

Figure 3. 長期間投与後の各臓器内銅濃度
 Normal; 正常マウス (n=8), macular DDW; macular マウス (n=19), CuCl₂+DDW, macular disulfiram; macular マウス (n=24), CuCl₂+disulfiram

今回、銅濃度測定結果において個体差が大きかったため外れ値統計を行った後有意差を検討した (Figure 4, 5)。その結果、短期間では小脳で正常マウスに比べマクラマウス対照群及び治療群で有意に低値を示した (Figure 4)。肝臓においてはマクラマウス対照群が正常マウス、マクラマウス治療群に比べ有意に低値を示した。

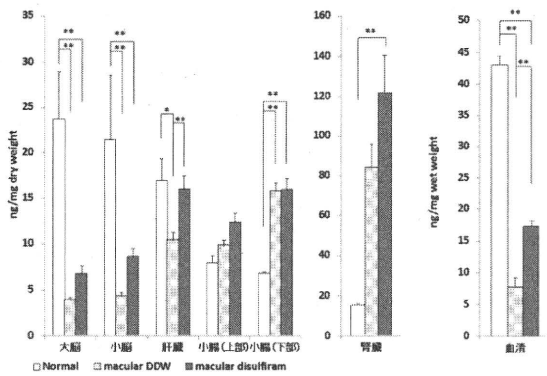


Figure 4. 外れ値を除いた短期間投与後の各臓器内銅濃度
 Normal; 正常マウス (大脳, 小脳 n=5, 肝臓, 腎臓 n=7, 小腸上, n=4, 血清 n=5), macular DDW; マクラマウス (大脳, 血清 n=15, 小脳, 肝臓, 小腸上, n=19), CuCl₂+DDW, macular disulfiram; マクラマウス (大脳, 小脳下, n=28, 小腸 n=20, 肝臓, 血清 n=22, 腎臓, 小腸上, n=24), CuCl₂+disulfiram

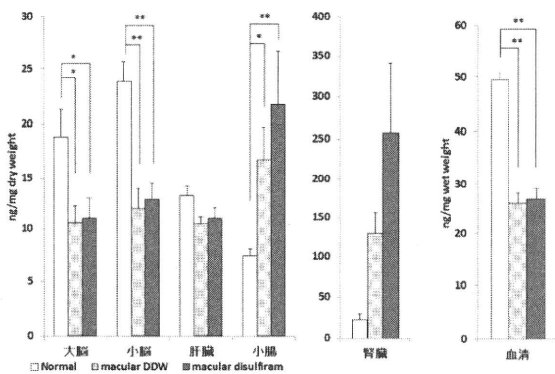


Figure 5. 外れ値を除いた長期間投与後の各臓器内銅濃度
 Normal; 正常マウス (小脳, 小腸 n=6, 大脳, 腎臓, 肝臓, 血清, n=7), macular DDW; マクラマウス (大脳, 小脳, 腎臓, 血清, 小腸 n=2, 肝臓 n=9), CuCl₂+DDW, macular disulfiram; マクラマウス (大脳, 小脳, 腎臓, 肝臓, n=9, 血清, 小腸 n=10), CuCl₂+disulfiram

長期間投与においては脳内においても正常マウ

スに比べマクラマウス対照群、治療群ともに有意に低値を示した (Figure 5)。

これらのことからマクラマウス治療群では短期間投与により血清中に銅が輸送されている可能性が考えられた。また、大脳、小脳は個体差が大きく、脳内についてはさらなる検討が必要である。腎臓、小腸における銅濃度結果はマクラマウスが正常マウスに比べ銅濃度が高値を示した。これは腎臓、小腸では ATP7A の機能不全により排出されない銅が蓄積していると考えられる。マクラマウス治療群での腎臓、小腸の銅濃度はマクラマウス対照群に比べて、さらに高くなった。

(3) 脳内 cytochrome c oxidase 活性

短期間投与及び長期間投与における脳内 cytochrome c oxidase 活性の測定を行った (Figure 6)。短期間、長期間ともに大脳、小脳において cytochrome c oxidase 活性に有意な差は認められなかった。

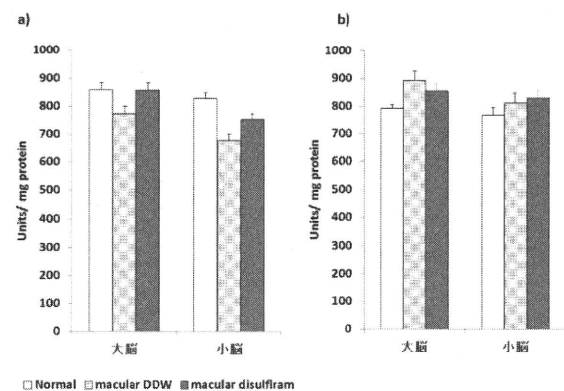


Figure 6. 脳内 cytochrome c oxidase 活性
 a) 短期間 b) 長期間 Normal; 正常マウス (n=6, 6), macular DDW; マクラマウス (n=6, 6), CuCl₂+DDW, macular disulfiram; マクラマウス (n=6, 6), CuCl₂+disulfiram

また、外れ値を抜かした統計においても同様の結果が認められた (Figure 7)。しかしながら、短期間投与においてマクラマウス対照群に比べマクラマウス治療群はその酵素活性が高い傾向が認められた。このことは disulfiram 投与により脳内の cytochrome c oxidase 活性が改善される可能性が考えられた。今後はさらなる検討が必要であると考えられる。

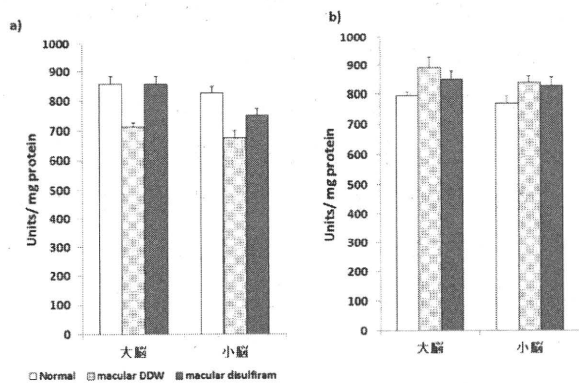


Figure 7. 外れ値を除いた脳内cytochrome c oxidase活性
 a) 短期間 b) 長期間 Normal: 正常マウス (n=6, 6),
 macular DDW: マクラマウス(短期n=5, 6, 長期n=9, 8), CuCl₂+DDW,
 macular disulfiram: マクラマウス(n=6, 8), CuCl₂+disulfiram

