

201128089A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業 奨励研究分野

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

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 新宅 治夫

平成 24 (2012) 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 奨励研究分野

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

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 新宅 治夫

平成 24 (2012) 年 3 月

〈目 次〉

I. 総括研究報告	3
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 研究代表者：大阪市立大学大学院医学研究科 発達小児医学 新宅治夫	
II. 分担研究報告	
1. 瀬川病が疑われる患者の血液・髄液プテリジン分析と遺伝子解析による診断法の検討	9
大阪市立大学大学院医学研究科 発達小児医学 新宅治夫	
2. プテリジン代謝異常症	11
瀬川小児神経学クリニック 瀬川昌也	
3. AADC 欠損症疑い例における DDC 遺伝子解析	14
山形大学医学部附属病院 小児科 加藤光広	
4. アンジェルマン症候群に類似した症状を示す患者を対象とした DNA アレイ解析	17
名古屋市立大学大学院医学研究科 新生児・小児医学分野 齋藤伸治	
5. 不随意運動における神経機能画像診断の可能性 —不随意運動時の SISCO の臨床応用	20
埼玉県立小児医療センター 神経科 浜野晋一郎	
6. 瀬川病女性例における妊娠初期、月経周期に伴う症状増悪について	25
国立成育医療研究センター 神経内科 久保田雅也	
7. 不随意運動を示す乳児早期てんかん性脳症患児の神経伝達物質の検討	28
西新潟中央病院 小児科 遠山 潤	
8. SSADH 欠損症における急性脳症	30
名古屋大学医学部 小児科 夏目 淳	
9. 重症心身障害児施設におけるプテリジン代謝異常症のスクリーニング	33
大阪市立大学大学院医学研究科 発達小児医学 服部英司	
10. 瀬川病の化学診断についての研究	35
大阪市立大学大学院医学研究科 発達小児医学 藤岡弘季	
11. 原因不明の運動障害症例の病因解析、特に神経伝達物質病に関する検討	37
鳥取大学医学部 脳神経小児科 前垣義弘	
12. 脳性麻痺と診断されていて、長時間の眼球回転発作をきたし、脳脊髄液の HVA の著明な低下、血液中のネオプテリン(N) 値正常、ビオプテリン(B) 値は低値、髄液中プテリジン分析では、N 値、B 値は共にやや低値を示した 16 歳女児例の検討	38
久留米大学医学部 小児科学講座 松石豊次郎	
13. 唾液中メラトニン濃度測定による AADC 欠損症のスクリーニング検査の可能性 (2)	40
東京都立東部療育センター 井手秀平	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	43
IV. 研究成果の刊行物・別刷	47

I. 総括研究報告

平成 23 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）

総括研究報告書

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

研究代表者 新宅 治夫 大阪市立大学大学院 教授

研究要旨

小児神経伝達物質病はシナプスでの情報伝達を担う神経伝達物質の異常による疾患であるが、胎児期や乳幼児期のニューロンがシナプスを形成してネットワークを構成する際に神経伝達物質の異常が起こると、小児の神経発達に重大な異常が発生すると考えられる。この意味ですでにネットワークができあがった後の成人の神経伝達物質病であるパーキンソン病、うつ病などと病態が異なり、臨床症状や治療法が異なることが予測される。これまで神経伝達物質のうち、ドーパミン (DA)、セロトニン系の合成調節にはテトラヒドロビオプテリン (BH4) が補酵素として関与しており、この BH4 合成系の律速酵素の部分欠損により瀬川病をきたすことが見いだされている。この他の BH4 欠損症やチロシン水酸化酵素欠損症でも、不随意運動や精神症状を来すことが知られている。一方、芳香族アミノ酸脱炭酸酵素の欠損では低緊張や眼球偏倚などの症状を来すことが明らかになっている。また、 γ -アミノ酪酸 (GABA) の異常では、コハク酸セミアルデヒド脱水素酵素欠損症などが知られている。しかし臨床症状による診断は困難であり患者が適切に診断されず、有効な治療を受けられていない可能性がある。これらの疾患について、小児神経伝達物質病として総合的に検討し、病態生理のさらなる理解、診断基準の確立、新しい治療法の開発を行ってきた。平成 23 年度は平成 21 年度の神経伝達物質病患者の全国調査に基づき、診断基準の作成と新しい患者の発見、さらに治療法の開発を行った。診断のついていない不随意運動もしくは異常眼球運動を呈した重症心身障害児・者の小児神経伝達物質病の鑑別診断を尿有機酸分析や血液・髄液プテリジン分析により行った。瀬川病と SR 欠損症、TH 欠損症の診断には髄液プテリジン分析と遺伝子解析を行い、瀬川病患者を新たに診断したが、SR 欠損症と TH 欠損症の患者は診断できなかった。AADC 欠損症では新たな患者の診断はできなかったが、唾液によるスクリーニング法の開発に成功し、国際 AADC 欠損症会議で発表した。またこの国際会議で遺伝子治療など世界的な治療の現状を把握できた。SSADH 欠損症は新たに 1 人の患者を診断できた。本研究はこれらの希少疾患を神経伝達物質病として集約することで希少疾患のため患者情報が少ないことによる患者家族の不安についてもある程度緩和することを目的としたシンポジウムを 3 班合同で開催したことが特色で、患者やその家族の不安を解消し希望をあたえることで、国民の健康・福祉の向上につなげるだけでなく医療に対する信頼を増し、行政および社会に貢献したことが独創的であった。

研究分担者

瀬川昌也（瀬川小児神経学クリニック・院長）
加藤光広（山形大学医学部・講師）
齋藤伸治（名古屋市立大学大学院・教授）
浜野晋一郎（埼玉県立小児医療センター・部長）
久保田雅也（国立成育医療研究センター・医長）
遠山 潤（国立病院機構西新潟中央病院・医長）
夏目 淳（名古屋大学医学部・准教授）
服部英司（大阪市立大学医学部・非常勤講師）
藤岡弘季（大阪市立大学医学部・非常勤講師）
前垣義弘（鳥取大学医学部・准教授）
松石豊次郎（久留米大学医学部・教授）
井手秀平（東京都立東部療育センター・医員）

