝子変異型と臨床症状の多様性や重症度との関連等を含んだ総説的な疾患の診断基準を作成する。専門学会および専門誌で公表・情報発信することにより、本疾患に関する臨床面でのボトムアップを図る。

(3) 患者家族や看護療育スタッフを対象とした公開セミナーの開催

昨年度に引き続き公開セミナーを行い、患者家族間のネットワークの強化と医師・研究者との連帯をはかるとともに、情報提供を行う。

(4) 遺伝子診断と遺伝子カウンセリングの整備推進

遺伝子診断は、診断の確定や予後の判定、臨床表現型との関連解析、遺伝カウンセリング、将来の治療法の適応など重要な情報を供給することができる

が、現段階ではその体制が整っていない。そこで現在稼働している *PLPI* 遺伝子診断システムをさらに発展させ、すべての疾患原因遺伝子 (*SOX10*、*GJA12*、*DRCTNNB1A* など) の解析体制を神奈川県立こども医療センターと国立精神・神経医療研究センターに作る。また、遺伝子カウンセリングに関するガイドラインを作製し、遺伝子診断結果に添付し、さらに公開する。

B. 病態解明と治療法開発に向けた基盤整備と基礎研究の推進

(1) リンパ芽球および皮膚線維芽細胞など生体試料の登録・保存

本研究の大きな役割の1つは治療法開発への基盤作りである。昨今のゲノムワイド解析や再生医療に関する技術革新は、様々な疾患に応用できる共通のプラットフォームを持っており、従って高品質な疾患特異的な生体試料バンクを確立することが、これらの技術を病態の解明や治療法開発のために応用するための重要なカギになる。

そこで、引き続き疾患特異的な生体試料の収集を行う。ゲノムワイド解析による新規の疾患原因遺伝子の同定あるいはゲノム組換え機序の解明のための末梢血リンパ芽球株化とiPS技術の応用を見据えた皮膚線維芽細胞の収集・登録を国立精神・神経医療研究センターが中心となって行う。既にリンパ芽球は50家系の蓄積があり、さらに実態調査で見いだされた症例からの収集を目指す。また慶應大岡野教授らと共同研究でPMDの線維芽細胞からiPS樹立をすすめている。さらに国内剖検脳標本を収集し、新たな病態に関する知見の組織学的実証を行う。

(2) 治療法開発へ向けた基礎研究のための基盤整備

培養細胞や疾患モデル動物を用いた病態解明と治療法開発のための基盤を

確立する。不死化細胞あるいはオリゴデンドロサイト初代培養細胞への疾患遺伝子の導入等により、試験管内での薬物ライブラリーのスクリーニング、薬理病態の解明や薬物効果の分子基盤の解明を進める。また PMD モデルマウス 2 系統、PCWH モデルマウス 1 系統を飼育し、治療薬の投与後の組織病理や電顕などの効果判定の実験系を確立している。放射線医学研究所青木博士と共同で動物用 7T-MRI を用いた分子イメージングによる病態解析やクルクミンを含む複数の候補薬物を用いた治療研究を行う。

(3) 国際共同研究による海外の診療および研究実態の把握

欧米の研究者との共同研究を推進し、諸外国における医療の実態を把握する。既に仏 INSERM の Boespflug-Tanguy 教授らの大脳白質変性症コンソーシアム、米国 PMD 基金との関係し、臨床情報の交換や DNA 検体の供与をうけるなど共同研究を開始しており、今後、患者登録データベースの共有や患者会への参加などを推進する。

3. 研究結果

A. 臨床の実態の把握調査と診断の推進のための研究

(1) 全国疫学調査の結果の集計とフィードバック

昨年度の報告書にて、全国実態調査に関する立案と実施についての詳細を報告したので、ここでは概要についての記載にとどめる。調査の立案は、「難病の患者数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル（第 2 版）」（2006 年 8 月研究代表者 永井正規）の手法に基づいて行い、調査対象の選定や調査票の内容、さらに倫理審査などの具体的な手法の決定や作業内容を取り決めた。一次調査票は対象患者の

有無のみを記載し返信する葉書による形式を用いて行い、患者有り回答のあった施設に、二次調査表を送付した。一次調査の対象施設は、小児神経学会の協力を得て、小児神経科専門医が所属する全国の医療・療育施設を抽出し、これに大学病院小児科および全国の重症心身障害児施設などを加え、合計約 918 施設に対してとした。調査票を H21 年 11 月に発送し、約 7 割の回答率で一時調査票が回収された。