マクラマウスは銅治療により延命した際、生後6か月以降は正常マウスと脳内のCCO活性に違いが認められなくなることが報告されている。今回の研究においても同様に長期間投与におけるCCO活性に違いが認められなかった。

(4) 脳内カテコラミン測定

銅酵素のドーパミンβヒドロキシラーゼはドーパミンからノルアドレナリンへの代謝を行っている。Menkes病では銅の減少によりドーパミンβヒドロキシラーゼ活性が低下し、ドーパミンからノルアドレナリンへの代謝が障害され、ノルアドレナリン/ドーパミン比が低下することが知られている。また、ノルアドレナリンから作られるアドレナリン/ドーパミン比も同様に低下する。今回、ノルアドレナリン/ドーパミン比、アドレナリン/ドーパミン比を検出した (Figure 8)。

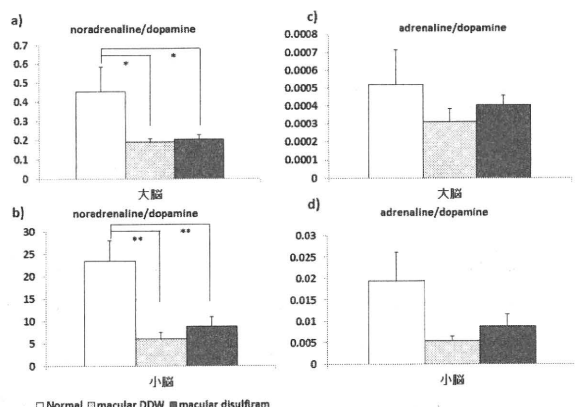


Figure 8. 短期間投与における脳内カテコラミン比
 a), b); Noradrenaline/dopamine, c), d); Adrenaline/dopamine Normal: 正常マウス (n=7),
 macular DDW: マクラマウス CuCl₂+DDW (n=7), macular disulfiram: マクラマウス CuCl₂+disulfiram (n=7)

短期間投与の脳、小脳におけるノルアドレナリン/ドーパミン比は正常マウスに比べマクラマウス対照群、マクラマウス治療群ともに有意に低下を示した。アドレナリン/ドーパミン比について

は有意な差は認められなかったがマクラマウス対照群に比べマクラマウス治療群でノルアドレナリン/ドーパミン比、アドレナリン/ドーパミン比ともに高い傾向が認められた。

長期間投与では正常マウスに比べマクラマウスで脳におけるノルアドレナリン/ドーパミン比、アドレナリン/ドーパミン比が優位に低かった (Figure 9)。

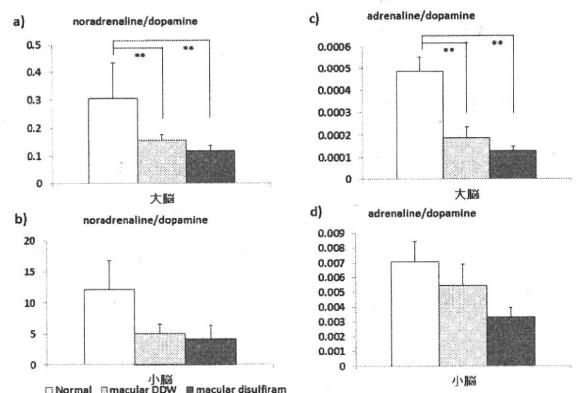


Figure 9. 長期間投与における脳内カテコラミン比
 a), b); Noradrenaline/dopamine, c), d); Adrenaline/dopamine Normal: 正常マウス (n=7),
 macular DDW: マクラマウス CuCl₂+DDW (n=9), macular disulfiram: マクラマウス CuCl₂+disulfiram (n=9)

外れ値を除いた検討では短期間では小脳のみでノルアドレナリン/ドーパミン比で有意差が認められた (Figure 10)。長期間投与では外れ値を除いた結果においても大脳で正常マウス群とマクラマウス対照群、マクラマウス治療群の間でノルアドレナリン/ドーパミン比、アドレナリン/ドーパミン比の有意差が認められた (Figure 11)。小脳においてはそのような差は認められなかった。

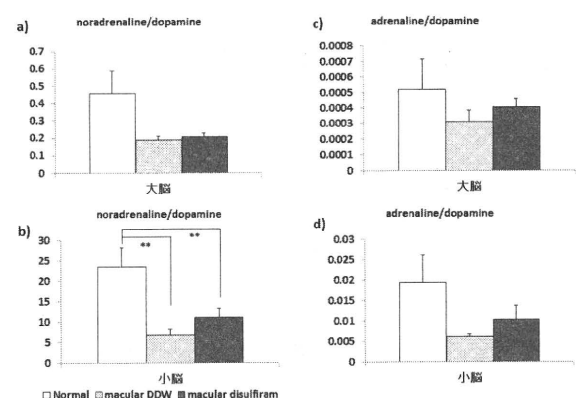


Figure 10. 外れ値を除いた短期間投与における脳内カテコラミン比
 a), b); noradrenaline/dopamine, c), d); Adrenaline/dopamine Normal: 正常マウス (n=6, 7),
 macular DDW: マクラマウス CuCl₂+DDW (n=6, 7), macular disulfiram: マクラマウス CuCl₂+disulfiram (n=5, 6, 7)

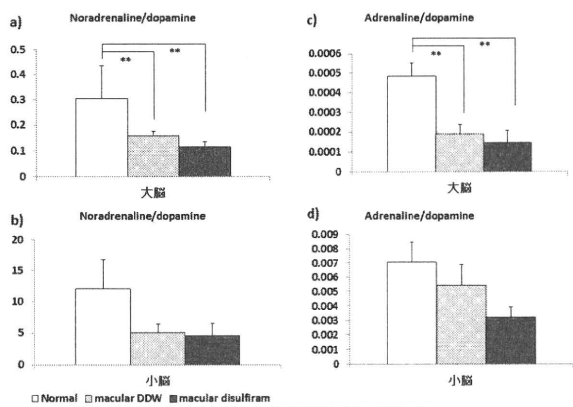


Figure 11. 外れ値を除いた長期間投与における脳内カテコラミン比
 a), b); Noradrenaline/dopamine, c), d); Adrenaline/dopamine Normal; 正常マウス (n=7),
 macular DDW; マクラマウス CuCl₂+DDW (n=9), macular disulfiram; マクラマウス CuCl₂+disulfiram (n=8, 9)

