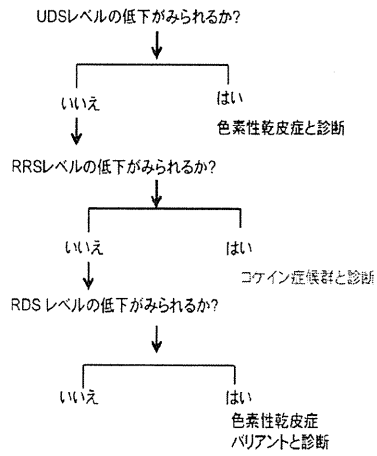


図1 色素性乾皮症およびコケイン症候群の簡易細胞診断方法



Itoh, T. et al, J. Invest. Dermatol. 1996

図2 DNA合成回復試験による細胞診断

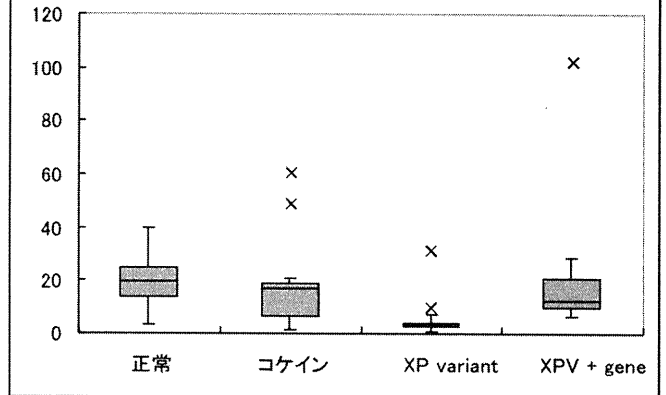
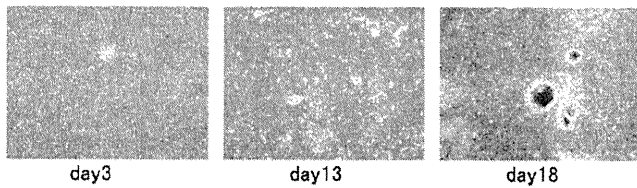
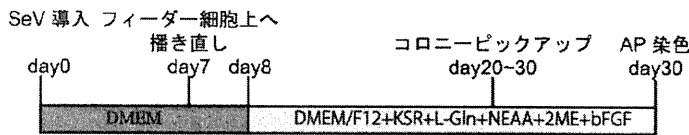


図2 DNA合成回復試験による細胞診断

各細胞に 15J/m² の UV を照射し 1mM のカフェイン存在下で6時間培養後に、培地に EdU を加えて2時間培養する。細胞に取り込まれた EdU を蛍光顕微鏡で可視化し、ImageJ を用いて定量した。

図3 SeVベクターによるiPS細胞誘導



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

9. 大脳基底核石灰化症の検討

10.

熊田 聡子 東京都立神経病院神経小児科 医長

研究要旨

コケイン症候群に類似する大脳基底核石灰化を示し、既知の疾患概念に該当しない2症例について検討した。第1例は、精神発達遅滞、低身長、痙性対麻痺、末梢神経障害を示し、6歳より頭部CT上大脳基底核と橋の石灰化が認められた。コケイン症候群の非典型例である可能性が考えられた。第2例は、小児期には非進行性の知的障害を示したが、20代より急激に錐体外路症状と認知症が進行した。頭部CTでの大脳基底核石灰化に加え、頭部MRIにて黒質に特異な所見を認めた。新しい脳内鉄沈着症であると考えた。両例とも遺伝子解析を予定している。これらの症例の診断や病態に関する研究が、コケイン症候群のさらなる病態解明の手がかりとなると思われる。

熊田 聡子 東京都立神経病院神経小児科 医長

A. 研究目的

コケイン症候群は頭部CT上大脳基底核の石灰化を特徴とする。同様の所見を示す疾患には、副甲状腺機能低下症、ミトコンドリア病、Fahr病、椎体骨軟骨異形成、先天感染症が挙げられるが、原因の明らかにできない症例も多い。今回は、既知の疾患概念に当てはまらない大脳基底核石灰化症2例の診断について検討した。

B. 研究方法

東京都立神経病院にて診療している症例の中で、原因不明の大脳基底核石灰化を示した2例の臨床経過ならびに検査所見を明らかにし、診断について考察する。

（倫理面への配慮）研究及び研究結果の発表にあたっては、患者のプライバシー保護に十分配慮する。

C. 研究結果

【症例1】9歳女児。弟に精神発達遅滞と低身長あり。本児には先天性声門下狭窄があり4歳まで気

管切開。精神発達遅滞、構音障害、痙性対麻痺を認め、軽微な頭部外傷後に嘔吐と意識障害を繰り返す。低身長と骨年齢遅延あり。末梢神経障害あり。小頭症、網膜色素変性・視神経萎縮、難聴、光線過敏症は認めない。6歳より頭部CT上、両側淡蒼球・被殻・尾状核と橋正中部の石灰化が出現。頭部MRIでは明らかな異常なし。副甲状腺機能及びカルシウム・リン代謝に異常なし。血液中の乳酸・ピルビン酸が軽度高値を示すが、髄液では正常範囲。またミトコンドリア遺伝子変異の検索、筋生検、筋の呼吸鎖酵素活性検査に異常を認めなかった。

【症例2】32歳女性。乳児期より重度精神発達遅滞とてんかんを認めたが、25歳までは症状は安定し、独力で食事摂取や歩行可であった。筋緊張は低下し錐体外路症状を認めなかった。25歳で頭部CTが施行され、両側淡蒼球の石灰化を指摘される。頭部MRIでは、両側淡蒼球・黒質の鉄沈着に加え、T1強調像にて黒質の高信号と内部の線状の低信号域を認めた(図)。26歳より錐体外路症状と認知症が

急激に進行し、30歳よりは無動性無言症で臥床状態となった。脳内鉄沈着症の原因遺伝子 PANK2 及び PLA2G6 異常は認めなかった。

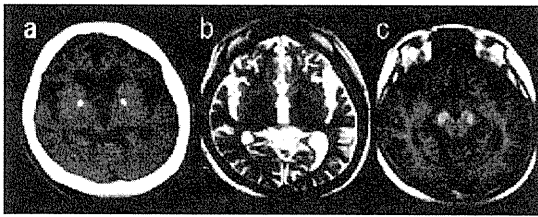


図.26 歳時の神経画像。a. 頭部 CT 両側淡蒼球に石灰化を認める。また中等度の大脳萎縮を認める。b. 頭部 MRI T2 強調像。両側淡蒼球の低信号を認め鉄沈着が示唆される。c. 頭部 MRI T1 強調像。黒質が高信号を示し、内部に線状の低吸収域が見られる。

D. 考察

2 症例とも既知の大脳基底核石灰化症には該当しない。

症例 1 は、当初ミトコンドリア病を強く疑ったが、精査にてこれを示唆する所見は得られなかった。最近コケイン症候群 typeB (CSB)の原因となる ERCC6 の変異で、神経症状を呈さない紫外線高感受性症候群を生じることが報告された。また、ERCC6 の変異により、皮膚症状が軽微で眼科的所見を欠くが、中年以降に頭蓋内石灰化と進行性の神経症状を生じた症例も報告されている。本例も、コケイン症候群の非典型例の可能性も考えられ、今後皮膚線維芽細胞の紫外線感受性やコケイン症候群原因遺伝子の検索を予定している。

症例 2 は、特異な臨床経過と画像所見を呈し、脳内鉄沈着症に属する新しい疾患の可能性がある。調査の結果、本邦には本例の他に 2 例、同一疾患と考えられる症例の存在することが判明した。現在エクソーム配列解析を用いた遺伝子の同定を準備中である。

E. 結論

大脳基底核石灰化を呈した診断未定の 2 症例の

診断過程を示した。これらの症例の診断や病態を検索することが、コケイン症候群の病態のさらなる解明につながると考える。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood: the first case report.