A. 研究目的

平成 21 年度の神経伝達物質病患者の全国調査に基づき、平成 22 年度に診断基準の作成と新しい治療法の開発を行ってきたが、平成 23 年度も引きつづき診断基準の作成と新しい患者の発見、さらに新しい診断法と治療法の開発を行うことである。本研究はこれらの希少疾患を神経伝達物質病として集約することが特色で、共通の概念で病態を解明し診断基準を作成することで新しく患者を発見使用とする試みが独創的である。

B. 研究方法

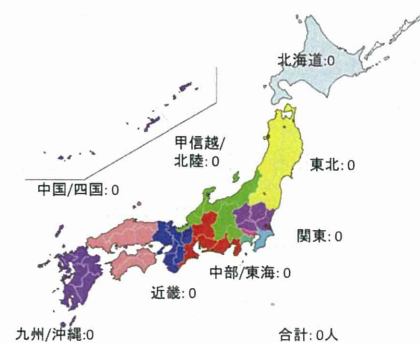
全国調査を基に、新しい患者の発見のための新しい診断基準の作成と病態の解明を行い、また新しい患者の発見のために、重症心身症施設で診断不明の症例について診断基準に基づくスクリーニング検査を行い、小児神経伝達物質病の鑑別診断を行った。この研究は大阪市立大学倫理委員会（承認番号 1595）の承認を得ており、患者又はその家族に十分な説明を行い、遺伝子検査や画像診断のためのビデオ撮影などについてはあらかじめ同意書をとるなど倫理的な配慮を行った。

C. 研究結果

分担研究者の瀬川昌也らは、瀬川病、セピアプ

テリン還元酵素欠損症、チロシン水酸化酵素欠損症の診断基準の作成を通じて、プテリジン代謝異常は、小児期発症のドーパ反応性ジストニアの病因となるが、パーキンソン病の病因とはならない可能性について研究した。その結果、ドーパ反応性ジストニアとパーキンソン病は、それぞれ固有の黒質線条体ドーパミン（DA）神経の障害に起因することが明らかにされた。

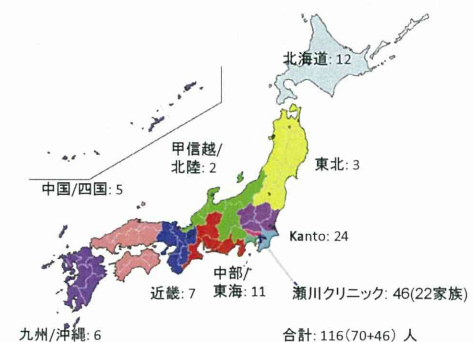
チロシン水酸化酵素 (TH) 欠損症



セピアプテリン還元酵素 (SR) 欠損症

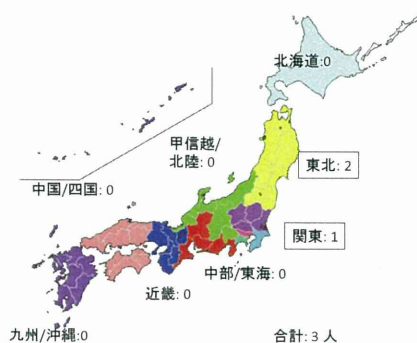


瀬川病



加藤光広は異常眼球運動と髄液所見から AADC 欠損症が疑われた 2 症例に対し、AADC 欠損症の原因遺伝子である DDC 遺伝子の解析を行った。その結果臨床データからは AADC 欠損症が疑われたが、DDC 遺伝子には一塩基多型以外の変異を認めず、確定診断には至らなかった。しかし、1 例では髄液 MHPG は正常範囲内であり、髄液 HVA と 5-HIAA よりも MHPG の特異度が高い可能性が示唆された。

芳香族アミノ酸脱炭酸酵素 (AADC) 欠損症



齋藤伸治は Angelman 症候群と良く似た表現型を示す患者に対して、候補遺伝子解析を行い、その結果 SLC9A6 遺伝子変異を同定し、その発症メカニズムを明らかにした。さらに、SLC9A6 遺伝子変異が X 連鎖精神遅滞においてどの程度存在しているのかを明らかにするために、104 名の X 連鎖精神遅滞患者を対象として、SLC9A6 遺伝子変異解析を実施したが、変異例は存在しなかった。したがって、SLC9A6 変異は X 連鎖精神遅滞での頻度は低いことを示した。

浜野晋一郎は小児神経伝達物質病における画像診断の特徴と診断における有用性について研究を行い、神経伝達物質病の機能的変化をとらえる目的で不随意運動時の SPECT を施行し、Subtraction of ictal and interictal SPECT co-registered to MRI (SISCOM) 画像解析法による評価を試みた。その結果、SISCOM 解析は病巣診断、病態解明のアプローチ、ならびに治療による

変化と効果の評価に有用な手段となる可能性があることを明らかにした。

久保田雅也は、瀬川病女性例における月経周期に伴う症状増悪について研究を行った。その結果、プロラクチン、エストロゲン (E2)、プロゲステロン (P) の変化をみたところ E2/P の低値が症状増悪と関連する可能性を見だし、女性ホルモン、特に estradiol は dopamine を上昇させる方向に働くが progesterone は Estrogen の作用 (dopamine 活性化) を antagonize することを明らかにした。

遠山潤は、不随意運動をきたす West 症候群症例の神経伝達物質について研究し、神経細胞における軸索起始部の異常がウエスト症候群の発症に関与している可能性を明らかにした。