一次調査の結果、患者を有りと回答が 95 施設よりあり、合計 168 名の対象患者が同定された。そこで、これらの施設に対し二次調査表を発送し、二次調査を行った。その結果、65.8%の回収率で二次調査表が回収された。これらの結果の詳細については、分担研究報告書にて報告する。

当初の予定では、結果の概要を調査協力者に報告する予定であったが、本報告書作成時点で、解析を行っている途中である。今後、迅速に解析を進め、なるべく早急に結果の概要をまとめ、報告できるようにする予定である。なお、来年度は、この調査の結果を学会及び論文として公表し、難治性疾患の医療及び厚生労働行政の資料として活用できるようにしたい。

(2) 画像解析と遺伝子診断を含めた診断基準と治療指針の確立（参考資料 II）

昨年末の本研究で、先天性大脳白質形成不全症の診断基準と疾患分類、そして治療指針を作成し、昨年度の報告書に公表した。しかし、これだけでは、臨床現場で広く利用してもらえる状況ではない。そこで、本年は先天性大脳白質形成不全症の患者を診察する機会が最も多いと思われる小児神経科医師にこの診断基準、疾患分類および治療指針の存在を広く知らしめるための

活動を行った。同時に、昨年度版の記載の内容を改めて検証し、マイナーな改訂を行った。

診断基準と疾患分類については、本年度の日本小児神経学会総会（平成22年5月福岡）にて口頭発表を行い、本研究班の取り組みの一部として公表した。加えて日本人類遺伝学会総会（平成22年10月大宮）においても、同様に本診断基準と疾患分類の概要を口頭発表にて行い、研究成果の周知に努めた。

さらに先天性大脳白質形成不全症の診断基準と疾患分類を含めた総説を作成し、日本小児神経学会の学会誌である「脳と発達」に投稿した。この雑誌は、小児神経学会員全員に頒布されるものであり、本邦の小児神経科医師への認知を高めるためには非常に効果的と思われる。また、学会誌として常に閲覧できるものであることも重要である。この総説は、H23年11月に出版される予定である。

総説に合わせて、診断基準と疾患分類の内容の一部、改訂した。最も大きな改訂は、疾患分類に関するもので、H21年度版では10疾患に分類されたが、本年度版は1疾患追加となり、11疾患となった（参考資料II参照）。追加された疾患は、小脳萎縮と脳梁低形成を伴うび慢性大脳白質形成不全症である。この疾患は、2009年に佐々木らによって提唱されたもので、新しい疾患概念ながら、既に学会などでこの疾患に該当すると思われる症例の報告もある。従って、早い段階で疾患分類に記載することにより、本邦でのこの新しい疾患の症例の同定と症例の蓄積を推進することは、意義深いと考えている。

また、本年度は本疾患に関する情報発信の場として、ウェブサイトの作成

を行っている。公開は平成23年2-3月頃になる予定であるが、その中で本診断基準、疾患分類、そして治療指針についてもページを作成し、誰でもこの情報にアクセスできるようにした。

(3) 患者家族や看護療育スタッフを対象とした公開セミナーの開催

昨年度に引き続き、本年度も患者家族や養護学校職員や医療スタッフを対象とした市民公開セミナーを開催した。昨年度と同様に、神奈川県立こども医療センターの会議室で、7月17日に開催された。詳細については、分担研究報告書に記載した。

参加者は、27家族87名で、北海道から九州まで、広く日本全国から家族らの参加者を得ることが出来た。昨年のセミナーの後に、非公式ながら家族間のネットワークが産まれたため、セミナー開催に関する情報も、昨年度に比べてスムーズに行き渡ったと思われる。

セミナーは、前後半に分かれ、前半では4名の班員による教育的な講演が行われた。これは、昨年度に引き続き、疾患の理解を深め、治療や研究の現状を理解することが目的であった。後半は、懇親会として、家族間の紹介と討議がなされた。

本年度のセミナーでは、いくつかの点で特徴的であった。講演では、画像診断や遺伝子解析など、一般にはやや難解ではあるが、本疾患の医療において重要な事柄について、より深く丁寧に解説する機会が持てたことである。

もう一つは、家族の間でのコミュニケーションが広がり、昨年よりも活発な意見交換が出来たことである。これに伴い、本年度は家族会を発足させることが、この場で決定された。

このセミナーは、疾患が稀少であるために、なかなか顔をあわせて話をす

ることが出来ない、家族同士のコミュニケーションを育てる有意義な機会となっていることは間違いがない。H23年度も、継続してこのセミナーを開催する予定である。

(4) 遺伝子診断と遺伝子カウンセリングの整備推進

本研究課題は、国立精神・神経センター倫理委員会、神奈川県立こども医療センター、東京女子医科大学、九州大学の各施設での倫理委員会の承認のもと、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠して行なっている。