Kasai E, Kumada S, Yagishita A, Shimoda K, Shirai I, Hachiya Y, Miyachi S, Kurihara E.

(Movement Disorders 誌に年内投稿予定ですが accept されますかでしょうか?)

2. 学会発表

1. 第 58 回多摩小児神経懇話会 (2011/6/11)

Idiopathic neurodegeneration with brain iron accumulation の一例.

東京都立神経病院神経小児科

笠井恵美、熊田聡子、下田木の実、

八谷靖夫、栗原栄二

2.

東京都立神経病院神経小児科

白井育子、熊田聡子、笠井恵美、下田木の実、八谷

靖夫、栗原栄二 嘔吐後に傾眠を伴い、基底核の石

灰化、精神遅滞、痙性両麻痺、低身長、構音障害を

呈するが、ミトコンドリア病を示唆する検査所見を

欠く 9 歳女児. 第 59 回多摩小児神経懇話会

(2011/12/3)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(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。

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ための研究班」

9. コケイン症候群の腎障害と酸化ストレス

田沼直之（都立府中療育センター・小児科医長）

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。さらに腎障害は死亡例の半数以上に認め CS の生命予後を大きく左右する。昨年度までの研究成果で 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が、今年度は CS の腎障害における酸化ストレスの関与を検討した。

研究分担者 田沼直之（都立府中療育センター・小児科医長）

A. 研究目的

コケイン症候群（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。我々はこれまでに剖検脳での神経病理学的解析や尿中酸化ストレスマーカー解析を通じて 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。

一方、本研究班の平成 21 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。これまでの報告から CS の腎障害は病理学的には糸球体硬化症、糸球体基底膜の肥厚、尿細管障害、間質性変化が認められているが、発症機序については十分に分かっていない。本年度は剖検例において腎障害に酸化ストレスが関与しているかを免疫組織学的に検討するとともに、腎障害マーカーとしても最近注目されている Klotho 蛋白を CS 剖検腎組織で免疫染色し、CS 患者の血清を用いて ELISA 法にて測定した。

B. 研究方法

(1) CS 剖検例 4 例（死亡時年齢 18～35 歳）と同じく DNA 修復機構に異常がある A 群色素性乾皮症（XPA）2 例、疾患対照として新生児仮死後遺症 2 例、急性脳症後遺症 1 例の腎病変を検索した。DNA・脂質に対する酸化ストレスマーカーとして、それぞれ 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine（8-OHdG）、4-hydroxy-2-nonenal（4-HNE）、カルボニル蛋白の指標として *advanced glycation end-product*（AGE）、抗酸化酵素として、Cu/ZnSOD、

MnSOD の免疫染色を行った。さらに腎障害マーカー Klotho 蛋白の免疫染色も実施した。

(2) Klotho 蛋白については CS 患者 6 例（4～31 歳）、XPA 患者 5 例、D 群色素性乾皮症（XPD）患者 1 例、Werner 症候群患者 1 例の血清と尿を用いて ELISA 測定（免疫生物研究所製）も合わせて実施した。

（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。生体試料・剖検組織の収集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) 剖検腎を用いた解析では CS の 4 例中 3 例で糸球体病変、尿細管病変を認めた。酸化ストレスマーカーの免疫染色では 8-OHdG、4-HNE はいずれも陽性所見を認めず、AGE は CS 4 例、XPA 2 例、仮死後遺症 2 例で尿細管上皮が陽性に染色した（表参照）。また抗酸化酵素は近位尿細管上皮細胞、糸球体ボーマン腔などでいずれも表出し、抗酸化システムは保たれていた。

(2) Klotho 免疫染色では CS 例の尿細管は XP や疾患対照と同様に陽性染色を示し、発現量の低下は認めなかった。ELISA においても血清サンプルで同様の所見が確認されたが（図参照）、尿サンプルではサンプル間のばらつきが目立ち、一定の傾向が得られなかった。

D. 考察

従来の報告にもあるように、CS 剖検例では 4 例中 3 例に腎障害を認めた。酸化ストレスマーカーの免疫染色の結果から、CS 腎病変では AGE 以外陽性染色は得られなかった。また AGE は腎病変のない疾患コントロールでも陽性のため、CS

の腎病変に直接的には関与していないと考えられた。

klotho 遺伝子は、カルシウムホメオスタシスの中枢である腎尿細管、脳の脈絡膜、副甲状腺ホルモンを産生する副甲状腺の主細胞で強く発現している。*klotho* 発現欠如マウス(*klotho* マウス)は、多彩なヒト型の老化徴候を示し、生後約 100 日で老化により死亡することから、老化モデルマウスとして解析が進められている。さらに、*klotho* 遺伝子発現・蛋白量が腎不全患者の腎組織で顕著に低下しているという報告(Koh N et al.; *BBRC*: 2001;280:1015-1020)があるため、CS 患者の腎障害にも関与している可能性を考え、今回免疫染色と ELISA 解析を行った。今回の結果から *Klotho* 蛋白は CS 腎病変において発現量の低下を認めず、血清 *Klotho* も正常レベルに保たれていた。残念ながら現時点において CS 腎病変の発症機序は明らかにできなかった。今後さらなる解析が必要と思われる。

E. 結論

CS の腎障害には酸化ストレスが直接的に関与していることは証明できなかった。今後さらに解析を進め病態を明らかにしていくことが必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 田沼直之. 急性脳症とバイオマーカー. 小児科診療 74: 931-36, 2011.

2) 安西有紀, 林 雅晴, 松岡正樹, 高橋宏行, 宮田理英, 田沼直之, 大矢達男. パンデミック (H1N1) 2009 インフルエンザ感染により脳幹病変を呈した急性脳症の 1 例. 脳と発達 43: 57-9, 2011.

3) Hayashi M, Miwa-Saito N, Tanuma N, Kubota M. Brain vascular changes in Cockayne syndrome. *Neuropathology*. 2011 May 26.[Epub ahead of print]

4) Miyata R, Tanuma N, Hayashi M, et al. Oxidative stress in patients with clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenic lesion (MERS). *Brain Dev*. 34: 124-7, 2012.

2. 学会発表

1) 田沼直之ら. 急性脳症治療にエダラボンは有効か? 第 53 回日本小児神経学会総会, 横浜 (2011, 5. 26).