外れ値を検討することにより大脳におけるノルアドレナリン/ドーパミン比に違いが認められたことは大脳への銅の輸送には個体差があると考えられた。

(5) 肝機能、腎機能検査

肝機能、腎機能を調べるために AST、ALT、BUN、CRE をオリエンタル酵母に依頼して測定を行った (Figure 12)。

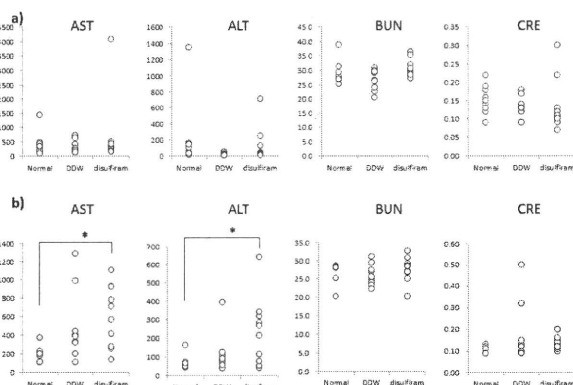


Figure 12. 肝機能、腎機能検査
 a); 短期間投与群 b); 長期間投与群, Normal; 正常マウス (短期 n=10, 長期 n=7),
 DDW; マクラマウス (短期 n=10, 長期 n=9) CuCl₂+DDW,
 disulfiram; マクラマウス (短期 n=10, 長期 n=10) CuCl₂+disulfiram

短期群ではマクラマウスの対照群および治療群とも AST、ALT は AST 1 の 1 検体を除いて正常であった。しかし長期群では、マクラマウス対照群においても AST 高値 (正常マウスの値の上限值より高い) が 9 検体中 5 検体、ALT 高値が 9 検体中 1 検体と異常値を示す率が高くなった。マクラマウス長期対照群でも肝機能に異常示す例が見られたことは、高齢による影響かもしれないと思われた。

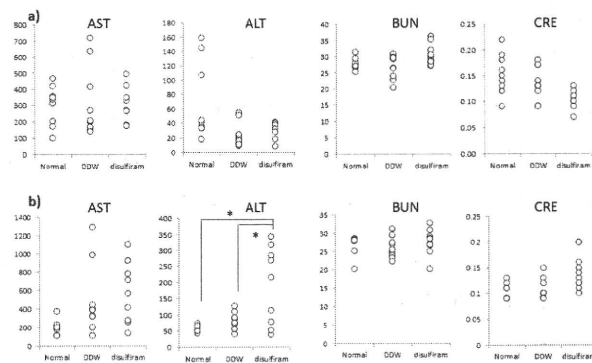


Figure 13. 外れ値を除いた肝機能、腎機能検査
 a); 短期間投与群 b); 長期間投与群, Normal; 正常マウス (短期 AST, ALT, BUN n=9, CRE n=10, 長期 AST, BUN, CRE n=7, ALT n=8),
 DDW; マクラマウス CuCl₂+DDW (短期 AST, ALT, BUN, CRE n=10, 長期 AST, BUN, ALT n=9, CRE n=7),
 disulfiram; マクラマウス CuCl₂+disulfiram 短期 AST, ALT n=7, BUN n=10, CRE n=8, 長期 AST, BUN, CRE n=10, ALT n=9)

外れ値を除いた結果においても ALT で有意差が認められたことから肝機能に何らかの影響があると考えられた (Figure 13)。しかしながら組織内銅濃度に違いが認められないこと、組織像において特に異常が認められなかったことから更なる検討が必要であると考えられる。腎機能に関してはマクラマウス治療群、マクラマウス対照群ともに異常は認められなかった。外れ値統計の結果より個体により ALT、AST ともにばらつきが認められた。これらは銅に対する臓器の耐性、薬剤に対する反応性などが関与していると考えられる。

D. 考察

今回、Menkes 病モデルマウスであるマクラマウスに銅の非経口投与と disulfiram の経口投与を併用投与しその効果を検討した。結果、disulfiram との併用投与により血清中銅濃度が有意に増加するとともに脳内へ銅が輸送された可能性が示唆された。また、銅酵素である cytochrome c oxidase 活性に対しても効果がある可能性が考えられた。長期間投与における判定はマクラマウスが銅治療により延命すると正常マウスと違いが認められなくなる性質があることからさらなる検討が必要であると思われる。また、短期間投与では有意な効果が出ないものもあったがマクラマウス対照群に比べ効果が期待できる傾向が認められたことからさらに条件検討が必要である。今回データについて外れ値についての検討も行ったが外れ値の有無により有意差が異なったことから個体差が大きい可能性が考えられた。

E. 結論

今回の研究結果からマクラマウスに対する disulfiram と銅の併用投与による新規治療法は効果が期待される結果が得られたが、さらに検体数を増やすことが必要であると考えられた。

F. 健康危険情報

無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

投稿予定

2. 学会発表

1. ワッタナポン ペットパラシット、吉野 美香、藤澤 千恵、小川 英伸、児玉浩子. Effect of copper and Disulfiram combination therapy on the macular mouse, an animal model of Menkes disease. 第 52 回日本先天代謝異常学会総会・第 9 回アジア先天代謝異常症シンポジウム、2010 年 10 月 21 日-23 日、大阪国際会議場
2. ワッタナポン ペットパラシット、吉野 美香、藤澤 千恵、小川 英伸、児玉浩子. Effect of copper and Disulfiram combination therapy on the macular mouse, an animal model of Menkes disease. 第 2 回メタロミクス研究フォーラム、2010 年 11 月 2 日-3 日、京都薬科大学.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究課題：「Menkes病の新規治療の治療効果とmicroPETを用いた分子イメージングの研究」