昨年度、既知の先天性大脳白質形成不全症の原因遺伝子の遺伝子診断に関する整備推進として、*PLP1* 遺伝子以外の遺伝子に関する解析の手法の確立などを行なった。本年度は、*PLP1* 遺伝子の解析をより推進するとともに、*PLP1* 遺伝子解析で異常が見いだせなかった症例について、その他の遺伝子についても解析を開始した。その成果として、ある患者に *GJC2* 遺伝子のプロモーター領域に変異を見だし、これがやはり本疾患原因遺伝子の一つである転写因子 *SOX10* の結合を阻害することを明らかにし、論文として報告した。この成果は、掲載雑誌 *Annals of Neurology* の巻頭エディトリアルとして紹介された（巻末別刷資料参照）。

遺伝カウンセリングに関しては、昨年度作成したガイドラインを、H22年度中に公開予定の本研究班のウェブサイトに掲載し、これを広く公開することにより、多くの医療関係者や患者家族への情報発信を行っていく。

B. 治療法開発に向けた基盤整備と基礎研究の推進

(1) リンパ芽球および皮膚線維芽細胞など生体試料の登録・保存

本研究課題は、国立精神・神経セン

ターおよび神奈川県立こども医療センターでの倫理審査を行ない、承認を得て行なっている。

リンパ芽球は、遺伝子診断を目的に採取された血液検体を用いて行う。全国実態調査で見いだされた症例について、遺伝子診断の推進とともに、システムチックに血液検体の収集を進めていく予定であったが、これについては計画より遅れているので、今後、積極的に推進していく予定である。本年度は、現段階で数例の収集にとどまっている。

皮膚線維芽細胞は、iPS 細胞化とこれを用いた病態解明や治療法開発のために重要な試料となる。昨年度作成された皮膚線維芽細胞は、本年度、慶應大学生理学の岡野教授のグループに供与された。これを用いて iPS 細胞が作成され、現在、分化誘導実験が岡野教授らのグループにより行われている。

これとは別に、原因遺伝子が不明の先天性大脳白質形成不全症患者の皮膚線維芽細胞が、熊本大学の江良教授の研究室に送付され、iPS 細胞が作成されている。また、これらとは別に、東京女子医科大学および国立精神・神経医療研究センターでも疾患特異的 iPS 作成プロジェクトの一環として、個別に PMD 患者からの iPS の作成を開始している。

本年度より開始した剖検脳標本の収集は、まず、国立精神・神経医療研究センターで倫理審査を受け、承認された。いくつかの施設に、研究への協力を呼びかけたところ、2施設より3症例の剖検脳パラフィンブロック標本の提供を受けることが出来た。来年度は、さらに収集を進め、動物実験などで得られた知見を、ヒトの脳で再検討するために用いる予定である。

(2) 治療法開発へ向けた基礎研究のた

めの基盤整備

昨年度確立した薬物スクリーニング、治療効果の評価、分子薬理基盤の解明のためのオリゴデンドロサイト初代培養やPMDモデルマウスを用いた実験系を用いて、基礎研究を進めた。

本年度は、*PLP1* 点変異による PMD に対する治療薬候補として、研究を行っているクルクミンやその他の小胞体ストレス反応を修飾する化合物の同定や効果の検証などを、培養細胞を用いて行った。以前、*PLP1* 変異マウス MSD に投与して一定の治療効果を得たクルクミンについて、その分子薬理動態を明らかにするため、HeLa 細胞を用いた変異型 *PLP1* 強制発現系を構築した。これを用いて培地中に投与したクルクミンの治療効果、特に小胞体ストレス分子の発現に関して検証を行った。当初の予想に反し、変異型 *PLP1* によって惹起された小胞体ストレス反応は、クルクミン投与によって減少しなかった。同様の所見は、クルクミンを投与した MSD マウスの髄鞘組織での解析でも見られており、今回の結果をあわせると、クルクミンの治療効果は、小胞体ストレス以外の薬理動態が優位に関与している可能性が示唆された。今後、さらに検討を行う予定である。

また、*PLP1* 重複に対する治療法開発研究も開始した。*PLP1* 重複の分子病態として、過剰発現された *PLP1* タンパクがライソゾームに蓄積していることが知られている。我々はライソゾームを介して不要タンパクを分解する細胞内タンパク除去装置オートファジーに焦点を当て、これを修飾する化合物を見いだすことにより、重複変異による PMD の治療薬候補を同定することが出来るのではないか、と考えた。まず、オートファジーの検出系の確立を