2) 田沼直之ら. 重症心身障害児者の睡眠覚醒リズムとメラトニン. 第 37 回日本重症心身障害学会学術集会, 徳島 (2011, 9. 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。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

[II]分担研究報告書

10. XPG null マウスにおけるコケイン様臨床症状に関する研究

研究分担者 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

研究要旨

XPG null マウスは、成長障害、小脳失調症状、短寿命を示す。本研究より同マウス関節内脂肪の異常を見だし、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。また、XPG null マウス臓器の遺伝子発現異常も見られ機能との関連を調べている。上記より、コケイン様臨床症状の病態の解析に XPG null マウスが有用である可能性が示された

研究分担者 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及び分子生物学的に検討し、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、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。コケインの剖検症例の所見を参考にし、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]、腎臓[慢性腎臓病]等を検索する。[]内は、コケイン症候群の臨床症状を示す。

（倫理面での配慮）

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屈曲制限にも一因があると考えた。同マウスの膝関節と足関節の病理学的検索から、関節内脂肪組織の異常による関節腔の狭小化が観察された。また、予備実験で、顕著な病変を示さない XPG null マウス腎臓において腎機能に関与するいくつかの遺伝子発現に差がみられ、腎機能との関連を解析中である。

D. 考察

XPG null マウスの歩行異常の症状を関節の屈曲制限

に着目することで、病理所見として関節内脂肪組織の異常を示せ、症状・病変から病態の一部を明らかにできた。今後、さらに末梢神経の関連を解析する必要がある。また、コケイン症候群の患者さんでは腎障害が生命予後に深く関わるため、その病態解明が急務である。そこで、XPG null マウス腎臓を検索し、腎機能に関わる遺伝子発現に異常がみられた。今後の腎機能との関連の解析を待つが、病変を示さない XPG null マウス臓器の解析から未知の病態を解明できる可能性があると考えている。

E. 結論

XPG null マウスのコケイン症候群の関節拘縮の病態モデルとしての可能性が示された。また、XPG null マウス臓器の遺伝子発現解析から、同マウスがコケイン様臨床症状の未知の病態解析モデルとしての可能性も示された。

F. 健康危険情報

総括研究報告書にまとめて記載。

G. 研究発表

1. 論文発表

今後発表予定。

2. 学会発表

1) Hironobu Nakane et al.

“Histological analysis of impaired spermatogenesis in xeroderma pigmentosum group A gene (*Xpa*)-deficient mice”,

第34回日本分子生物学会, 横浜市(2011.12.13-16)

2) Hironobu Nakane et al.

“Histological analysis of adipose tissues in *Xpg null* mice”

第 117 回日本解剖学会総会・全国学術総会、山梨県甲府市(2012. 3. 26-28) 発表予定

H. 知的財産権の出願・登録状況

(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

研究成果の刊行に関する一覧表

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
Hayashi M, Taniguchi N, Miyata R	Oxidative stress in developmental brain disorders.	Ahmad S,	In: Ahmad S, eds. Neurodegenerative diseases.	Austin: Landes Bioscience.		2011	
森脇真一	色素性乾皮症		皮膚疾患 最新の治療2011-2012	南江堂	東京	2011	印刷中
森脇真一	色素性乾皮症		今日の皮膚疾患治療指針	医学書院	東京	2011	印刷中
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(74号)	医学書院	東京	2011	p415-425
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	東京	2011	p94-97,
森脇真一	誤診：しみ、本当は色素性乾皮症		誤診されている皮膚疾患	メディカルレビュー	東京	2012	印刷中
森脇真一	晩発性皮膚ポルフィリン症		皮膚で見つける全身疾患	メディカルレビュー社	東京	2011	P23
森脇真一	色素性乾皮症バリエーション		皮膚で見つける全身疾患	メディカルレビュー社	東京	2011	P40

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	34	20-7	2012
Hoshino A, Saitoh M, Oka A, Okumura A, Kubota M, Saito Y, Takahashi JI, Hirose S, Yamagata T, Yamanouchi H, Mizuguchi M	Epidemiology of acute encephalopathy in Japan, with emphasis on the association of viruses and syndromes.	Brain Dev		PMID: 2192457 [Epub ahead of print]	2011

Saitoh M, Shinohara M, Hoshino H, Kubota M, Amemiya K, Takanashi JL, Hwang SK, Hirose S, Mizuguchi M.	Mutations of the SCN1A gene in acute encephalopathy.	Epilepsia.	53	558-564	2012
Nakamura T, Morimoto N, Goto F, Shioda Y, Hoshino H, Kubota M, Taiji H.	Langerhans cell histiocytosis with disequilibrium.	Auris Nasus Larynx	Feb 9	In press	2012
久保田雅也	特集/問診で決まるてんかん診療 ホニホニマシ	小児科診療	75	In press	2012
久保田雅也	重症痙縮患児（者）の治療意義と治療選択のポイント 重症痙縮患児（者）の病態と	日本重症心身障害学会誌	37	In press	2012
野崎誠、佐々木りか子、土井亜紀子、重松由起子、久保田雅也、関敦仁、東範行、小崎里華、新関寛徳	小児期のレクリングハウゼン病患者は初診時に何割が確定診断できるか？	日レ学会	2	61-64	2011
Hayashi M, Oto T, Shioda K, Fukatsu R.	Lesions of cortical GABAergic interneurons and acetylcholine neurons in xeroderma	Brain Dev	DOI: 10.1016/j.braindev.2011.06.015	In press	2011
Hayashi M, Saito-Miwa N, Tanuma N, Kubota M.	Brain vascular changes in Cockayne syndrome	Neuropathology	DOI: 10.1111/j.1440-1789.2011.01241.x.	In press	2011
Hayashi M, Miyata R, Tanuma N	Decrease in acetylcholinergic neurons in the pedunculopontine	Neuropathology	31	280-285	2011
林雅青.	色素性乾皮症の神経病変.	Visual Dermatology	10	456-458	2011
Suzuki, T., Lu, J., Hu, G., Kita, K., Suzuki, N	Retrovirus-mediated transduction of short hairpin RNA gene for GRP78 fails to downregulate GRP78 expression but leads to	Oncology Reports,	25	879-885	2011
Jiang, X., Ren, Q., Chen, S-P., Tong X-B., Dong, M., Sugaya S, Tanuma N	UVC mutagenicity is suppressed in Japanese miso-treated human RSa cells, possibly via GRP78 expression.	Biosci. Biotechnol. Biochem.,	75	1685-1691	2011