分担研究者

新宅 治夫（大阪市立大学小児科・教授）

研究協力者

武田 泰輔（大阪市立大学小児科・大学院）

野村 志保（大阪市立大学小児科・大学院）

二宮 英二（大阪市立大学小児科・大学院）

若原 良平（大阪市立大学小児科・病院講師）

藤岡 弘季（大阪市立大学小児科・非常勤講師）

野崎 聡（理化学研究所・研究員）

和田 康弘（理化学研究所・研究員）

渡辺 恭良（理化学研究所・チームリーダー）

研究報告

研究要旨

今回我々はメンケス病に対する、銅・ジスルフィラム併用療法の効果を microPET imaging による動物実験で検討した。C3H/He マウス及びメンケス病モデルマウスであるマクラマウスを使用した。① C3H/He マウス、ジスルフィラム投与あり、② C3H/He マウス、ジスルフィラム投与なし③マクラマウス、ジスルフィラム投与あり、④マクラマウス、ジスルフィラム投与なしの 4 群にマウスを分け、①と③ではジスルフィラム腹腔内投与 30 分後に $^{64}\text{CuCl}_2$ を尾静脈から投与した。②と④では $^{64}\text{CuCl}_2$ のみを投与した。 $^{64}\text{CuCl}_2$ 投与直後から 4 時間連続、および 24 時間後から 1 時間 microPET 装置にて撮像した。結果、④群ではマウス脳でほとんど取り込みがみられず、②群では一定の取り込みが認められた。①群と③群では著明に $^{64}\text{CuCl}_2$ 取り込みが同程度に増加していた。microPET という新しいモダリティを用いた実験でメンケス病に対する銅・ジスルフィラム併用療法の効果を確認した。①と③の取り込みは同程度であることから、ATP 7A の機能にかかわらず、ジスルフィラムは脳の銅取り込みを改善すると考えられた。

A. 研究目的

メンケス病に対する、銅・ジスルフィラム併用療法の効果を microPET を用いて解析する。microPET というモダリティを用いることで、画像的にかつ、銅の体内動態について解析する

B. 研究方法

$^{64}\text{CuCl}_2$ を尾静脈から投与した。②と④では $^{64}\text{CuCl}_2$

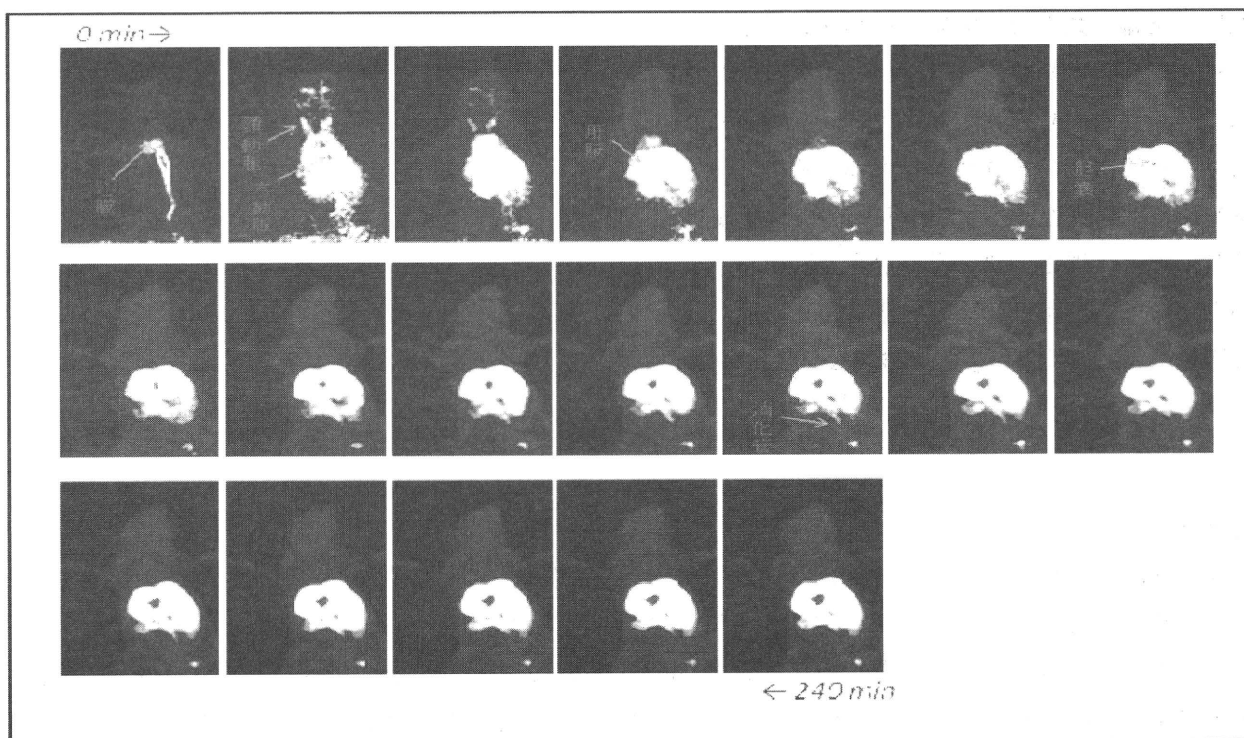
C3H/He マウス及びメンケス病モデルマウスであるマクラマウス（帝京大学から供与）を使用した。① C3H/He マウス、ジスルフィラム投与あり② C3H/He マウス、ジスルフィラム投与なし③マクラマウス、ジスルフィラム投与なし④マクラマウス、ジスルフィラム投与なしの 4 群にマウスを分け、①と③ではジスルフィラム腹腔内投与 30 分後にのみを投与した。 $^{64}\text{CuCl}_2$ 投与直後から 4 時間連続、

および 24 時間後から 1 時間 microPET (Focus220, Siemens, USA) にて撮像した。撮影終了後に解剖し、脳をスライスして、imaging plate にて *in vitro* でも解析した。

C. 研究結果

投与された $^{64}\text{CuCl}_2$ は尾静脈から静脈系を介して、心臓へ入り、その後心臓から全身に駆出された。その後ほとんどの銅は肝臓へ蓄積し、一部は

胆汁への排泄がみられた (図)。脳での $^{64}\text{CuCl}_2$ 取り込みは直後から上昇しはじめて、24 時間後もまだわずかに増加していた。脳内での銅取り込みの解析では、④群ではマウス脳でほとんど取り込みがみられず、②群では一定の取り込みが認められ、脳室内に多くみられた。①群と③群では著明に $^{64}\text{CuCl}_2$ 取り込みが同程度に増加していた。 *In vitro* での解析でも同様な結果が得られた。



無し。

D. 考察

microPET という新しいモダリティを用いた実験でメンケス病に対する銅・ジスルフィラム併用療法の効果を確認した。ATP 7A の機能にかかわらず、ジスルフィラムは脳の銅取り込みを改善すると考えられた。