行った。HeLa 細胞に GFP 融合 *LC3* タンパクを安定発現させた細胞株を確立した。*LC3* はオートファジー関連分子で、その活性化によって、細胞質からオートファゴゾームに移動する。従って細胞内でオートファジーが活性化すると、蛍光シグナルがびまん性から顆粒状に変化するので、これを可視的に検出することが出来る。オートファジーを誘導する薬剤ラパマイシンの投与により、顕微鏡下に顆粒状蛍光シグナルを同定することが出来たため、この実験系が有効であることを確認した。今後、この系を用いてオートファジーを活性化する薬剤のスクリーニングを行い、*PLP1* 重複に対する治療薬候補の同定をすすめる予定である。

疾患モデルマウスを用いた研究では、放射線医学総合研究所との共同研究により、動物用高性能 MRI を用いた画像解析研究を引き続き行った。これについては、分担研究者高梨潤一が中心となり解析を行なっている。昨年度開始した *PLP1* 点変異マウス MSD の解析に引き続き、本年度は *PLP1* 重複のモデルである *PLP1* トランスジェニックマウスを用いた MRI 解析を開始した。

(3) 国際共同研究による海外の診療および研究実態の把握

仏 INSERM の Boespflug-Tanguy 教授らと行っている PMD のゲノム病態解明に関する共同研究は、アレイ CGH を用いたゲノム組換え機序の解明に向けて、研究を継続している。

また米国の PMD 基金の世話役でもあり、PMD 研究の第一人者でもある Hobson 博士と米国で会い、家族会運営などに関する情報を交換した。また、米国で行われている PMD 患者への幹細胞移植治療についての情報を得た。これらの情報は、班会議や公開セミ

ナーなどで班員および家族会に伝えた。

4. 結論

本研究は、先天性大脳白質形成不全症の診断と治療に大きな進歩をもたらすことを目的とする。一稀少疾患に焦点を当て、診断あるいは疫学といった臨床の基盤的な研究、遺伝子診断などの応用医療、そして治療法開発に向けた基礎研究といった幅広い領域についての縦断的な研究を継続的に行なっている。本研究の成果は、次に挙げるような重要な意義を持つと考える。

A. 短期的成果

先天性大脳白質形成不全症罹患患者の多くは、これまで疾患に関する統合的な情報が少なく、的確な診断とこれに基づく治療や療育が困難であった。本研究により、難病に関する厚生労働行政上での施策に役立つ疫学情報や医療実態などの基本的な情報を得ることができる。また、臨床実態の把握と診断基準の策定、さらに遺伝子診断や画像診断の推進、治療指針の策定により、本邦での本疾患に対する認知度の向上、さらに医療と福祉の充実を図ることができる。臨床現場に即した成果として、特に公開セミナーを通して患者家族を中心としたネットワーク作りや欧米の患者団体を通しての情報提供などのニーズに答えることができる。

B. 長期的成果

線維芽細胞など生体試料から作製するiPS細胞を用いた病態解明あるいは治療法の開発、さらに薬剤スクリーニング系開発による候補治療薬の発見や、動物モデルの維持と解析系の確立による治療薬の有効性の検証等が期待される。今後これらの研究をさらに進めることにより、患者サポートから臨床研究、さらに治療法開発研究まで一

体化した有機的な体制のもとで進展することが期待される。これらの研究より、稀少疾患に苦しむ重症心身障害者患者と家族、そしてそれを取巻く医療・療育・福祉に対する統合的アプローチとしての難病研究のスタイルを提示し得る。

本年度は、3年計画の2年目に当たり、いくつかの研究課題では具体的な成果が出てきている。

疫学調査は、既に二次調査の集計を終え、結果の解析を行っている。本邦における先天性大脳白質形成不全症の推定患者数、有病率、罹患率などの基本的な統計学的情報を明らかにした。

診断基準と疾患分類は、昨年度からの改訂を行った。これは、学術専門誌やウェブサイトで公表する予定である。

公開セミナーは、引き続き好評であった。来年度は、開催場所を変えるなど、趣向を変えることにより、継続的に参加して頂けるような取り組みも行いたい。

遺伝子解析は、本年度22例の実績をあげたが、一方で、PLP1以外の遺伝子の解析は遅れているので、来年度の課題としてあげたい。GJC2変異の論文報告は、大きな成果となった。