Ren, Q., Jiang, X., Chen, S-P., Tong, X-B., Guo, W-Z., Suzuki, T., Sugaya, S., Tanaka, T., Kita, K., Suzuki, N.	Study of tap and first-class-river water quality in eastern Japan using a cytotoxicity test	Chiba Medical J.	87	189-194	2011
Kita, K., Sugita, K., Chen, S-P., Suzuki, T., Sugaya, S., Tanaka, T., Jin, Y-H., Satoh, T., Tong, X-B., Suzuki, N	Extracellular recombinant annexin II confers UVC resistance and increases the Bcl-xL to Bax protein ratios in	Radiat. Res.	DOI: 10.1667/R2561.1	In press	2011
Tanaka, T., Sugaya, S., Kita, K., Arai, M., Kanda, T., Fujii, K., Imazeki, F., Sugita, K., Yokosuka, O., Suzuki, N.	Inhibition of cell viability by human IFN- β is mediated by microRNA-431	Int. J. Oncol		In press	2012
Endo M, Fujii K, Sugita K, Saito K, Kohno Y, Miyashita T.	Nationwide Survey of Nevroid Basal Cell Carcinoma Syndrome in Japan Revealing the Low	Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention		n press	2012
Sugaya S, Tanaka K, Akagi T, Kasetani T, Qiu-Ji Z, Guo WZ, Udagawa A, Nomura J, Sugita K, Ohta R, Suzuki N	Studies on the amounts of serum hydroperoxide, MMP-3, urinary 8-OHdG, and salivary IgA in rheumatoid arthritis patients who experienced Shinrin-yoku (forest-air bathing and walking).	Chiba Medical J.	87	In press	2011
Sugita K, Uesaka T, Nomura J, Sugita K, Inagaki M	A family-based association study does not support DYX1C1 as a candidate gene in dyslexia in	IMJ	18	130-132	2011
Moriwaki S, Takigawa M, Igarashi N, Nagai Y, Amano H, Ishikawa O, Khan SG, Kraeme	Xeroderma pigmentosum complementation group G patient with a novel homozygous	Exp Dermatol		In press	2012
Moriwaki S, Takahashi Y, Shimizu H, Inoue M, Sugiyama Y, Inoue S	Decreased repair of singlet oxygen-induced DNA damage in xeroderma pigmentosum group A cells determined by plasmid	J Derm Sci		n press	2012
Moriwaki S, Yamashita Y, Nakamura S, Fujita D, Kohyama J, Takigawa M, Ohmichi H	Prenatal diagnosis of xeroderma pigmentosum group A in Japan	J Dermatol		n press	2012

Hirata Y, Koga S, Fukui N, Yu A, Koshida S, Kosaka Y, <u>Moriwaki S</u>	5-Aminolevulinic acid (ALA)-mediated photodynamic therapy to superficial malignant skin	<i>J Dermatol</i>	38	748-754,	2011
Bradford PT, Goldstein AM, Tamura D, Khan SG, Ueda T, Boyle J, Oh K-S, Imoto K, Inui H, <u>Moriwaki S</u> , 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	<i>J Med Genet</i>	48	168-176	2011
Hiura Y, Nakanishi T, Tanioka M, Takubo T, <u>Moriwaki S</u>	Identification of autoantibodies for α - and γ -enolase in serum	<i>Jpn Clin Med</i>	2	35-41	2011
<u>森脇真一</u>	光線過敏症患者に対する遮光指導	第21回太陽紫外線防御研究会シンポジウム報告書	21	49-52	2011
<u>森脇真一</u>	紫外線を用いた皮膚病治療 皮膚科セミナーウム	日本皮膚科学会雑誌		印刷中	2012
<u>森脇真一</u>	遺伝性光線過敏症と患者家族会活動	日本皮膚科学会雑誌		印刷中	2012
<u>森脇真一</u>	遺伝性早老症の病態、診断と治療	難病と在宅ケア		印刷中	2012
<u>森脇真一</u>	色素性乾皮症の遺伝子診断	Visual Dermatology	10	448-451	2011
Kanazawa K, <u>Kumada S</u> , Kato M, Saito H, Kurihara E, Matsumoto N	Choreo-ballistic movements in a case carrying a missense mutation in syntaxin binding	<i>Mov Disord</i>	25	2265-7.	2010
熊田聡子、横地房子、谷口真、沖山亮一、石井一彦、磯尾綾子、川崎隆、木村活生、青木	脳深部刺激療法施行後長期経過を観察しえたパントテン酸キナーゼ関連神経変性の一例	機能的脳神経外科	50	180-4	2011
<u>田沼直之</u>	急性脳症とバイオマーカー	小児科診療	74(6)	931-936	2011
安西有紀, 林 雅晴, 松岡正樹, 高橋宏行, 宮田理英, <u>田沼直之</u> ,	パンデミック(H1N1) 2009 インフルエンザ感染により脳幹病変を呈した急性脳症の1例	脳と発達	43(1)	57-59	2011

Miyata R, <u>Tanuma N</u> , Hayashi M, Imamura T, Takanashi JI, Nagata R, Okumura A, Kashii H,	Oxidative stress in patients with clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenial lesion	Brain Dev	34	124-127	2012
<u>Tateishi, S.</u>	A novel Rad18 ubiquitin ligase-mediated pathway for repair of	Cell Cycle	10	2057-2058	2011
Yanagihara, H., Kobayashi, J., <u>Tateishi, S.</u> , Kato, A., Matsuu ra, S., Tauchi, H., Yamada, K., Takezawa, J., Sugasawa, K., Masutani, C., Hanaka, F., Weemaes, C. M., Mori, T., Komatsu, K	NBS1 recruits RAD18 via a RAD6-like domain and regulates Pol η -dependent translesion DNA synthesis.	Mol. Cell	43	788-797	2011
Hendel, A., Krijger, P. H., Diamant, N., Goren, Z., Langerak, P., Kim, J., Reibner, T., Lee, K. Y., Geacintov, N. E., Carell, T., Myung, K., <u>Tateishi, S.</u> , D'Andrea, A., Jacobs, H., Livneh, Z	PCNA ubiquitination is important, but not essential for translesion DNA synthesis in mammalian cells	PLoS Genet	9	e1002262.	2011
Hashimoto, K., Cho, Y., Yang, I., Akagi, J., Ohashi, E., Tateishi, S., Wind, N., Hanaoka, F., Ohmori, H., Moriya, M	The vital role of pol ζ and REV1 in mutagenic, but not correct, DNA synthesis across benzo[α]pyrene-dG and the recruitment of pol ζ	J Biol Chem		In press	2012

「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」班ホームページ

<http://www.cockayneresearchcare.jp/>

厚生労働省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」班

- ご挨拶
- コケイン症候群とは?
- 診断基準
- コケイン症候群各論
- ケア指針
- 班構成メンバー
- 研究報告
- 班会議予定
- リンク

本研究班ホームページが少しでもコケイン症候群や類似疾患をフォローしておられる医療関係者の方々や日夜奮闘しておられる患者ご家族の皆様のお役に立てればと願っております。

最新情報 information

2011.11.01 ホームページ開設いたしました

[▲このページのトップへ](#)

班員名簿 平成23年度

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

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
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
研究分担者	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
	林 雅晴	東京都医学総合研究所 こどもの脳プロジェクト	副参事研究員
	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
	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
	立石 智	熊本大学 発生医学研究所 発生制御部門	講師
	田沼 直之	都立府中療育センター小児科	医長
	熊田 聡子	都立神経病院神経小児科	医長
研究協力者	柏井 洋文	国立成育医療研究センター神経内科	医員
	太田さやか	国立成育医療研究センター神経内科	フェロー
	寺嶋 宙	国立成育医療研究センター神経内科	フェロー
	安藤亜希	国立成育医療研究センター神経内科	フェロー
	小俣 卓	千葉県子ども病院神経科	医長
	杉田記代子	東京歯科大学市川総合病院小児科	非常勤医師
	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