E. 結論

今後さらなる検討が必要であるが、microPET を用いた、分子イメージング技術より全身臓器での銅動態をとらえることができることが期待できた。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

無し。

2. 学会発表

- 1) Hiroki Fujioka, Taisuke Takeda, Shiho Nomura, Eiichi Ninomiya, Chie Fujisawa, Hiroko Kodama, Haruo Shintaku Effect of disulfiram on mental status with a patient of Menkes Disease. the 2010 SSIEM Annual Symposium Istanbul, Turkish, Aug 31-Sep 3 2010
- 2) Haruo Shintaku, Development of dopanime

neurons and serotonin neurons in an aspect of neurobiochemistry. 11th International Child Neurology Conference, Cairo, Egypt · May 2-7, 2010

- 3) 武田泰輔, 野村志保, 二宮英一, 藤岡弘季, 野崎聡, 和田康弘, 渡辺恭良, 新宅治夫:
microPET imagingによるヒスチジン銅、ジスルフィラム併用療法の効果検討、第55回日本未熟児新生児学会、神戸、2010.11.5-7

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し

研究課題：「Menkes病患者皮膚線維芽細胞のLOX活性に対する
Diethylthilcarbamate (DEDTC) の効果の検討」

分担研究者

藤澤 千恵（帝京大学小児科・Research Fellow）

研究報告

研究要旨

今回、ヒト線維芽細胞を用いて disulfiram の細胞に対する効果を検討した。Menkes 病患者皮膚線維芽細胞及び正常皮膚線維芽細胞に銅と disulfiram を添加、培養上清中の lysyl oxidase 活性を測定した。その結果、disulfiram 添加により lysyl oxidase の活性が上昇した。このことより、disulfiram は細胞内に蓄積した銅酵素を分泌、活性化する可能性が示唆された。

A. 研究目的

Menkes 病患者皮膚線維芽細胞は ATP7A 機能不全により細胞内に銅を蓄積し、細胞内から銅が分泌されない。また、銅酵素である lysyl oxidase も同様に細胞内から細胞外へと分泌されないため、患者では lysyl oxidase 活性が低下する。本研究では disulfiram により細胞内に蓄積した銅を細胞外へ輸送すると仮定し、lysyl oxidase 活性の測定を行った。

B. 研究方法

(1) 皮膚線維芽細胞培養

帝京大学ですでに採取、培養した後保存した皮膚線維芽細胞を 10%FBS 添加 DMEM 培地にて 80% confluent となるまで培養を行った。80% confluent の細胞は 50 µg/ml ascorbic acid 含有 phenol red free DMEM に DEDTC 0.2 µM を添加及び無添加で 48 時間培養した。培養上清は lysyl oxidase assay に使用した。

(2) lysyl oxidase assay

培養上清 750 µl に assay buffer 1,250 µl (0.05 M sodium borate pH8.2, 1.2M Urea, 1,5-diaminopentane 10mM, Amplex Red 10mM, with /without BAPN 500 mM) を添加、Ex 463 nm, Em 483 nm で測定を行った。各細胞上清中 lysyl

oxidase 活性は BCA により測定した細胞タンパク質あたりで換算を行った。

(3) 銅濃度測定

回収した細胞溶液を用いて銅濃度測定を行った。細胞を 1mlDDW で混濁、超音波処理した。細胞溶液 500 µl に濃硝酸 150 µl を添加、濃縮乾固、2N 硝酸 1ml を添加、測定溶液とした。測定溶液は日立 Z-2100 にて測定を行った。

(4) 患者データ

Table 1 に患者データを示す。

Table 1. 患者データ

	Pt1	Pt2	Pt3	Pt4
生年月日	2009/8/29	1989/5/10	2009/11/9	1997/8/6
在胎	38w4d		36w4d	38w2d
出生時体重	2970		2536	2556
銅	17	8	24	16
セルロプラスミン	5.6	9	8.4	11
遺伝子変異	No analyze	C644T	C4060G	C3101T
		3ナンセンス	20ミスセンス	15ナンセンス
毛髪異常	あり			やや褐色
家族病歴	母方伯父	兄弟	あり	母方伯父
初起症状	生後2ヵ月:嘔吐、哺乳不良、低体温		出生後多呼吸	生後1日:血便、呼吸器障害
脳検査	2ヵ月:硬膜下血腫		脳血管蛇行	大脳動脈蛇行
	4ヵ月:脳萎縮			

C. 研究結果

Menkes 病患者線維芽細胞及び正常ヒト線維芽細胞培養上清中 lysyl oxidase 活性の測定を行った。Menkes 病患者は銅を有効に取り込めないこと

から銅酵素である lysyl oxidase 活性が低いことが知られている。今回測定した結果、培養上清中の lysyl oxidase 活性が Menkes 病患者線維芽細胞で低かった (Figure 1)。

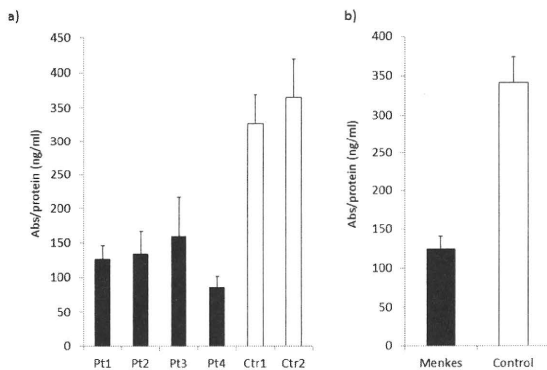


Figure 1. 細胞上清中LOX活性
Pt1~Pt4; Menkes disease fibroblasts, Ctr 1, 2; control fibroblasts

Menkes 病患者線維芽細胞上清中 lysyl oxidase 活性はどの患者においても低かったが患者によってその酵素活性に違いが認められた。

今回の研究で我々は Menkes 病患者に対する新規治療として disulfiram と銅の併用療法を検討している。Disulfiram は難水溶であるため diethyldithiocarbamate (DEDTC) を用いて線維芽細胞への作用を検討した。DEDTC 濃度は細胞障害を引き起こさない濃度で添加を行った。DEDTC の作用により Menkes 病患者線維芽細胞培養上清中 lysyl oxidase 活性が上昇した (Figure 2)。