生体試料の収集については、iPS細胞が確立され、病態研究への足がかりが得られた。

病態解明と治療法開発研究は、クルクミンの治療効果に関する成果が大方得られ、今後論文にて発表する予定である。

5. 健康危険情報

特記事項無し

6. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

先天性大脳白質形成不全症の全国実態調査（第2報）

井上 健¹、沼田有里佳¹、有馬恵里子¹、小坂 仁²、黒澤健司³、高梨潤一⁴、
出口貴美子¹、山本俊至⁵、岩城明子⁶

1 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究第二部

2 神奈川県立こども医療センター 神経内科

3 神奈川県立こども医療センター 遺伝科

4 亀田メディカルセンター 小児科

5 東京女子医科大学 統合医科学研究所

6 九州大学 生体防御医学研究所

研究要旨

先天性大脳白質形成不全症の患者数と診断・治療の実態を把握することを目的として、全国実態調査を開始した。疫学班と協力し、日本小児神経学学会の共同研究支援の指定を得て、専門医所属施設を中心に 918 施設に郵送によるアンケート調査を行った。昨年度の一次調査による患者数と診断の把握では、最終的に 7 割の回収率で、95 施設から約 164 症例を確認した。本年度は、まず昨年度末に発送した二次調査表を回収・集計した。二次調査は 65.8%の回収率で、108 名の先天性大脳白質形成不全症の患者を同定した。これらの結果から、本邦における先天性大脳白質形成不全症に関する推定患者数、有病率、罹患率などの基礎統計情報をはじめ、様々な医療の実態が明らかになった。これらの情報は、今後先天性大脳白質形成不全症を始めとする希少性難治性疾患の厚生労働行政の基礎的資料として、活用されることが望まれる。

1. 研究目的

先天性大脳白質形成不全症は、遺伝性の中枢神経系髄鞘の形成不全を本態とする重篤かつ稀な神経疾患の一群である。代表的疾患として Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) が知られている。PLPI をはじめ、いくつかの原因遺伝子が同定され、病態が明らかになっているが、その一方で、臨床的には遺伝子検索はおろか診断未確定の患者も多いと考えられている。しかし、これまで、先天性大脳白質形成不全症の患者数や診断、治療、予後の現状など本邦における疫学的な知見が全くな

く、厚生労働行政の基盤となる情報が存在しなかった。そこで本研究では、全国疫学調査を実施することにより、本邦の先天性大脳白質形成不全症患者の実態を把握することを目的に、昨年度より調査を開始した。本年度は 2 年目となる。

2. 研究方法

全国実態調査の方法については、昨年度の報告書に詳細を記したので、ここでは概要のみとする。本研究は、研究代表者の所属施設での倫理審査を行い、承認を得た。さらに、日本小児

神経学学会から本研究に対する共同研究支援の指定を得た。対象は、小児神経科専門医を有する全国の医療・療育施設を中心に、大学病院小児科および全国の重症心身障害児施設などの計918施設に対して、抽出率100%でアンケートによる調査を行った。

調査は、一次調査と二次調査の二段階で行うこととした。一次調査では葉書による簡便な調査票により行い、罹患の有無を把握した。次に二次調査では、患者有りの施設に対して、個別に詳細な調査票を送付し、臨床実態情報の収集を行った。さらに、これらの症例に関して、希望があるものに関しては、遺伝子診断の推進、生体試料の登録を進める予定である。昨年度は、一次調査票の発送、回収、および集計と二次調査の発送、回収までを行った。今年度は引き続き、二次調査票の回収と集計、結果の解析を行った。

倫理審査、調査票の作成および送付に関しては、昨年度の報告書に詳細を記載したので、ここでは割愛する。

3. 研究結果

A. 調査結果について

二次調査票は、一次調査の結果に基づき、患者有りと回答が得られた施設に、患者の数分の二次調査票を送付し、封筒により返却する方法をとった。二次調査票では同一患者の複数施設での登録を避けるため、氏名のイニシャルと生年月、および住居の県名の記載を求めた。氏名、カルテ番号などの患者個人情報には医療機関で保存する対照表に記載してもらい、これの基づく通し番号のみを調査票に記載することにより、匿名化を行った。二次調査票はA4両面に、前述の基礎登録情報、診断、家族歴、遺伝子解析の有無、通院の状況、臨床症状、検査所見、臨床

経過、治療内容などの記載項目がある。

二次調査票の発送は、一次調査で患者有りと回答を得た95施設に対して164人分の調査票を平成22年2月に発送した。同月末を第一回期限としたが、年度末でもあり、十分な回収を得られなかったため、都合3回の督促を行い、H22年5月で回収を締め切った。