夏目淳は脳内の神経伝達物質である γ -アミノ酪酸 (GABA) に関わる先天代謝異常で、発達遅滞やてんかんなどの神経症状を呈する SSADH 欠損症の臨床について研究を行った。中部地区、東海地区の小児科医、小児神経科医と診断基準、早期診断法についての議論、新規患者の有無について議論を行い、急性脳症の発症を契機に診断された今までの報告とは違った臨床経過の新規の SSADH 欠損症の患者を診断することができた。北陸地方の患者 1 名が死亡していたため、SSADH 欠損症の生存患者数の合計は 2011 年 12 月時点で 4 名のままであった。

コハク酸セミアルデヒド脱水素酵素 (SSADH) 欠損症 2011



服部英司、前垣義弘、松石豊次郎らは、診断のついていない不随意運動もしくは異常眼球運動

を呈した重症心身障害児・者の小児神経伝達物質の鑑別診断についての検討を行い、各種の医療機関および、重症心身障害施設で尿有機酸分析や血液・髄液プテリジン分析を行うことの重要性を提言した。

藤岡弘季は、新生児脳の神経伝達物質の基礎的研究として低酸素虚血による生化学的変化と興奮毒性との関連を調べるため、NMDA 受容体のアンタゴニストである MK-801 が低酸素虚血に与える影響について検討した。その結果、炎症性サイトカインの発現調節と iNOS の発現調節は異なる経路であることが示唆された。

井手秀平は、唾液中メラトニン濃度測定による AADC 欠損症のスクリーニング検査の可能性について研究を行い、髄液採取の難しい重症児（者）から AADC 欠損症をスクリーニングする方法として、夜間唾液中メラトニン濃度測定の有効を示しロンドンの国際 AADC 欠損症会議で発表し注目された。

D. 考察

ここで研究対象となるSR欠損症、TH欠損症、瀬川病はすべて終末部THの欠損を示し、黒質THの欠損を示さないこと。ロンドンの国際AADC欠損症会議でAADC欠損症の歩行可能例からAADC欠損症が黒質DAに影響を与えていないことが示唆された。SSADH欠損症も同様の病態が考えられる。これら疾患における黒質及び腹側被蓋野DA欠損はセロトニン活性低下に起因した抗重力筋活性低下がREM期atoniaのNREM期への漏出をもたらし、これによる脚橋被蓋核の活性低下に起因すると考えられた。

以上の研究を通じて平成23年度は新たに1名のSSADH欠損症が発見され、また数名の瀬川病患者が新規に診断されている。引きつづき新しい患者の発見に努めると共に、画像を取り入れた診断のガイドラインの作成に取り組み、より迅速に診断ができるように研究を勧める必要がある。また今年度は、メンケス病、BH4欠損症などについて

も小児神経伝達物質病として他の研究班と連携して合同シンポジウムを開催した。ロンドンで開催されたAADC欠損症の家族会主催のシンポジウムに参加し、患者家族の会の方々とともに討論し、国際的な研究活動を行うことができた。このように希少疾患・難治性疾患の広報のために、患者会、行政、研究・医療機関、マスコミなど各方面との連携を深めることができた。

E. 結論

今後これらの疾患についても病態の解明を勧め、新しい診断法・治療法の開発を行っていく必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shintaku H : Commentary on the mutation spectrum of and founder effects affecting the PTS gene in East-Asian populations. J Hum Genet. in press 2012
2. Wakahara R, Kunimoto H, Tanino K, Kojima H, Inoue A, Shintaku H, Nakajima K : Phospho-Ser727 of STAT3 regulates STAT3 activity by enhancing dephosphorylation of phospho-Tyr705 largely through TC45. Genes Cells. in press 2012
3. Sakazaki H, Niwa K, Nakazawa M, Saji T, Nakanishi T, Takamuro M, Ueno M, Kato H, Takatsuki S, Matsushima M, Kojima N, Ichida F, Kogaki S, Kido S, Arakaki Y, Waki K, Akagi T, Joo K, Muneuchi J, Suda K, Lee HJ, Shintaku H : Clinical features of adult patients with Eisenmenger's syndrome in Japan and Korea. Int J Cardiol in press 2012
4. Aso K, Okano Y, Takeda T, Sakamoto O, Ban

- K, Iida K, Yamano T, Shintaku H.: Spectrum of glutamate dehydrogenase mutations in Japanese patients with congenital hyperinsulinism and hyperammonemia syndrome. *Osaka City Med J.* 57(2011)1-9.
5. 橋本恵子、中村治雅、新宅治夫、野村芳子、村田美穂：著明な日内変動を有する5歳発症のDoparesponsive dystoniaで髄液ネオプテリン値正常の45歳女性例 *臨床神経学* 51(2011) 64
 6. 新宅治夫：フェニルケトン尿症の新しい治療法 食事療法から薬物療法へ(解説) *大阪小児科医会会報* 158 : 9-13 2011
 7. 新宅治夫：疾患からみる臨床検査の進めかた アミノ酸代謝異常が疑われるとき. *小児科診療* 74 : 329-339 2011
 8. 新宅治夫：BH4反応性PAH欠損症 先天代謝異常学会雑誌 27(1) : 20-24 2011
2. 学会発表
1. Shintaku H, Ohura T
Efficacy and safety of sapropterin dihydrochloride in long-term follow-up of patients with tetrahydrobiopterin- responsive mild phenylketonuria in Japan.
2011 Pediatric Academic Societies' & Asian Society for Pediatric Research Joint Meeting
April 30-May 3, 2011(DENVER)
 2. Fujioka H, Shintaku H,
Decrease of Neopterin and Biopterin in Plasma and Cerebral Spinal Fluids of Patients with Dopa-Responsive Dystonia
SSIEM Annual Symposium 2011
Aug 30-Sep 2, 2011 (GENEVA)
 3. Shintaku H, Oura T
Long-term Follow-up of Tetrahydrobiopterin(BH4) Therapy in Patients with BH4 Responsive mild phenylketonuria in Japan
SSIEM Annual Symposium 2011
Aug 30-Sep 2, 2011 (GENEVA)
 4. Furujo M, Kubo T, Shintaku H
A Case of Dihydropteridine Reductase Deficiency
SSIEM Annual Symposium 2011
Aug 30-Sep 2, 2011 (GENEVA)
 5. Shintaku H
Pteridine Metabolic Patterns as Diagnostic Biomarkers for Neurotransmitter Diseases
BIT's 4th Annual Congress and Exposition of Molecular Diagnostics (CEMD)
Sep 22-24, 2011(Beijing)
 6. Shintaku H, Segawa M, Kato M, Saitoh S, Hamano S, Kubota M, Tohyama J, Natsume J, Maegaki Y, Matsuishi T, Hattori H, Ide S, Itoh Y, Fujioka H, Nomura Y: Nationwide Epidemiological Study Of Pediatric Neurological Disease In Japan
1st International AADC Conference
Oct 6-7, 2011(London)
 7. Shintaku H, Fujioka H, Sakaguchi T, Kudoh S
Neopterin And Biopterin Metabolism In Segawa Disease
The 5th World Congress on Controversies in Neurology (CONy)
Oct 13-16, 2011(Beijing)
 8. 児玉浩子, 小川英伸, 藤澤千恵, 新宅治夫,
黒澤健司, 顧艶紅
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
第53回日本小児神経学会
平成23年5月26-28日(東京)
 9. 新宅治夫
小児神経伝達物質病
第53回日本小児神経学会
平成23年5月26-28日(東京)
 10. 武田泰輔, 野村志保, 二宮英一, 藤岡弘