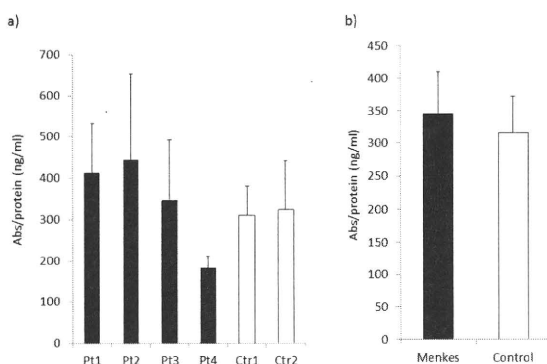


Figure 2. DEDTC刺激後の細胞上清中LOX活性
Pt1~Pt4; Menkes disease fibroblasts, Ctr 1, 2; control fibroblasts

DEDTC 無添加では Menkes 病患者線維芽細胞は正常線維芽細胞に比べて有意に lysyl oxidase 活性が低かったが DEDTC 添加により差がなくなった。患者別にその活性の上昇を確認したところどの患者においても DEDTC 添加による lysyl oxidase 活

性の上昇が認められた (Figure 3)。

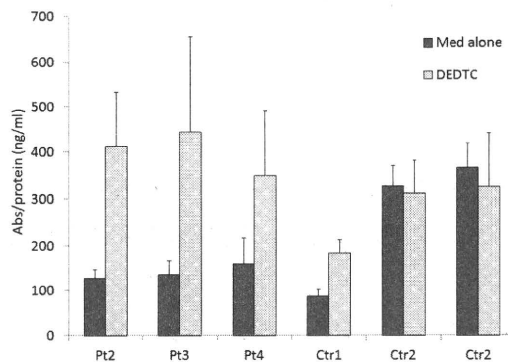


Figure 3. DEDTC添加によるlysyl oxidase活性の変化
Pt1~Pt4; Menkes disease fibroblasts, Ctr 1, 2; control fibroblasts

また、正常ヒト線維芽細胞においては DEDTC による lysyl oxidase 活性の上昇は認められなかった。Menkes 病患者線維芽細胞は ATP7A 機能不全のため銅が細胞外に抽出されないことから細胞内銅濃度が高いことが知られている。今回使用した細胞における細胞内銅濃度の測定を行った (Figure 4)。

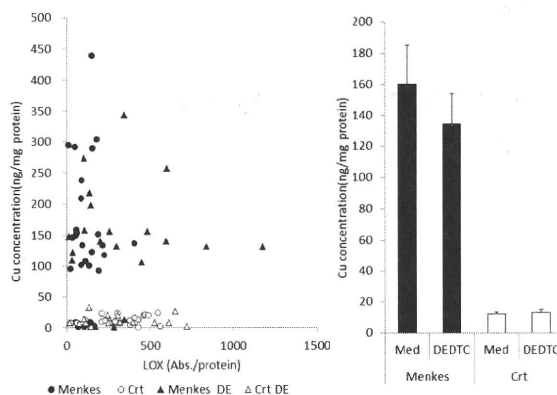


Figure 4. 銅濃度とLOXの関係

Menkes 病患者線維芽細胞における銅濃度は正常ヒト線維芽細胞に比べ有意に高値を示した。また、その細胞内銅濃度は DEDTC により減少する傾向が認められたが有意な差は認められなかった。

D. 考察

今回、Menkes 病患者線維芽細胞に DEDTC を添加培養した結果、lysyl oxidase 活性の上昇が認められた。このことから細胞内の銅が DEDTC により細胞外へと分泌された可能性が考えられる。しかしながら細胞内銅濃度は DEDTC 添加による有意な減少は認められなかったことから更なる検討が必要である。また、Menkes 病患者線維芽細胞は患

者により lysyl oxidase 活性が異なったことは患者の ATP7A 機能の残存性に関与していると考えられた。

E. 結論

本研究結果は disulfiram が生体内で細胞に対して有効に働き、銅酵素活性をあると考えられた。しかしながら、患者に対する効果にばらつきが考えられることから更なる検討が必要である。

F. 健康危険情報

無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

無し。

2. 学会発表

無し。

H. 知的財産権の出願・登録状況

無

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kodama H, Fujisawa C, Bhadhprasit W	Pathology, clinical features and treatments of congenital copper metabolic disorders -focus on neurologic aspects	brain dev.	33 (3)	243-251	2011
Kodama H, Fujisawa C, Bhadhprasit W	Inherited Copper Transport Disorders: Biochemical Mechanisms, Diagnosis, and Treatment.	Current Drug Metabolism	in press		
Katsumata K, Ogawa E, Fujiwara I, Fujikura K	Novel CYP17A1 mutation in a Japanese patient with combined 17 α -hydroxylase/17,20-lyase deficiency	Metabolism Clinical and Experimental	59	275-278	2010
Doi K, Haga T, Shintaku H, Kawano S	Development of coarse-graining DNA models for single-nucleotide resolution analysis Extended use and long-term storage of newborn screening spots in Japan.	Philos Transact A Math Phys Eng Sci.	13:368(1920)	2615-28	2010
Fujii C, Sato Y, Harada S, Kagake N, Gu YH, Kato T, Shintaku H, Owada M, Hirahara F, Umehashi H, Yoshino M	Extended use and long-term storage of newborn screening spots in Japan.	Pediatr Int.	52(3)	393-739	2010
Adachi M, Muroya K, Asakura Y, Kurosawa K, Nishimura G, Narumi S, Hasegawa T.	Ruvalcaba syndrome revisited.	Am J Med Genet Part A	152A	1854-1857,	2010
Tsuyusaki Y, Yoshimashi H, Furuya N, Adachi N, Osaka H, Yamamoto K, Kurosawa K.	1p36 deletion syndrome associated with Prader-Willi-like phenotype.	Pediatr Int	52	547-550	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Osaka H, Hamanoue H, Yamamoto R, Nezu A, Ssaki M, Saitu H, Kurosawa K, Shimbo H, Matsumoto N, Inoue K	Disrupted SOX10 regulation of GJB2 transcription causes Pelizaeus-Merzbacher-like disease.	Ann Neurol	68	250-254	2010
Hayashi S, Imoto I, Aizu Y, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Okamoto N, Honda S, Araki S, Mizutani S, Numabe H, Saitoh S, Koshino T, Fukushima Y, Mitsubuchi H, Endo F, Chinen Y, Kosaki R, Okuyama T, Ohki H, Yoshihashi H, Ono M, Takada F, Ono H, Yagi M, Matsumoto H, Makita Y, Hata A, Inazawa J	Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies	J Hum Genet		Epub ahead of print	2010
Komatsuzaki S, Aoki Y, Niihori T, Okamoto N, Hennekam RC, Hopman S, Ohashi H, Mizuno S, Watanabe Y, Kamasaki H, Kondo I, Moriyama N, Kurosawa K, Kawame H, Okuyama R, Imaizumi M, Rikiishi T, Tsuchiya S, Kure S, Matsubara Y	Mutation analysis of the SHOC2 gene in Noonan-like syndrome and in hematologic malignancies	J Hum Genet		Epub ahead of print	2010