ELSEVIER

Brain & Development xxx (2011) xxx–xxx

BRAIN &
DEVELOPMENTOfficial Journal of
the Japanese Society
of Child Neurology

www.elsevier.com/locate/braindev

Original article

Lesions of cortical GABAergic interneurons and acetylcholine neurons in xeroderma pigmentosum group A

Masaharu Hayashi^{a,*}, Tatsuyuki Ohto^b, Kei Shioda^c, Ryo Fukatsu^c

^a Department of Brain Development and Neural Regeneration, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Tokyo, Japan

^b Department of Pediatrics, Institute of Clinical Medicine, Medical Branch, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan

^c Department of Neuropathology, Saitama Medical University, Saitama, Japan

Received 14 May 2011; received in revised form 28 June 2011; accepted 30 June 2011

Abstract

Xeroderma pigmentosum (XP) is a rare genetic disorder caused by inherited disturbances in the nucleotide excision repair system; patients with XP groups A (XP-A), B, D, and G were shown to have progressive neurological disturbances. Particularly, XP-A patients, which account for approximately half of Japanese XP patients, show severe neurological disorders, including mental retardation and epilepsy. Herein, we performed an immunohistochemical analysis of the number of GABAergic interneurons (GABAis), including calbindin-D28K, parvalbumin, and calretinin, in the cerebral cortex and acetylcholinergic neurons (AChNs) in the nucleus basalis of Meynert (NM) and in the pedunculopontine tegmental nucleus (PPN) in six autopsy cases of XP-A in order to investigate the relationships between mental dysfunction and GABAis and AChNs. The density and percentages of neurons that were immunoreactive for calbindin-D28K and parvalbumin were significantly reduced in the frontal and temporal cortices in XP-A cases, although the density of neurons that were immunoreactive for MAP2 did not differ from that in controls. Additionally, XP-A cases showed reduced AChNs in both the NM and the PPN. The observed reductions of cortical GABAis and AChNs may be involved in the mental disturbances, the higher occurrence of epilepsy, and/or the abnormalities in rapid eye movement sleep in patients with XP-A.

© 2011 The Japanese Society of Child Neurology. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Xeroderma pigmentosum; Mental disabilities; Immunohistochemistry; GABA; Acetylcholine; Nucleus basalis of Meynert; Pedunculopontine tegmental nucleus

1. Introduction

Xeroderma pigmentosum (XP) is a rare genetic disorder caused by inherited disturbances in the nucleotide excision repair (NER) system, and complementation studies using cell hybridization have revealed the existence of 8 XP genes (groups A–G and a variant) [1]. Patients with XP groups A, B, D, and G (XP-A,

XP-B, XP-D, and XP-G) exhibit progressive neurological disturbances, and XP-A patients, which account for approximately 55% of XP patients in Japan, demonstrate various and severe neurological disorders [2]. Protection from ultraviolet light can prevent the development of skin symptoms but not the neurological disturbances [3]. Although XP-A cases show widespread neuronal loss throughout the central nervous system (CNS) [4], we found a selective impairment of catecholaminergic neurons (CANs) in the basal ganglia and brainstem in autopsy cases, being related to the occurrence of extrapyramidal symptoms and brainstem dysfunction [5].

* Corresponding author. Tel.: +81 3 6834 2334; fax: +81 3 5316 3150.

E-mail address: hayashi-ms@igakuken.or.jp (M. Hayashi).

Calcium-binding proteins, such as calbindin-D28K, parvalbumin, and calretinin, regulate intracellular calcium concentrations in neurons and label nonoverlapping populations of GABAergic interneurons (GABAis) in the CNS. In the cerebral cortex, the GABAis are immunoreactive for each calcium-binding protein. We identified selectively disturbed patterns of calcium-binding protein expression in the cerebral cortex in developmental brain disorders [6–8]. However, acetylcholinergic neurons (AChNs) in the nucleus basalis of Meynert (NM) and the pedunculopontine tegmental nucleus (PPN) are involved in mental development and learning abilities [9]. A lesion of the AChN system was observed in developmental brain disorders, such as Down syndrome and Rett syndrome [10,11].

Patients with XP-A suffer from disturbed mental abilities and a worsening of cerebral atrophy according to computed tomography (CT) or magnetic resonance imaging (MRI) studies [3]. Additionally, Japanese XP-A patients showed a higher incidence of epileptic seizures (approximately 15%) than controls [12]. However, the neuropathological background of cortical dysfunction has not been investigated in detail. We performed an immunohistochemical analysis of GABAis in the cerebral cortex and of AChNs in the MyN and PPN in six autopsy cases of XP-A and confirmed that lesions of GABAis and AChNs are involved in the mental abnormalities exhibited by these patients.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

Clinical subjects included six cases of clinically and genetically confirmed XP-A and 5 controls with no pathological changes in the central nervous system; subjects were aged from 9 to 47 years (Table 1). Clinical findings in XP-A cases 1–2 and 4–6 were reported previously [4]. The ethical committee of the Tokyo

Metropolitan Institute of Medical Science approved this study, and the family of each subject provided informed consent for the postmortem analysis.

2.2. Immunohistochemistry

Brains were fixed in a buffered formalin solution. Each formalin-fixed brain was cut coronally and then embedded in paraffin. Six- μm -thick serial sections were cut from selected brain regions, including the superior frontal cortex, the middle temporal cortex, the hypothalamus including the NM, and the lower midbrain including the PPN. After microwave antigen retrieval, each section was treated with mouse monoclonal antibodies to microtubule-associated protein 2 (MAP2; 1:100, Upstate Cell Signaling Solutions, Billerica, MA, USA), acetylcholinesterase (AChE; Affinity Bioreagents, Inc., Golden, CO, USA), tyrosine hydroxylase (TH; Affinity Bioreagents, Inc.), parvalbumin (PV; Novocastra Laboratories, Newcastle upon Tyne, UK), calbindin-D28K (CD; Novocastra Laboratories), and calretinin (CR; Novocastra Laboratories) at the following concentrations: 1:100 (MAP2, PV, CD, and CR), 1:250 (AChE), and 1:400 (TH). Antibody binding was visualized using the avidin–biotin–immunoperoxidase complex method (Nichirei, Tokyo, Japan) according to the manufacturer's protocol. No staining was detected in the sections in the absence of antibody.

2.3. Quantitative evaluation and data analysis

From the second to the fourth layers in the cerebral cortex, the number of cells immunoreactive for MAP2 and each calcium-binding protein was counted in 6 non-overlapping microscopic subfields at a 100-fold magnification using a counting box (1 mm^2) to obtain the density of immunoreactive cells. The percentages of cells immunoreactive for each calcium-binding protein relative to those immunoreactive for MAP2 were also

Table 1
Summary of subjects.