季, 藤澤知恵, 児玉浩子, 野崎聡, 和田
康弘, 渡辺恭良, 新宅治夫

平成 23 年 8 月 12-14 日(東京)

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 114 回日本小児科学会

平成 23 年 8 月 12-14 日(東京)

11. 新宅治夫

日本における小児神経伝達物質病の全国
調査 難治性希少疾患の患者数と分布

第 114 回日本小児科学会

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

II. 分担研究報告

平成 23 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）

分担研究報告書

「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」

瀬川病が疑われる患者の血液・髄液プテリジン分析と遺伝子解析による診断法の検討

新宅治夫 大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学 教授

研究要旨

瀬川病は GTP シクロヒドロラーゼ I の遺伝的変異により発症する常染色体優性遺伝形式をとる遺伝性の神経疾患である。神経症状でジストニアを認めた患者の血液・髄液プテリジン分析を行い、瀬川病が疑われた場合に遺伝子解析を行った。遺伝子解析で片方の *GCHI* 遺伝子に異常を認めた場合、瀬川病と確定診断を行い新たに 5 人の瀬川病患者を診断した。瀬川病をスクリーニングする方法として血液・髄液中プテリジン分析は有効であると考えられた。

A. 研究目的

瀬川病の診断に、臨床診断以外に生化学的診断や遺伝子診断を導入し診断効率と精度を上げることを目的に、小児のジストニアで瀬川病が疑われる患者の血液・髄液プテリジン分析と遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

対象は、平成 23 年度に当教室に神経疾患（主にジストニア）の鑑別診断のために依頼のあった患者 64 人について血液・髄液プテリジン分析を行い、臨床症状と生化学分析から瀬川病が疑われた患者 20 人について文書による同意を得た上で *GCHI* の遺伝子解析を行った。

血液・髄液プテリジン分析は採取時に検体にアスコルビン酸を添加し遠心分離後上清を凍結して郵送し、ヨード酸化後に高速液体クロマトグラフィーで分離し蛍光検出器で測定した。*GCHI* 遺伝子解析はダイレクトシーケンス法で行った。

C. 研究結果

血液・髄液プテリジン分析で異常を認めた患者の中でプテリジン値の低い 20 人について *GCHI* の遺伝子解析を行った。5 人（7-15 歳）の患者で *GCHI* 遺伝子の片方に変異を認めた。

	Neopterin	Biopterin	N/B
血漿	10.9	8.5	1.2
正常値	17.9 ± 10.6	24.6 ± 5.9	0.8 ± 0.3

	Neopterin	Biopterin	N/B
髄液	8.1	7.1	1.1
正常値	8.0 - 25.0	10.0 - 20.0	0.44 - 1.28

D. 考察

瀬川病では、髄液中プテリジン分析でネオプテリン値 (N) とビオプテリン値 (B) の両方が低下していることが特徴であるが、血液中でも同様の変化が認められる症例もあり、髄液採取の難しい症例では血液中プテリジン分析も瀬川病の診断に有用と考えられた。

E. 結論

平成 23 年度は 5 人の瀬川病患者を新たに診断した。血液・髄液中プテリジン分析は瀬川病をスクリーニングする方法として有効であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 橋本恵子、中村治雅、新宅治夫、野村芳子、村田美穂: 著明な日内変動を有する5歳発症の Doparesponsive dystonia で髄液ネオプテリン値正常の45歳女性例 臨床神経学 51(2011) 64

2. 学会発表

- 新宅治夫: 小児神経伝達物質病、第53回日本小児神経学会、平成23年5月26-28日(東京)
- 新宅治夫: 日本における小児神経伝達物質病の全国調査 難治性希少疾患の患者数と分布、第114回日本小児科学会、平成23年8月12-14日(東京)
- Fujioka H, Shintaku H.: Decrease of Neopterin and Biopterin in Plasma and Cerebral Spinal Fluids of Patients with Dopa-Responsive Dystonia.