Tsuji M, Takagi A, Sameshima K, Iai M, Yamashita S, Shinbo H, Furuya N, Kurosawa K, Osaka H	5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase deficiency with progressive polyneuropathy in an infant	Brain Dev		Epub ahead of print	2010
Saito Y, Kubota M, Kurosawa K, Ichihashi I, Kaneko Y, Hattori A, Komaki H, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M	Polymicrogyria and infantile spasms in a patient with 1p36 deletion syndrome	Brain Dev		Epub ahead of print	2010
Shimizu N, Fujiwara J, Ohnishi S, Sato M, Kodama H, Kohsaka T, Inui A, Fujisawa T, Tamai H, Ida S, Itoh S, Ito M, Horiike N, Harada M, Yoshino M, Aoki T	Effects of long-term zinc treatment in Japanese patients with Wilson disease: efficacy, stability, and copper metabolism	Transl Res	156	350-357	2010
Fujii C, Sato Y, Harada S, Kakee N, Gu YH, Kato T, Shintaku H, Owada M, Hirahara F, Umehashi H, Yoshino M.	Attitude to extended use and long-term storage of newborn screening blood spots in Japan	Pediatr Int.	52(3)	393-397	2010
Gu YH, Kato T, Harada S, Inomata H, Aoki K	Time Trend and Geographic Distribution of Treated Patients with Congenital Hypothyroidism Relative to the Number of Available Endocrinologists in Japan.	The Journal of Pediatrics.	157(1)	53-157	2010
清水教一	Wilson病	小児診療.	73 Suppl	518-519	2010
清水教一	微量元素代謝異常症	小児内科	42	1195-1199	2010
顧 艶紅、張 霆、加藤忠明	神経管閉鎖障害の発症要因と予防: 中国現地調査と文献考察	小児保健研究	69(1)	85-90	2010

顧 艶紅、小林弘典、加藤忠明、長谷川有紀、原田正平、山口清次	Two - Source Capture Recapture Methodを用いた日本におけるメチルマロン酸血症の発症率及び小児慢性特定疾患治療研究事業での登録率の検討	日本マス・スクリーニング学会誌	20(1)	33-37	2010
竹原健二、原田正平、加藤忠明、顧艶紅、鈴木恵美子、渡辺倫子、南谷幹史	わが国の新生児マス・スクリーニングに関する実態調査—精密検査対象者に対する受診勧奨・受診確認は適切におこなわれているか?	日本マス・スクリーニング学会誌	20(1)	39-43	2010
竹原健二、原田正平、加藤忠明、顧艶紅、鈴木恵美子、渡辺倫子、南谷幹史	わが国における新生児マス・スクリーニングで発見された陽性者に対する追跡調査の実施状況	日本マス・スクリーニング学会誌	20(1)	45-51	2010
竹原健二、原田正平、渡辺倫子、鈴木恵美子、顧艶紅、加藤忠明	各自治体における先天性代謝異常等検査実施要綱の記載内容に関する研究	日本マス・スクリーニング学会誌	20(3)	235-240	2010
黒澤健司	神経線維腫症1型における分子細胞遺伝学的スクリーニング	日レ病会誌	1	35-37	2010

資料

1. メンケス病友の会開催資料
2. 1次アンケート調査 送付資料
3. 2次アンケート調査送付資料
4. 合同シンポジウム

メンケス病家族会（関西支部）開催について

拝啓

秋冷の候、ますます御健勝のこととお慶び申し上げます。

10月21-23日に大阪で日本先天代謝異常学会が開催されます。この機会に、メンケス病家族会（関西支部）（仮題）が開催されることとなりました。

日程、開催場所をお知らせ致します。お時間の都合がございましたら是非ご参加ください。

メンケス病患者さんは、発達の遅れ、痙攣、膀胱憩室、血管異常など様々な障害をお持ちです。御家族が集まり、困っていることなどを相談することは大変有意義と思います。また、メンケス病患者さんに新しい治療も試みられています。新しくHPを開設いたしましたのでぜひご覧ください。（<http://www.pediatric-world.com/menkes/index.html>）

敬具

児玉浩子（帝京大学小児科）

新宅治夫（大阪市立大学小児科）

メンケス病親家族会（関西支部）（仮題）

開催日：平成22年10月24日（日）

時間：12時～15時（予定）

開催場所：大阪市立大学医学部学舎 18階会議室

住所：〒545-8585 大阪市阿倍野区旭町1-4-3

プログラム

12:00 開会の挨拶 児玉浩子（帝京大学小児科教授）

12:10 昼食と自己紹介

13:00 講演 児玉浩子

14:00 講演 新宅治夫

14:15 総合討論

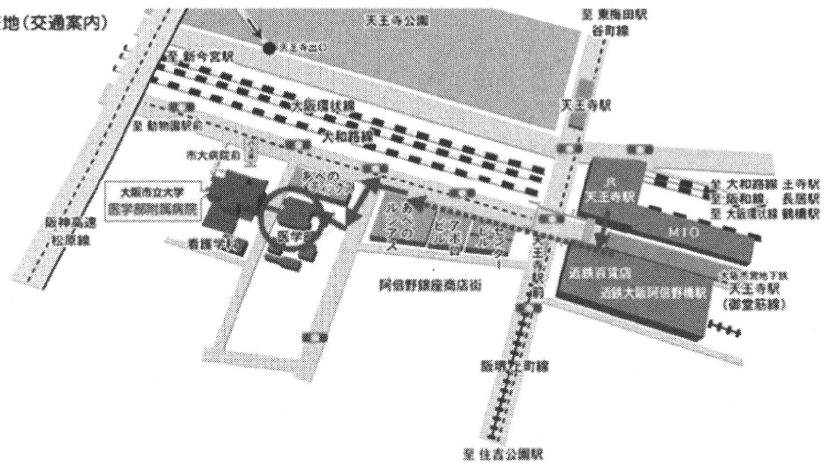
15:00 閉会の挨拶 新宅治夫（大阪市立大学小児科教授）

連絡先：帝京大学小児科 児玉浩子

電話：03-3964-1211

メールアドレス：nanchi22@med.teikyo-u.ac.jp

所在地(交通案内)