	Age (years)	Sex	Cause of death	Post-mortem time (h)	Brain weight (g)
<i>Controls</i>					
1	9	Male	Acute leukemia	4	n/A
2	16	Male	Pneumonia	6	1505
3	29	Female	Guilain-Barre syndrome	4	n/A
4	36	Female	Thrombotic thrombocytopenic purpura	2	1475
5	47	Male	Acute leukemia	10	1400
<i>Xeroderma pigmentosum group A</i>					
1	19	Male	Candidiasis	2	580
2	19	Male	Renal failure	2	610
3	21	Male	Pneumonia	18	720
4	23	Female	Pneumonia	9	580
5	24	Female	Pneumonia	4	500
6	26	Female	Pneumonia	5	530

Abbreviations: N/A, not accessed.

calculated. In the NM, all AchE-immunoreactive cells were counted ventral to the globus pallidus. The PPN was identified dorsolateral to the rostral superior cerebellar peduncle and the medial lemniscus in the lower mid-brain, following the atlas of Olszewski and Baxter [13]. The PPN is composed of clusters of moderately large neurons (pars compacta) and the more widespread pars dissipata in the rostral and medial regions [9]. In the pars compacta of the PPN, the number of cells immunoreactive for MAP2, AchE, TH, and CD were determined after the manual labeling of appropriate cells with nucleoli in 2 serial sections, and the mean value was calculated. The percentages of cells immunoreactive for AchE, TH, and CD relative to those immunoreactive for MAP2 were also calculated. All data are presented as the mean \pm SD and analyzed using the nonparametric Mann–Whitney *U* test in order to compare the results between the XPA cases and controls for a quantitative evaluation of immunoreactive cells. The level of significance was set at $P < 0.05$ to adjust for comparisons.

3. Results

In the cerebral cortex, interneurons immunoreactive for CD, PV, and CR were identified in the second and third layers, near the fourth layer, and from the second to the fourth layers, respectively (Fig. 1A). The density of neurons immunoreactive for MAP2 in the superior frontal cortex and inferior temporal cortex in cases of XP-A did not differ from the average density of that in controls (Table 2). Nevertheless, the density and percentages of neurons immunoreactive for both CD and PV was significantly reduced in the frontal and temporal cortices in cases of XP-A (Fig. 1B). The number and percentage of neurons immunoreactive for CR were reduced in the middle temporal cortex, whereas these values were comparatively preserved in the superior frontal cortex (Table 2). The data suggest a selective impairment of GABAis in the cerebral cortex in cases of XP-A. In the NM, the mean \pm SD of the total number of neurons immunoreactive for AchE was 91.7 ± 25.7 in controls (Fig. 1C), and that in XP-A cases was 0.4 ± 0.8 , indicating a significant loss of AchNs ($P < 0.01$) (Fig. 1D). In the PPN, the number of neurons immunoreactive for MAP2 in cases of XP-A was reduced to fewer than half of those in controls (Table 3). The numbers and percentages of both AchNs and CANs, which are immunoreactive for AchE and TH (Fig. 1E and F), respectively, were reduced in XP-A cases (Table 3), whereas those immunoreactive for CD remained consistent.

4. Discussion

We previously reported a reduction of CD- and PV-immunoreactive GABAis in the cerebral cortex in

samples from patients with various developmental disorders, including neuronal ceroid lipofuscinosis (NCL) [6], dentatorubral–pallidoluysian atrophy (DRPLA) [8], and mucopolysaccharidosis (MPS) [7]. This reduction may be related to the epileptogenesis of progressive myoclonic epilepsy in NCL and DRPLA and the mental disabilities in MPS, respectively. A similar reduction of CD- and PV-immunoreactive GABAis in the cerebral cortex was observed in XP-A cases. XP-A cases exhibited severe brain atrophy (Table 1), and the total number of cerebral neurons was lower than that in controls. However, there was no difference in the density of neurons immunoreactive for MAP2 between controls and XP-A cases (Table 2).

We previously reported that neuronal loss was observed throughout the cerebral cortex in cases of XP-A, and there was no difference in the density of the remaining pyramidal cells between the layers [4]. However, this analysis demonstrated that GABAis are more vulnerable than pyramidal neurons from the second layer to the fourth layers in the cerebral cortex. Evaluating neuronal loss in the brain according to individual subgroups is important for XP-A cases, although the lesion appears to be diffuse and extensive. It is known that GABA receptor-mediated postsynaptic inhibition has important roles in normal cortical function and in controlling events implicated in epileptogenesis, and the decreases in numbers of GABAis and/or postsynaptic inhibition have been reported in the epileptogenic hippocampus and neocortex [14]. The selective loss of CD- and PV-immunoreactive cells was reported in the temporal cortex in Alzheimer's disease and in the prefrontal cortex in schizophrenia [15,16]. The reduction of inhibitory GABAis may be involved in the progressive mental disturbances and the higher occurrence of epilepsy in patients with XP-A. Concurrently, GABAergic anticonvulsants should be used carefully in patients considering the selective reduction of GABAis in the cerebral cortex.

PPN, which is in the lower midbrain, contains cholinergic and noncholinergic neurons and has afferent and efferent connections to the basal ganglia and spinal cord. The cholinergic innervation from the PPN to the thalamus and pons is involved in the generation of muscle tone and rapid eye movement (REM) sleep, and the PPN is believed to be a part of the mesencephalic locomotor region [17]. In controls, there was an age-dependent change in the percentages of AchNs and CANs in the PPN. Cases of perinatal brain damage showed a reduced percentage of AchNs with a compensatory increased percentage of CANs [9]. AchNs were reduced in the PPN in patients with Prader–Willi syndrome, although GABAis in the cerebral cortex, in addition to AchN in the NM, were relatively well-preserved [18].

This analysis revealed a severe reduction in the percentage of AchNs and CANs in the PPN in cases of