SSIEM Annual Symposium 2011. Aug 30-Sep 2, 2011 (GENEVA)

- Shintaku H.: Pteridine Metabolic Patterns as Diagnostic Biomarkers for Neurotransmitter Diseases. BIT's 4th Annual Congress and Exposition of Molecular Diagnostics. (CEMD). Sep 22-24, 2011 (Beijing)
- Shintaku H, Fujioka H, Sakaguchi T, Kudoh S.: Neopterin And Biopterin Metabolism In Segawa Disease. The 5th World Congress on Controversies in Neurology (CONy). Oct 13-16, 2011(Beijing)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

瀬川病 2011



プテリジン代謝異常症

研究分担者 瀬川昌也 瀬川小児神経学クリニック 院長

研究要旨 高齢(90歳)で死亡した剖検検査により、瀬川病は終末部チロシン水酸化酵素活性化により刺激伝達を行う黒質線条体ドパミン・ニューロン異常に起因することを明らかにした。

A. 研究目的

前年度迄の研究から、瀬川病は臨床的特徴及び文献にみる脳剖検所見から黒質線条体終末部チロシン水酸化酵素(TH)の活性低下に起因するが、黒質 TH は正常、また脳に器質的病変がないことが示唆してきたが、90歳で死亡した瀬川病の脳剖検所見は、この仮説を実証するとともに、黒質線条体ドパミン(DA)ニューロンには、終末部 TH 活性により、DA 伝達を行うものと、黒質 TH 活性により、それを行うものの二種があることを明らかにした。

B. 対象

症例は当クリニックで2歳時受診した女兒の祖母、51歳時受診臨床開始、90歳で死亡した。

C. 臨床経過

臨床経過は、

8歳 日内変動を呈する右内反尖足で発症

10歳 午後～夕方に歩行不可

10歳代前半 歩行は朝のみ可、下肢に筋緊張を認め、それは全肢に及んだ。上肢に振戦を認めた。脳性麻痺の診断を受ける

10歳代後半 この頃より、筋緊張は全肢に及んだ。

19歳 結婚

21歳 第一子出産、妊娠、出産は症状に変化を与えなかった。

20歳代後半 10歳代より、四肢にみられた姿勢振戦は20歳頃より躯幹筋にも認められた。しかし、ジストニア筋緊張は20歳代より、振戦は30歳代より固定した。

51歳当クリニックの初診時の神経学的所見は、

姿勢ジストニア全身にみられたが、特に両側内反尖足、肘関節回内位が目立ち四肢筋強剛、姿勢振戦(但し、歯車様強剛とはならない)、脊柱前弯、且つ右凸の側弯が認められた。歩行は支え歩行。

腱反射は正常～やや亢進していた。脳神経症状、錐体路症状、小脳症状、知能障害、精神障害は認められなかった。51歳に開始したL-dopaは90歳まで著効を示したが、90歳6月癌で死亡した。

死亡8日前の臨床神経学的検査では、意識清明、記憶力年齢相当、精神症状なし。座位時左方へ傾くが、側弯なし、前屈なし。左肘関節軽度回内、母指内反位をとる。四肢筋に左側優位に軽度の筋強剛をみる、胸鎖乳突筋強剛右側優位であった。上肢回内回外運動遅延、しかし運動に異常なく、他側上肢に誘発性筋強剛は認められなかった。腱反射やや減弱、病的反射認めず。臥位から坐位への移動正常にできた。

D. 結果

神経病理、組織化学的検査所見は以下に示す。

脳重 960g (正常対比 1116±113g)

脳の奇形、萎縮認めず。

神経病理学的所見

視床細胞減少と線維性グリオージスのほかに異常を認めず。

免疫組織化学的検査

1. 被殻外側 calbindin-D28K(CD)陰性、striosome 優位に TH 染色性低下
2. 黒質 TH 染色性正常
3. 被殻 projection neuron と DA 受容体の

calcineurin は正常

4. 淡蒼球外節の enkephalin 免疫染色性は正常
5. 黒質メラニン色素量は異常なし
6. 黒質に封入体は認められない
7. 黒質、被殻に anti-phosphorylated tauprotein 又は TDP43 immuno - staining は免疫反応性構造は認められず。
8. 脚橋被蓋核のアセチルコリン・ニューロンで acetylcholine esterase に対する免疫反応性の低下、TH-immunoreactive catecholamine neurons と CD-immunoreactive GABAergic neurons の増加を認めた。

即ち、神経病理学的には異常は認められず、主に異常は被殻外側の TH の染色性の低下。被殻での Calbindin-D28K 陰性 Striosome 優位に TH の染色性の低下であり、黒質緻密部の染色性は良く保たれていた。

E. 考察

黒質 DA が正常でありながら、ジストニアが出現、その治療に l-dopa を要することは、二種の黒質線条体ドパミン・ニューロンが存在することを明らかにした。

その一つは、

- 幼児期早期に、終末部に TH が高い活性を有し、小児期の DA 伝達の主役を成す。
- その DA 活性は 10 歳代に向け継年齢的に減少、20 歳代には低値となり、恒常状態となり、DA 伝達の役割を終える。
- 小児期ではその DA 活性は日内変動を呈する。
- DA 受容体及び中枢神経系の機能、形態形成、発達に関与しない。
- この DA 活性はプテリジン代謝又 TH 代謝に起因する。

他は、

- 黒質の TH により DA 伝達を行うが、幼児期に低く、継年齢的に直線的に増加、10 歳代後半より DA 伝達の主役をなす。
- その活性は日内変動を呈さない。

- DA 受容体及びそれが支配する中枢神経系の機能発達、形態形成に関与する。
- この活性は脚橋被蓋核 (PPN) に制御される。
- PPN は、抗重力筋活性、ロコモーション駆動に関与するセロトニン・ニューロンにより活性化される。

F. 結論

剖検脳の神経病理学的及び免疫組織学的検査結果から、瀬川病は、黒質線条体 (NS) 終末部の高い TH 活性により刺激伝達をする NS・DA ニューロンの異常に起因するが、黒質 TH 活性により刺激伝達をする NS・DA ニューロンは正常に保たれていることを明らかにした。その活性の改善に l-Dopa の投与を要することは、両者が異なる NS・DA ニューロンであることを確証、更に、瀬川病の典型例ではロコモーションは保たれており、このセロトニンに異常はないと云えるが、早期発症例、非特異例には、この異常があり、これが脚橋被蓋核の活性低下を介し、黒質 DA 活性を低下させると考えられる。黒質 DA 活性低下により刺激伝達を行う DA ニューロンは中枢神経系の機能形態形成を重要な働きを持つと考え、この障害は運動疾患以外の徴候の発現につながると云える。