B. 二次調査の結果の概要

二次調査は、最終的に65.8%の回収率であった。108名の患者情報を収集することが出来た。回収率から、本邦における推定患者数は、230名となった。

108名の患者の平均年齢は、 11.8 ± 9.9 歳で、20歳未満が全体の83%を占めた。国勢調査(平成17年年)の結果をもとに算出した有病率は、 8.1×10^{-6} であった。これは、10万人に0.8人の頻度で患者が存在する計算になる。また、罹患率は、 1.6×10^{-5} であった。これは、出生10万人当たり、1.6人の頻度で、患者が生ずることになる。これまでに、世界的にも直接、先天性大脳白質形成不全症の患者数を全国レベルで調査した報告はないので、この数値は国際的にも非常に貴重と思われる。

男女比に関しては、男が85%、女が15%であった。これは、代表疾患であるPMDがX連鎖性であることにより、説明できる。

臨床診断に関しては、全体ではPMDが69%、PMLDが9%、その他の先天性大脳白質形成不全症が10%で、診断未確定が10%であった。男女別で見ると、男性患者においては、74%がPMDであった。残り16%は、ペリツェウス・メルツバッハ様病(PMLD)が5%、その他の先天性大脳白質形成不全症が8%で、13%が診断未確定で

あった。一方、女性患者は、PMD が 12%、PMLD25%、その他が 19%と分かれ、残りの 44%を診断未確定が占めた。

診断は、調査対象施設でつけられたものが 63%、他院で診断されたものが 27%、不明 10%であった。

家族歴は、77%の症例で認めず、弧発症例が思ったより多いことが明らかになった。

遺伝子解析が診断のために実施されている症例は、75%であり、未実施例の 18%を大きく上回った。全体の 45%で *PLP1* 遺伝子の変異が認められており、未施行、不明例を除くと先天性大脳白質形成不全症の約 7 割で *PLP1* 遺伝子が見いだされることがわかった。保因者診断は、18%の患者の家族において実施されていた。

遺伝カウンセリングへのアクセスが自施設内あるいは他施設にある施設は、全体の 62%であった。家族からの相談内容として、最も多いのが予後について、次が治療についてであった。その後、保因者診断と出生前診断についての質問が続いた。

その他、臨床症状や検査所見、治療と経過については、現在、解析途中であるので、後日追加にて報告とする。

4. 考察

全国疫学調査は、二次調査票の回収と集計を大方終え、その結果の全体像が明らかになった。

本調査の最も重要な統計値である推定患者数は、230 人であった。これは調査前の推測 (100~200 人) よりやや多い数であるが、大きく外れるものではなかった。これの数字に基づき、有病率と罹患率が初めて算出された。これらの計算には H17 年度の国勢調査の年齢別人口と出生数が利用されて

いるが、より正確な値の算出には H22 年度調査の結果を待たねばならない。

臨床診断に関しては、男性患者では、4分の3でPMDの診断となっており、残り4分の1では、その他の先天性大脳白質形成不全症あるいは未確定となっていた。遺伝子解析による確定診断はPMD以外では非常に少ないことを考えると、この25%の患者群については、遺伝学的な確定診断までついていない症例が多いと思われ、今後の分子遺伝学的解析の対象とすることにより、新たな進歩が切り開かれる可能性があると考えられる。

弧発例が4分の3以上と予想以上に多いことがわかった。これは、兄弟が少ないことや、*de novo* 変異が多いなど、いくつかの要因が考えられる。いずれにせよ、家族歴があることは、先天性大脳白質形成不全症においては、むしろ稀であることが明らかになった。

遺伝子解析の結果に関しては、予想通り、*PLP1* 遺伝子の変異が最も多かった。今後、臨床所見と合わせた詳細な解析を行っていく予定である。女性例では、遺伝子解析まで至っていない症例も多く、診断が困難であることが示唆された。今後、積極的な遺伝子解析の機会が増えれば、女性例の遺伝学的診断がすすむと期待される。

5. 結論

本邦で初めてとなる先天性大脳白質形成不全症の全国実態調査により、患者数、診断・治療の実態を明らかにした。今後、詳細な解析により、追加で明らかになる情報を含め、これらの情報は、今後、本疾患を始めとする希少性難治性疾患に関する厚生労働行政のための重要な資料となると思われる。また、今回の調査により見いだされた先天性大脳白

質形成不全症の患者の中には、確定診断に至っていない者も多くいると思われる。今後、本研究班で体制を整えていく *PLPI* 以外の遺伝子解析により、こういった症例の診断も可能になると思われる。

6. 研究発表

A. 論文発表

なし

B. 学会発表

(1) 井上 健、小坂 仁、黒澤健司、高梨潤一、山本俊至、岩城明子 先天性大脳白質形成不全症の診断と治療に向けた研究 第52回日本小児神経学会総会 2010年5月21日 博多