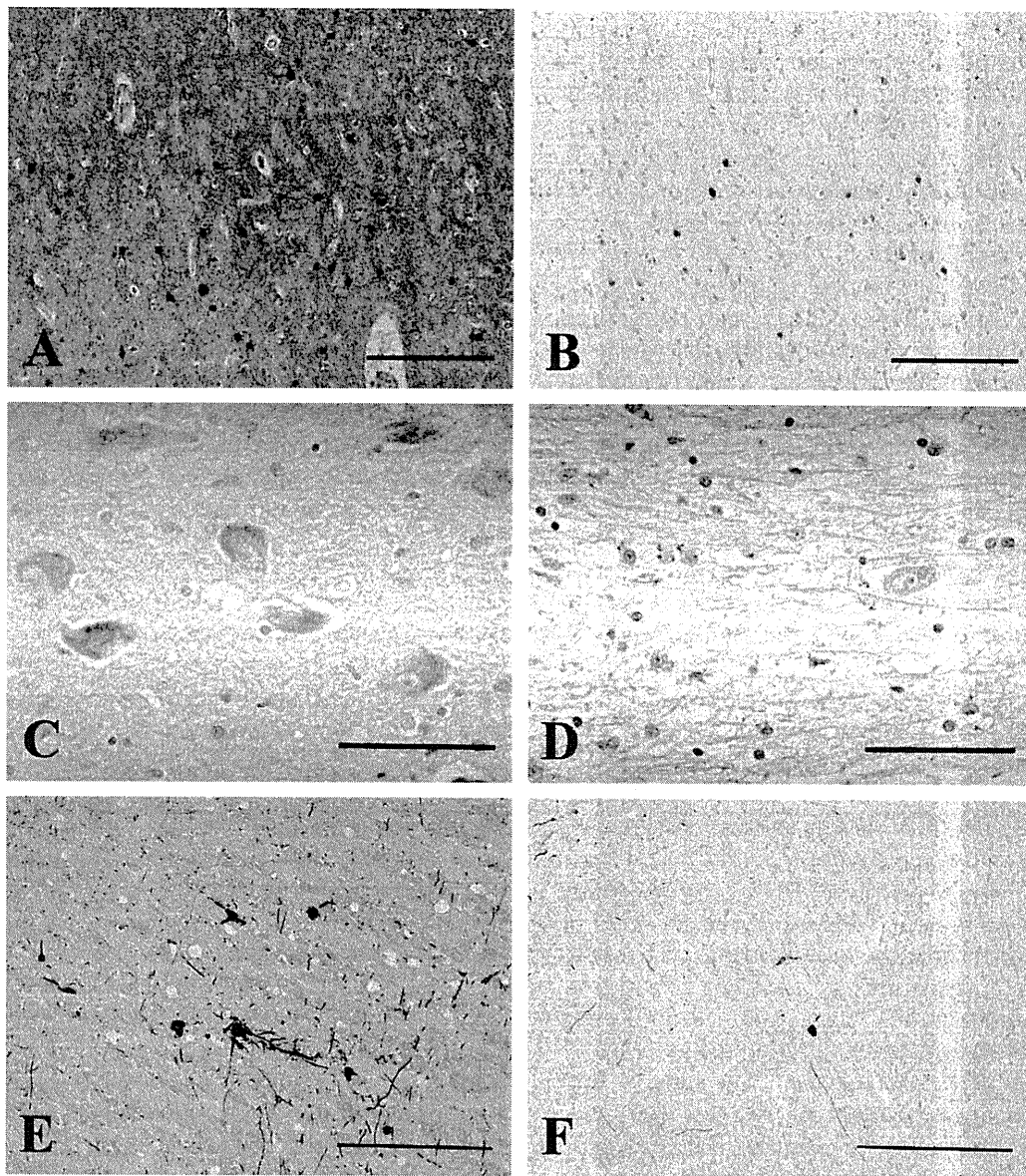


Fig. 1. Representative illustrations of immunohistochemistry in controls and cases of xeroderma pigmentosum group A (XP-A). Immunoreactivities for parvalbumin were found in the interneurons and neuropil around the fourth layer of frontal cortex in control 2 (A), whereas those were reduced in XP-A case 2 (B). Bars = 200 μ m. Neurons with cytoplasmic granules immunoreactive for acetylcholine esterase were observed in the nucleus basalis of Meynert in control 3 (C) but not in XP-A case 3 (D). Bars = 100 μ m. The pedunculo pontine tegmental nucleus had neurons and neuronal processes immunoreactive for tyrosine hydroxylase in control 2 (E), which were reduced in XP-A case 3 (F). Bars = 400 μ m.

XP-A, whereas GABAergic immunoreactive for CD were relatively spared (Table 3). Unlike the AchNs in Prader-Willi syndrome [18], AchNs were also damaged in the NM. Impairment of CANs seem to occur throughout the CNS, given the reduction of CAN in the basal ganglia and brainstem that we reported previously [5]. Interestingly, a disturbance of motor inhibition during REM sleep was identified in patients with XP-A [19]. Damage of the monoaminergic neurons in the brainstem, including the PPN, may be involved in abnormalities of muscle tone and/or REM sleep, in addition to mental disturbances in patients with XP-A. Recently,

we reported successful treatment with low-dose levodopa for laryngeal dystonia, from which many aged patients with XP-A generally suffer [20]. Low-dose levodopa is thought to alleviate dopamine receptor supersensitivity in the basal ganglia. Treatment with donepezil, an acetylcholinergic agent, corrected REM sleep abnormalities in patients with Alzheimer's disease [21] and ameliorated REM sleep behavior disorders in cases of dementia with Lewy bodies [22]. Recently, donepezil has been tested in young adults with Down syndrome [23], in which AchNs were impaired [10,11]. Scores in modified International Classification of

Table 2
Summary of quantitative analysis in the cerebral cortex.

	Superior frontal cortex			Middle temporal cortex		
	Controls (mean ± SD)	XP-A (mean ± SD)	Mann–Whitney test (<i>p</i> value)	Controls (mean ± SD)	XP-A (mean ± SD)	Mann–Whitney test (<i>p</i> value)
Microtubule associated protein 2	122 ± 13	121 ± 2	ns	124 ± 8	110 ± 8	ns
Calbindin-D28K	33 ± 7	8 ± 7	<0.01	33 ± 4	9 ± 4	<0.01
(%)	31 ± 5	12 ± 12	<0.05	27 ± 4	8 ± 3	<0.01
Parvalbumin	27 ± 4	15 ± 10	<0.05	22 ± 1	5 ± 4	<0.01
(%)	26 ± 2	12 ± 8	<0.05	17 ± 2	5 ± 3	<0.01
Calretinin	49 ± 5	44 ± 11	ns	50 ± 7	36 ± 6	<0.05
(%)	42 ± 5	36 ± 9	ns	41 ± 4	32 ± 5	<0.05

Abbreviations: XP-A, xeroderma pigmentosum group A; ns, not significant.

Table 3
Summary of quantitative analysis in the pedunculopontine tegmental nucleus.

	Controls (mean ± SD)	XP-A (mean ± SD)	Mann–Whitney test (<i>p</i> value)
Microtubule associated protein 2	244 ± 44.5	96 ± 16	<0.01
Acetylcholine esterase	68.2 ± 18	0	<0.01
(%)	29 ± 9.6	0.2 ± 0.4	<0.01
Tyrosine hydroxylase	24.8 ± 14.6	3.4 ± 2.8	<0.01
(%)	10.2 ± 4.8	3.3 ± 2.5	<0.05
Calbindin-D28K	26.8 ± 18.2	20 ± 12	ns
(%)	10.7 ± 6.9	20.1 ± 12.3	ns

Abbreviations: XP-A, xeroderma pigmentosum group A; ns, not significant.

Functioning, Disability and Health scaling system significantly increased without any adverse effects in patients with Down syndrome treated with donepezil in comparison to those in placebo controls in a 24-week randomized, double-blind, placebo-controlled trial [24]. We hypothesize that donepezil may be effective for treating mental disturbances and/or REM sleep abnormalities in patients with XP-A, although donepezil has never been used in these patients.