終末部 TH 活性低下により刺激伝達を行う DA ニューロンは、発達過程で中枢神経系の形態、機能の発達には関与しないことも明らかにした。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1. M. Segawa : Movement Disorders Characteristics and Rationale of their occurrence in the Developing Brain 17th Congress of Child Neurologists of Mediterranean 2011 Sep 13-19, Piran, Solovenia,
2. 瀬川昌也:瀬川病の発見 セロトニン、睡眠、ジストニア 第 114 回日本小児科学会学術

集会、東京、平成 23 年 8 月

3. 瀬川昌也：90 歳で死亡した瀬川病症例の神経病理学的研究、第 26 回日本大脳基底核研究会 静岡県、箱根、平成 23 年 7 月
4. M. Segawa, Y. Nomura&M. Hayashi: An autopsy on 90 year old female of Segawa Disease, 15th International Congress Parkinson's Disease and Movement, 2011 June 4-11 Toronto, Canada

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

AADC 欠損症疑い例における DDC 遺伝子解析

研究分担者 加藤 光広 山形大学医学部附属病院 小児科講師

研究要旨

異常眼球運動と髄液所見から AADC 欠損症が疑われた 2 症例に対し、AADC 欠損症の原因遺伝子である DDC 遺伝子の解析を行った。2 例とも重度発達遅滞を呈し、脳性麻痺・精神遅滞と診断され、眼球偏倚を示す oculogyric crisis が認められた。また、髄液 HVA と 5-HIAA の低下が認められた。臨床データからは AADC 欠損症が疑われたが、DDC 遺伝子には一塩基多型以外の変異を認めず、確定診断には至らなかった。症例 1 では L-DOPA が、症例 2 では MHPG が正常であった。AADC 欠損症の診断スクリーニングとして、髄液検査は必須であり、HVA 低値以外に、5HIAA と MHPG の低値、L-DOPA の高値を指標に判断し、遺伝子解析で確定診断を行う必要がある。

A. 研究目的

AADC 欠損症は、芳香族アミノ酸脱炭酸酵素 Aromatic amino acid decarboxylase (AADC) の機能低下により多様な神経症状をきたす難治性の疾患である。国内での確定診断例は 2 家系 3 例のみであり非常に稀だが、診断のためには髄液のモノアミン代謝物質の測定が必要であり、未診断例が多いと推定される。一方、髄液検査のための腰椎穿刺は侵襲性が高く、正確かつ効率的に髄液検査適応例を判断することが求められる。AADC 欠損症では、血液・尿検査や脳波・頭部 MRI などの一般検査所見は正常もしくは非特異的な異常のみでありスクリーニングには不適であるが、臨床症状は異常眼球運動をはじめとして特徴的な所見が多く、侵襲性もなくスクリーニングに有用と考えられる。その一方、確定診断のためには酵素測定もしくは遺伝子解析が必須である。AADC 欠損症の原因遺伝子である DDC 遺伝子は、ヒト染色体 7p11 に位置し、15 のエクソンから成り立つ。転写産物は 1938 塩基対だが、AADC 蛋白として翻訳されるアミノ酸残基数は 480 個であり、翻訳領域はエクソン 2 から 14 までである。AADC 欠損症における DDC 遺伝子の変異部位は、エクソン 1 から 14 まで散在しており、変異好発部位はない。よ

って、全領域の遺伝子解析を行う必要がある。

今年度の本研究では、初年度と 2 年度に報告した臨床症状から AADC 欠損症が疑われた 2 症例に対して DDC 遺伝子解析を行ったので、その結果をもとに、診断基準の問題点を考察する。

B. 研究方法

対象：重度の発達遅滞を呈し、原因不明の脳性麻痺・精神遅滞と診断されていたが、私たちの啓蒙活動を契機に AADC 欠損症の可能性が疑われ、他施設から紹介を受けた 2 症例。

症例 1（久留米大学 松石豊次郎先生）：16 歳女性。乳児期早期から哺乳不良・発達遅滞を認め、5 歳から週に 2-3 回左上方を凝視し筋緊張亢進、口唇を噛むような動作、体温上昇をきたす発作が日中に 1-2 時間出現するようになった。16 歳で家族が AADC 欠損症の TV 番組をみて、再精査を依頼された。134cm, 20kg. 除皮質肢位。筋緊張は四肢で亢進、体幹で低下。ジストニアあり。追視・笑い・音への反応 可。髄液 5-HIAA 8.7 ng/ml (20-30), HVA 1.2 ng/ml (低値 新宅治夫先生), MHPG 2.9 (3.2-5.9), L-dopa 0.3 ng/ml (<4.9)。

症例 2（東京都立東大和療育センター 西條晴美先生）：34 歳男性。新生児期から哺乳不良・低

緊張を認め、3 か月から毎日数分間の間歇性内斜視を認めた。11 か月から突発波を伴う入眠時の発声・強直発作が出現し、4 歳頃をピークに減少した。12 歳から興奮・不眠・不機嫌をきたしやすくなり、16 歳から発声・眼球偏倚・強直発作が1 週間に数回再発した。脳波には突発波なし。21 歳と27 歳に発声・全身強直が一時的に悪化した。157cm, 44kg. 頭囲 53.5cm. 多汗 痙性+アテトーゼの混合型四肢麻痺。咀嚼不可・嚥下可。舌突出。水平方向のみ追視・笑い・音への反応 可。髄液 5-HIAA 3.5 ng/ml (17-116), HVA 1.2 ng/ml (28-200), MHPG 7.2 (6.5-51), L-dopa 未検