(2) 井上 健、岩城明子、小坂 仁、黒澤健司、高梨潤一、出口貴美子、山本俊至 先天性大脳白質形成不全症：難治性疾患克服研究事業による希少性疾患の統合的研究の推進 第55回日本人類遺伝学会総会 2010年10月30日 大宮

7. 知的財産権の出願・登録状況

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

先天性大脳白質形成不全症の疾患分類（改訂）

井上 健¹、小坂 仁²、黒澤健司³、高梨潤一⁴、山本俊至⁵、
出口貴美子¹、岩城明子⁶

1 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究第二部

2 神奈川県立こども医療センター 神経内科

3 神奈川県立こども医療センター 遺伝科

4 亀田メディカルセンター 小児科

5 東京女子医科大学 統合医科学研究所

6 九州大学 生体防御医学研究所

研究要旨

昨年度、我々は先天性大脳白質形成不全症の診断基準と治療指針を作成した。その中で、本疾患を10疾患に分類し、各疾患についての概要を記載した。本年度は、この疾患分類を改訂し、11疾患とした。追加された疾患は、2009年に本邦で初めて報告された小脳萎縮と脳梁低形成を伴うび慢性大脳白質形成不全症である。改訂版の診断基準と昨年度作成した治療指針は、本研究班のウェブサイトに掲載予定である。

1. 研究目的

これまで先天性大脳白質形成不全症の診断基準として、少なくとも本邦で公表されているものは存在しなかった。そのため、先天性大脳白質形成不全症患者の診断の確定のための情報が十分でなく、確定診断に至っていない患者も少なくないと思われる。特に近年その疾患概念が確立されてきた先天性大脳白質形成不全症も複数存在することから、これらの疾患について、その分類や鑑別についてまとめた診断基準の策定は、臨床現場に有効な情報を提供することができると考えられる。そこで本研究課題では、昨年度に最近の画像および遺伝学的解析の知見を加味した新たな先天性大脳白質形成不全症の診断基準を作成した。これにあわせて、現段階での対症療法を中心と

した治療に関するガイドラインも作成し、昨年度の報告書にて公表した。本年度は、この中の疾患分類に、新たな1疾患を追加し、これを改訂した。

2. 研究方法

疾患分類に、2009年に本邦で初めて報告された小脳萎縮と脳梁低形成を伴うび慢性大脳白質形成不全症を追加した。

3. 研究結果

改訂版の診断基準を作成した（参考資料II）。

4. 考察

小脳萎縮と脳梁低形成を伴うび慢性大脳白質形成不全症は、まだ報告例の数は少ないが、本研究班の班員も臨床上、経験しており、今後新たな疾患

概念として、確立され、疾患原因遺伝子の同定がなされることが期待される。他の先天性大脳白質形成不全症と区別するためにも、明確な分類は重要である。今後、この診断基準は、昨年度作成した治療指針と合わせて、本研究班のウェブサイトに掲載し、広く情報提供を行っていく予定である。

5. 結語

先天性大脳白質形成不全症に関する診断基準を改訂した。

6. 研究発表

A. 論文発表

なし

B. 学会発表

(1) 井上 健、小坂 仁、黒澤健司、高梨潤一、山本俊至、岩城明子 先天性大脳白質形成不全症の診断と治療に向けた研究 第52回日本小児神経学会総会 2010年5月21日 博多

(2) 井上 健、岩城明子、小坂 仁、黒澤健司、高梨潤一、出口貴美子、山本俊至 先天性大脳白質形成不全症：難治性疾患克服研究事業による希少性疾患の統合的研究の推進 第55回日本人類遺伝学会総会 2010年10月30日 大宮

7. 健康危険情報

特記事項無し

8. 知的財産権の出願・登録状況

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

患者家族を対象とした先天性大脳白質形成不全症の市民公開セミナーの実施

井上 健¹、小坂 仁²、黒澤健司³、西川智子³、高梨潤一⁴、山本俊至⁵、
出口貴美子¹、岩城明子⁶

- 1 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究第二部
- 2 神奈川県立こども医療センター 神経内科
- 3 神奈川県立こども医療センター 遺伝科
- 4 亀田メディカルセンター 小児科
- 5 東京女子医科大学 統合医科学研究所
- 6 九州大学 生体防御医学研究所