○大阪市営地下鉄「天王寺駅」御堂筋線・・・西改札を出て直進。地下道を「あべのルシアス」まで行き、直進つきあたりの階段を地上に出て下さい。(徒歩7分)

○JR西日本「天王寺駅」大阪環状線・阪和線・関西空港線・・・中央改札口を出て左へ。地下への階段を下り、右へ(左手は地下鉄御堂筋線改札口)。地下道を「あべのルシアス」まで行き、直進つきあたりの階段を地上へ出て下さい。(徒歩8分)

平成 22 年 11 月 11 日
帝京大学医学部小児科
児玉 浩子

Menkes 病・occipital horn 症候群の実態に関する調査のお願い

拝啓

初秋の候、ますます御健勝のこととお慶び申し上げます。

今年度、厚生労働省の研究として、「Menkes 病・occipital horn 症候群の実態調査、早期診断基準確立、治療法開発」が採択されました。研究班の活動の一つとして、各関連医療施設等を対象に、患者の臨床実態を目的とした質問紙調査を行うこととなりました。

ご周知の通り、Menkes 病・occipital horn 症候群は稀な疾患であるため、現在有効な治療法はまだ確立されていません。現行の治療法・ヒスチジン銅の皮下注射は神経症状発症後では、神経障害に全く効果がなく、結合異常にも効果がありません。有効な治療法を探るために、国内外での Menkes 病・occipital horn 症候群の現状を明らかにしたいと考えています。

ご多忙のおり、大変恐縮でございますが、本調査にご協力いただけますようお願い申し上げます。同封した調査票にご記入いただき、同封されている封筒にて、**11 月 30 日までに**帝京大学小児科遺伝代謝研究室までご返送いただければ幸いです。重複した場合は返信用封筒に重複した用紙を同封してお送り頂きたくお願い申し上げます。すでに書類が到着し、ご返送されていたら申し訳ございません。

御回答いただきました調査結果は、本研究班の基礎資料として使われるほか、学会やホームページなどでの発表という形で活用させていただきます。調査結果の公表に際しましては、個々の施設名は伏せた状態で公表いたします。また、調査結果はご協力いただきました皆様にもフィードバックさせていただく予定です。

何かご不明な点などございましたら、下記の連絡先までお問い合わせいただけますようお願いいたします。

敬具

厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服事業（H22-難治-一般-216）

研究代表者 児玉浩子（帝京大学医学部小児科）
研究分担者 小川英伸（帝京大学医学部小児科）
藤澤千恵（帝京大学医学部小児科）
新宅治夫（大阪市立大学大学院医学研究科小児科）
清水教一（東邦大学医学部小児科）
黒澤健司（地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立こども医療センター）
顧艶紅（独立行政法人国立成育医療研究センター研究所）

連絡先

〒173-8605 東京都板橋区加賀 2-11-1
帝京大学医学部小児科 遺伝代謝研究室
児玉浩子、藤澤千恵
TEL:03-3964-1211 内線：1494 FAX:03-3579-8212
E-mail: nanchi22@med.teikyo-u.ac.jp

平成 22 年 9 月 15 日

御 依 頼

日本小児神経学会会員各位：

先生には益々ご健勝で御活躍のことと存じます。

さて小児神経学会共同研究支援委員会では下記研究の支援を行っています。

本委員会は学会員の研究を支援し、その成果で患者に対して治療として還元ができることを願っております。

本研究が発展し新たな研究成果を得るためには、会員の皆様の積極的なご協力が不可欠です。児玉浩子先生の研究申請課題について御協力のほどよろしくお願いいたします。

研究課題番号	10-07
申請者氏名	児玉 浩子
所属機関：	帝京大学医学部小児科 〒173-8606 東京都板橋区加賀 2 丁目 11-1 電話 03-3964-1211 FAX 03-3579-8212 E-mail hkodama@med.teikyo-u.ac.jp
研究課題名	Menkes 病・occipital horn 症候群の実態調査、 早期診断基準確立、治療法開発
依頼内容	学会員による調査票の記入と返送。

日本小児神経学会共同研究支援委員会

委員 一同

委員長 杉江 秀夫

日本小児神経学会

理事長 大澤 真木子

平成22年度厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

「Menkes病・occipital horn症候群に関する実態調査票」

研究代表者：児玉浩子（帝京大学医学部小児科）

ご回答者の所属、氏名等について、お伺いします

施設名：

所属部署名：

ご回答者氏名：

連絡先：TEL：

FAX：

以下の質問について、当てはまる項目の後ろにある（ ）に○を書いてください。

質問1. 過去約10年間でMenkes病（MD）またはoccipital horn症候群（OHS）の患者を診療したことがありますか。

1) ある（ ） → 質問2へ

2) 疑わしい患者を診療した（ ） → 質問2へ

3) なし（ ） これで終わりです。ご協力いただき、誠にありがとうございました。

“なし”と回答された先生も御返信をお願いします。

統計処理に不可欠ですので、よろしく願い申し上げます。

質問2. 当該の患者は何名でしょうか？

1) 1人（ ）

2) 2人（ ）

3) 3人（ ）

4) 4人（ ）

5) 5人及びそれ以上（ ）

質問3. 現在の当該の患者の状況について、伺います。どちらかに○をつけて下さい。わかる範囲でご記入下さい。

	頭文字 (名、性)	性別	MD 又は OHS	診断	生年月日	現在の状態 (生存、死亡、不明)	備考【カルテ 番号など】
1		男 女	MD OHS	診断 疑		生 死 不明	
2		男 女	MD OHS	診断 疑		生 死 不明	
3		男 女	MD OHS	診断 疑		生 死 不明	
4		男 女	MD OHS	診断 疑		生 死 不明	
5		男 女	MD OHS	診断 疑		生 死 不明	
6		男 女	MD OHS	診断 疑		生 死 不明	

(コメント：

) 裏へ続く