方法： 保護者から遺伝子解析に対する同意を得た後に採血し、血液を山形大学に送付し、リンパ球から自動抽出器にて DNA を採取した。DDC 遺伝子の全エクソンおよび近傍イントロンを含むように PCR プライマーを設計し、PCR 増幅後にサンガー法による直接塩基配列解析を行ない、野生型と比較した。変異を認めたエクソンについては、両親の解析を追加し由来を確認した。

(倫理面への配慮)

山形大学医学部倫理委員会の承認を受けた(平成 22 年 1 月 18 日 第 137 号)。

C. 研究結果

症例 1 には変異を認めなかった。症例 2 にはイントロン 6 と 3' 非翻訳領域にそれぞれシトシンがチミンに置き換わる点変異 (c. IVS6-22C>T, c.*341C>T) を認めた。Human genome variation society (HGVS, <http://www.hgvs.org/mutnomen/>) で一塩基多型の検索を行ったところ、それぞれのアレル頻度は、32%, 7.8% と正常でも認められた。両者とも父由来であった。

D. 考察

原因不明の四肢麻痺、最重度精神遅滞に異常眼球運動と精神症状、自律神経症状を示し、髄液 HVA と 5-HIAA の低下が認められ AADC 欠損症が疑われた 2 例に対し、DDC 遺伝子のシークエンス解析を行ったが、一塩基多型以外の変異を認めず、確定

診断には至らなかった。今回用いた遺伝子解析手法は PCR 増幅によるサンガーシークエンス法であり、片側アレルのエクソン単位もしくはゲノム単位の欠失や重複は検出ができない。また、プライマーの設計部位以外のプロモーター部位やイントロン内部の塩基配列変化は検出できないため、遺伝子解析のみでは AADC 欠損症を否定することができない。

その一方、2 症例の髄液の生化学所見をみると、HVA の低下は著明であるが、両例とも 5HIAA の低下は軽度であり、症例 1 では L-DOPA が正常であり、症例 2 では MHPG が正常であった。既報告例では、HVA の低下は軽度であるのに対し、5HIAA および MHPG は検出限界以下と著明な低下を認めており、L-DOPA も高値を示す。髄液所見からも 2 症例においては AADC 欠損症は否定されることが考えられる。

E. 結論

AADC 欠損症の診断スクリーニングとして、髄液検査は必須であり、HVA の値よりも、5HIAA と MHPG の低値、L-DOPA の高値を指標に判断し、遺伝子解析を行うかどうか判断する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakamura K, Kato M, Sasaki A, Kanai M, Hayasaka K. Congenital Dysplastic Microcephaly and Hypoplasia of the Brainstem and Cerebellum With Diffuse Intracranial Calcification. J Child Neurol (in press)
2. Tohyama J, Kato M, Kawasaki S, Harada N, Kawara H, Matsui T, Akasaka N, Ohashi T, Kobayashi Y, Matsumoto N. Dandy-Walker malformation associated with heterozygous ZIC1 and ZIC4 deletion: Report of a new patient. Am J Med Genet Part A 2011;155A:130-133

3. Komaki H, Hayashi YK, Tsuburaya R, Sugie K, Kato M, Nagai T, Imataka G, Suzuki S, Saitoh S, Asahina N, Honke K, Higuchi Y, Sakuma H, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Nonaka I, Nishino I. Inflammatory changes in infantile-onset LMNA-associated myopathy. *Neuromuscul Disord* 2011;21:563-568
 4. Kato M. Going BAC or oligo microarray to the well: a commentary on 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* 2011;56:104-105
 5. Hirose M, Haginoya K, Yokoyama H, Kikuchi A, Hino-Fukuyo N, Munakata M, Uematsu M, Inuma K, Kato M, Yamamoto T, Tsuchiya S. Progressive atrophy of the cerebrum in 2 Japanese sisters with microcephaly with simplified gyri and enlarged extraaxial space. *Neuropediatrics* 2011;42:163-166
2. 学会発表
 - 加藤光広：AACDC欠損症の臨床症状「先天性脳内ドーパミンとセロトニン欠乏による特異症状」。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。3班合同・公開シンポジウム：東京 2011年2月27日
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

アンジェルマン症候群に類似した症状を示す患者を対象とした DNA アレイ解析

研究分担者 齋藤 伸治 名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野 教授

研究要旨

アンジェルマン症候群（AS）は精神遅滞、てんかんに加えて失調様運動障害と表現される不随意運動を伴う疾患である。そのため、ASに類似した症状を示す患者の中に、神経伝達物質病が隠れている可能性がある。私たちはASが疑われたが、遺伝学的にASが否定された患者34例を対象として、DNAアレイ解析を行い、原因として染色体コピー数異常がどの程度存在するのかがどうかを検討した。その結果、3例（8.8%）に染色体コピー数異常を同定した。DNAアレイ解析は原因不明の神経伝達病を疑う患者に対する検査として重要な役割を占めている。

A. 研究目的

小児神経伝達物質病の原因を明らかにすることを目的として、不随意運動、精神遅滞、てんかんを主要な症状とするアンジェルマン症候群（AS）に類似した症状を示す患者を対象として DNA アレイ解析を行った。神経伝達物質病が疑われる症状を示す患者における染色体コピー数異常の果たす役割を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

臨床的に AS が疑われたが、SNRPN 遺伝子 DNA メチル化テスト、UBE3A 遺伝子解析に異常を認めず、遺伝学的に AS の確定診断が得られなかった患者を対象とした。その中で、研究への同意が得られた 34 名を対象とした。

末梢血由来ゲノム DNA を用いて、DNA アレイ解析を行った。DNA アレイ解析は 33 例では Affimetrix SNP 5.0 アレイを用い、1 例では Agilent SurePrint G3 60K アレイを用いた。前者は北海道医療大学個別差医療研究所の新川詔夫、太田亨先生との共同研究であり、後者は神奈川こども医療センター遺伝科黒澤健司先生との共同研究である。