研究要旨

昨年度に引き続き、H22年度も先天性大脳白質形成不全症の患者家族やケアスタッフを対象にした市民公開セミナーを神奈川県立こども医療センターにおいて実施した。昨年度とほぼ同じ27家族を含む87人の参加者が、北海道から九州まで日本全国より集まった。昨年度同様に、前半は班員によるセミナー、後半は患者家族によるディスカッションの形式で行なった。本年度の特徴として、昨年度のセミナー以降に家族間の自主的なネットワークが構築され、本セミナーに関する情報や、講演内容の希望などがあらかじめ出るなど、家族の主体的な活動が見られた。また、正式に家族会を立ち上げるための具体的な準備に取りかかることが、家族の中で取り決められた。

1. 研究目的

先天性大脳白質形成不全症は、非常に希少な遺伝性の難治性疾患であり、患者の家族のみならず、主治医も疾患に関する詳細な情報を持ち合わせていないことが多く、患者家族は診療現場で不安を抱くことが少なくない。また、多くの患者家族が、相談や疾患に関する話題を共有したいと思っても、稀少疾患であるため、他の家族との交流を持つことが困難で、地域に孤立してしまう。また、疾患に関する知識も一般的には入手することが困難であること

から、患者の疾患の原因や治療法、ケアの方法や予後、遺伝カウンセリングなどについて知るための機会がなく、不安の多い生活を送らざるを得ないのが実情である。

そこで、我々は本研究班を立ち上げて研究を開始するにあたり、孤立している家族のコミュニティー形成の場として、またこの疾患の医療の現状や研究の進歩の状況について知ることが出来る場として、患者家族やケアスタッフを対象とした市民公開セミナーを開催することを計画した。そして昨年度、平成21年7月18日に、第1回市民

公開セミナーを神奈川県立こども医療センターにおいて開催した。この会では、予想を上回る30家族70人に及ぶ参加者があり、会議室が満員になる盛会であった。この際に、次年度の開催を希望する声が大きかったため、本年度の研究計画の作成に当たり、第2回の市民公開セミナーを行なうこととした。

2. 研究方法

年度はじめに、開催日時と場所を決定した。十分な人数の収容が可能であること、気切患者もいることから、万一の際の医療処置が可能であること、ボランティアスタッフを確保しやすいことなどの要因を考慮し、本年度も昨年度と同じ神奈川県立こども医療センターで開催することとした。また、日時も、患者家族が移動しやすい夏休み中が良いと判断し、昨年度と同時期の7月17日(土)とした。公開セミナー開催の知らせは、昨年度の会で家族のとりまとめ役にきまった家族代表に送り、さらにチラシを作成して、5月に行なわれた日本小児神経学会総会にて配布した。昨年度と同じ3名(後に4名に変更)の班員による講演内容についても、昨年度のセミナー後のアンケートを参考に、平易でわかりやすい内容にすることを事前確認した。また、家族の代表が取り上げてほしい内容に関するアンケートを行なったので、そのリクエストや諮問にも触れつつ講演を行うこととした。

会場は神奈川県立こども医療センター2階のセミナールーム(約100名収容)をメイン会場とした。講演はビデオ撮影し、これを隣の準備室に設置したテレビモニターで映し、ぐずったり泣いたりして途中でメインルームから出て行かざるを得ない家族も、そ

ちらで子供の面倒を見ながら講演を聴けるように配慮した。また、これとは別にマットを敷いた部屋も用意し、飽きた同胞の子供達が遊べるようにした。これらの部屋にはボランティアスタッフが常駐し、安全に対する配慮も行った。

3. 研究結果

当日は、27家族を含む87名の多数の参加者に恵まれた。第1部は、4人の班員による講演を1人約15分の持ち時間で行なった。最初の演者である小坂は、「診断のための検査と医療的ケア」と題し、疾患の概要についてQ&A形式でわかりやすく説明した。次に、高梨が「MRI検査でわかること」として、MRI画像診断の意義について実例をふまえつつ解説した。次に、黒澤が「こどもの健康と遺伝」と題して、遺伝についての考え方について実例を挙げてわかりやすく解説した。最後に、班長の井上が、セミナーの総括をしつつ、昨年度の研究班の成果について、特に実態調査に結果を報告し、合わせて治療法開発の世界の現状について、概要を説明した。

時間が押したこともあり、講演の後、短い休憩を挟んで、家族の懇親会として第2部に移った。第2部では、各家族が自己紹介と、自分が抱える問題について講演者などに質問するという形式で進められた。時間の制限など特別もうけなかったため、予定の時間を遙かに超過してしまっただが、多くの問題が浮き彫りにされ、非常に有意義であった。この中で指摘された問題点として、以下のことなどが挙げられた。

- 1) 患者が小児病院から内科に移行する成人の時期に、障害者手帳の手続き