The pathogenesis of the lesions of the cortical GABAergic and AChNs in cases of XP-A is not clear. We observed the involvement of apoptotic neuronal loss and oxidative stress with disturbed glutamate transport in the degeneration of the cerebellar cortex and the basal ganglia, respectively, in XP-A [25–27]. However, neither apoptotic neuronal loss nor oxidative stress was observed in the cerebral cortex, the NM, or the PPN. It is possible that the disturbed NER and/or null expression of XP-A protein may affect the development and/or survival of specific neuronal groups in the brain. Nevertheless, *Xpa* gene-knockout mice, an animal model of XP-A, are deficient in NER and sensitive to ultraviolet-induced skin carcinogenesis, but they are behaviorally normal and lack significant neuronal loss in the brain [28]. Further research in mice using a conditional knock-out of the *Xpa* gene in the brain may be helpful to clarify the pathogenesis of the impairment of specific neuron groups in XP-A.

References

- [1] Kraemer KH, Patronas NJ, Schiffmann R, Brooks BP, Tamura D, Digiovanna JJ. Xeroderma pigmentosum, trichothiodystrophy and Cockayne syndrome: a complex genotype–phenotype relationship. *Neuroscience* 2007;145:1388–96.
- [2] Hirai Y, Kodama Y, Moriwaki S, Noda A, Cullings HM, Macphess DG, et al. Heterozygous individuals bearing a founder mutation in the XPA DNA repair gene comprise nearly 1% of the Japanese population. *Mutat Res* 2006;601:171–8.
- [3] Hayashi M. Role of oxidative stress in xeroderma pigmentosum. *Adv Exp Med Biol* 2008;637:120–7.
- [4] Itoh M, Hayashi M, Shioda K, Minagawa M, Isa F, Tamagawa K, et al. Neurodegeneration in hereditary nucleotide repair disorders. *Brain Dev* 1999;21:326–33.
- [5] Hayashi M, Araki S, Kohyama J, Shioda K, Fukatsu R, Tamagawa K. Brainstem and basal ganglia lesions in xeroderma pigmentosum group A. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004;63:1048–57.
- [6] Hachiya Y, Hayashi M, Kumada S, Uchiyama A, Tsuchiya K, Kurata K. Mechanisms of neurodegeneration in neuronal ceroid-lipofuscinosis. *Acta Neuropathol* 2006;111:168–77.
- [7] Hamano K, Hayashi M, Shioda K, Fukatsu R, Mizutani S. Mechanisms of neurodegeneration in mucopolysaccharidoses II and IIIB: analysis of human brain tissue. *Acta Neuropathol* 2008;115:547–59.
- [8] Hayashi M, Kumada S, Shioda K, Fukatsu R. Neuropathological analysis of the brainstem and cerebral cortex lesions on epileptogenesis in hereditary dentatorubral-pallidolysian atrophy. *Brain Dev* 2007;29:473–81.
- [9] Anzai Y, Hayashi M, Ohya T, Yokota S. The pedunculopontine nucleus in developmental disorders of the basal ganglia. *Neuropathology* 2008;28:258–63.

- [10] Isacson O, Seo H, Lin L, Albeck D, Granholm AC. Alzheimer's disease and Down's syndrome: roles of APP, trophic factors and Ach. *Trends Neurosci* 2002;25:79–84.
- [11] Berger-Sweeney J. The cholinergic basal forebrain system during development and its influence on cognitive processes: important questions and potential answers. *Neurosci Biobehav Rev* 2003;27:401–11.
- [12] Kohyama J, Furushima W, Sugawara Y, Shimohira M, Hasegawa T, Hayashi M, et al. Convulsive episodes in patients with group A xeroderma pigmentosum. *Acta Scand Neurol* 2005;112:265–9.
- [13] Olszewski J, Baxter D. *Cytoarchitecture of the human brain stem*. 2nd ed. New York: Karger; 1982.
- [14] Prince DA, Parada I, Scalise K, Graber K, Shen F. Epilepsy following cortical injury: cellular and molecular mechanisms as targets for potential prophylaxis. *Epilepsia* 2009;50:30–40.
- [15] Mikkonen M, Alafuzoff I, Tapiola T, Soininen H, Miettinen R. Subfield- and layer-specific changes in parvalbumin, calretinin, and calbindin-D28K immunoreactivity in the entorhinal cortex in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 1999;92:515–32.
- [16] Beasley CL, Zhang ZJ, Patten I, Reynolds GP. Selective deficits in prefrontal cortical GABAergic neurons in schizophrenia defined by the presence of calcium-binding proteins. *Biol Psychiatry* 2002;52:708–15.
- [17] Lee MS, Rinne JO, Marsden CD. The pedunculopontine nucleus: its role in the genesis of movement disorders. *Yonsei Med J* 2000;41:167–84.
- [18] Hayashi M, Miyata R, Tanuma N. Decrease in acetylcholinergic neurons in the pedunculopontine tegmental nucleus in a patient with Prader-Willi syndrome. *Neuropathology* 2011;31:280–5.
- [19] Kohyama J, Shimohira M, Kondo S, Fukuro S, Kouji T, Sugimoto J, et al. Motor disturbances during REM sleep in group A xeroderma pigmentosum. *Acta Neurol Scand* 1995;92:91–5.
- [20] 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* 2010;32:685–7.
- [21] MoraesWdos S, Povares DR, Guillemainault C, Ramos LR, Bertolucci PH, Tufik S. The effect of donepezil on sleep and REM sleep EEG in patients with Alzheimer disease: a double-blind placebo-controlled study. *Sleep* 2006;29:199–205.
- [22] Massironi G, Galluzzi S, Frisoni GB. Drug treatment of REM sleep behavior disorders in dementia with Lewy bodies. *Int Psychogeriatr* 2003;15:377–83.
- [23] Kishnani PS, Sommer BR, Handen BL, Seltzer B, Capone GT, Spiridigliozzi GA, et al. The efficacy, safety, and tolerability of donepezil for the treatment of young adults with Down syndrome. *Am J Med Genet A* 2009;149A:1641–54.
- [24] Kondoh T, Kanno A, Itoh H, Nakashima M, Honda R, Kojima M, et al. Donepezil significantly improves abilities in daily lives of female Down syndrome patients with severe cognitive impairment: a 24-week randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Int J Psychiatry Med* 2011;41:71–89.
- [25] Kohji T, Hayashi M, Shioda K, Minagawa M, Morimatsu Y, Tamagawa K, et al. Cerebellar neurodegeneration in human hereditary DNA repair disorders. *Neurosci Lett* 1998;243:133–6.
- [26] Hayashi M, Itoh M, Araki S, Kumada S, Shioda K, Tamagawa K, et al. Oxidative stress and glutamate transport in hereditary nucleotide repair disorders. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001;60:350–6.
- [27] Hayashi M, Araki S, Kohyama J, Shioda K, Fukatsu R. Oxidative nucleotide damage and superoxide dismutase expression in the brains of xeroderma pigmentosum group A and Cockayne syndrome. *Brain Dev* 2005;27:34–8.
- [28] Nakane H, Hirota S, Brooks PJ, Nakabeppu Y, Nakatsu Y, Nishimune Y, et al. Impaired spermatogenesis and elevated spontaneous tumorigenesis in xeroderma pigmentosum group A gene (Xpa)-deficient mice. *DNA Repair* 2008;7:1938–50.