コピー数異常は 400kb 以上を陽性とし、これまでに良性のコピー数変異（CNV）としてデータベ

ースに登録されているものは除外した。

（倫理面への配慮）

調査にあたり患者家族から研究参加の同意を得た。

C. 研究結果

31 例では明らかな染色体コピー数異常を認めなかった。

3 例において疾患との関連が強く疑われる染色体コピー数異常を同定した。

内訳は、10q11.21-q11.23 5.6Mb de novo 欠失 1 例、ring 18 モザイク（18q21.2-q23 29.12Mb, 18p11.32 1.5Mb del）1 例、14q11.2-q12 5.1Mb 欠失 1 例であった。10q11.21-q11.23 欠失例以外は両親の検索ができず、遺伝性は不明である。

D. 考察

DNA アレイ解析を行うと、小奇形などの合併症を伴う原因不明の精神遅滞の 10-20%に微細染色体異常が同定されることが明らかにされている。今回の検討でも、8.8%に微細染色体異常が同定された。概ね、これまでの報告に一致する頻度であった。

同定されたものはすべて欠失であり、重複の例はなかった。10q11.21-q11.23 欠失は、最近まとまった報告がなされており、精神遅滞において同

定される微細欠失である。本欠失の特徴は、表現型を示さない両親のどちらかがしばしば同じ欠失を有することである。私たちが同定した例では *de novo* の欠失であり、両親は欠失を有していなかった。10q11.21-q11.23 欠失はしたがって、原因というよりは、精神遅滞発症のリスクを規定する感受性アレルと位置づけることができる。10q11.21-q11.23 以外にも、1q21.1 欠失や 16q13 欠失は同様に、精神遅滞や自閉症の発症リスクを規定していることが明らかになっている。これらの微細欠失は遺伝要因と環境要因を考える上で、重要なモデルとなっている。

ring 18 モザイク (18q21.2-q23 29.12Mb, 18p11.32 1.5Mb del) 例では、18q21.2-q23 に TCF4 遺伝子が位置している。TCF4 遺伝子のハプロ不全は Pitt-Hopkins 症候群の原因であることが明らかにされている。最近の報告で、AS の表現型を示した例の 2% が Pitt-Hopkins 症候群であることが示された。したがって、TCF4 変異の表現型は AS と共通している部分が多く、臨床的に混同されやすい。これらの結果から、ring 18 モザイクにより、TCF4 欠失による Pitt-Hopkins 症候群の表現型を示したことが考えられた。また、モザイクであっても、アレイ解析にて同定しうることが示された。

14q11.2-q12 欠失領域には FOXP1 遺伝子が存在する。FOXP1 欠失は早発型レット症候群の原因であることが明らかにされている。レット症候群と AS とは精神遅滞、てんかん、不随意運動など共通する症状を有し、時に混同されることが知られている。したがって、14q11.2-q12 欠失例は症状の共通性から、AS が疑われていたことが理解できる。

E. 結論

AS の表現型を呈する患者 34 例のなかに微細染色体欠失を 3 例 (8.8%) 同定した。微細欠失により AS 様の表現型を示す可能性があり、AS が疑われるが、遺伝学的に否定された場合には DNA アレイ解析を行うことが望ましい。

欠失範囲に存在する遺伝子は精神遅滞、てんか

ん、不随意運動の原因となっている可能性があり、原因不明の不随意運動を示す神経伝達物質病の原因の追求のために、DNA アレイ解析は強力な方法である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hayashi S, et al. 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* 56:110-124, 2011.
2. Sato K, et al. Genetic analysis of two Japanese families with progressive external ophthalmoplegia and parkinsonism. *J Neuro* 258:1327-1332, 2011.
3. Takahashi Y, et al. A loss-of-function mutation in the *SLC9A6* gene causes X-linked mental retardation resembling Angelman syndrome. *Am J Med Genet Part B: Neuropsychiatric Genetics* 156:799-807, 2011.
4. Tohyama J, et al. West Syndrome Associated with Mosaic Duplication of FOXP1 in a Patient with Maternal Uniparental Disomy of Chromosome 14. *Am J Med Genet Part A* 155A:2584-2588, 2011.
5. Sudo A, et al. Successful cochlear implantation in a patient with mitochondrial hearing loss and m.625G > A transition. *J Laryngol Otol* 125:1282-1285, 2011.
6. Hosoki K, et al. Hand-foot-genital syndrome with a 7p15 deletion demonstrates a clinically recognizable syndrome. *Pediatr Int* (in press)

2. 学会発表

1. 斉藤伸治、細木華奈、夏目淳、今井純好、中島翠、植田佑樹、朝比奈直子、白石秀明 : 5q31

微細欠失は乳児期の筋緊張低下と重度精神遅滞を示す新しい症候群である、第 53 回日本小児神経学会総会 平成 23 年 5 月 26-28 日 (東京)

2. 高野亨子、小沢浩、稲田穰、上石晶子、有本潔、木実谷哲史、久保田雅也、斉藤伸治 :

Prader-Willi 症候群の摂食の改善について
第 53 回日本小児神経学会総会、平成 23 年 5 月 26-28 日 (東京)

3. 細木華奈、太田亨、新川詔夫、斉藤伸治 : PWS 様表現型を示す微細染色体異常、第 56 回日本人類遺伝学会 平成 23 年 11 月 10-12 日 (幕張)

4. HOSOKI K, OHTA T, NATSUME J, IMAI S, OKUMURA A, MATSUI T, HARADA N, SCAGLIA F, BACINO CA, NIIKAWA N, SAITOH S. 5q31.3 microdeletion syndrome is a

clinically discernible new syndrome characterized by severe neonatal hypotonia, feeding difficulties, respiratory distress, and severe developmental delay. 61th Annual Meeting of American Society of Human Genetics, Montreal, Canada, 10/12-15/2011

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし