

201128089B

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 22 年度～23 年度 総合研究報告書

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 22 年度～ 23 年度 総合研究報告書

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. 瀬川病の診断基準の作成と病態の解明	9
瀬川小児神経学クリニック 瀬川昌也	
2. AADC 欠損症の臨床像と遺伝子解析に基づいた診断基準の作成	14
山形大学医学部附属病院 小児科 加藤光広	
3. 神経伝達物質病の疫学と病態に関する研究	18
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	
4. 小児神経伝達物質病における画像検査の有用性と脳機能画像検査の試み	22
埼玉県立小児医療センター 神経科 浜野晋一郎	
5. 瀬川病女性例における妊娠、月経周期に伴う症状増悪について	30
国立成育医療研究センター 神経内科 久保田雅也	
6. セピアプテリン還元酵素欠損症の診断基準の作成, BH4 欠損症の臨床症状の検討, および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	33
西新潟中央病院 小児科 遠山 潤	
7. SSADH 欠損症の診断基準作成のための臨床症状の検討	38
名古屋大学医学部 小児科 夏目 淳	
8. 我国における小児神経伝達物質病の調査と重症心身障害児施設におけるスクリーニング	42
大阪市立大学大学院医学研究科 発達小児医学 服部英司	
9. 瀬川病の化学診断についての研究	46
大阪市立大学大学院医学研究科 発達小児医学 藤岡弘季	
10. 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	48
鳥取大学医学部 脳神経小児科 前垣義弘	
11. 九州における小児神経伝達物質病患者の新規患者の発見、診断に関する研究	50
久留米大学医学部 小児科学講座 松石豊次郎	
12. 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	52
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	56
IV. 研究成果の刊行物・別刷	61

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合研究報告書

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医学研究科発達小児医学 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。神経伝達物質のうち、ドパミン、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（TH）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（SSADH）欠損症などが知られている。いずれも中枢神経系に症状があり小児神経疾患として取り扱われているが、病因は神経伝達物質の代謝異常症であり早期に適切な診断と治療が必要である。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った。本研究は全国を 8 地区に分けそれぞれの担当地区を含む全国 11 施設 12 人の分担研究者により平成 21 年度の神経伝達物質病患者の全国調査を行い、その結果に基づいて、平成 22～23 年度に診断基準の作成と新しい患者の発見、さらに診断・治療法の開発を行った。これまであまり研究されてこなかった超希少疾患において、組織的・体系的に広く医療関係者の協力を求め患者の発見や診断に努めた結果、診断が難しく見過ごされていた神経伝達物質の異常による患者が新たに診断され、適切な診療が行われるようになった。さらに小児神経伝達物質病家族会のホームページの作成、希少疾患研究班 3 合同シンポジウムの開催、シンポジウムへの患者会の参加など患者とその家族と連携して調査研究を行うことを通じて患者家族の不安を解消し希望をあたえたことは、国民の健康・福祉の向上につながるだけでなく医療に対する信頼が増し、ひいては行政および社会へ計り知れない貢献ができたと考えられる。

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 22～23 年度中に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う

ことを目的に、希少疾患を神経伝達物質病として集約し、共通の概念で病態の解明と調査研究を行った。

B. 研究方法

平成 22～23 年度は平成 21 年度の全国調査を基に、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った。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。

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、脳の発達に重要な役割を有する脳幹・中脳アミン系刺激伝達物質の生成に、発達早期に関与する代謝系の異常による刺激伝達物質の欠損がいかなる特異性を持つか、いかにすれば感知できるかを研究した。その結果、黒質線条体ドパミン・ニューロンには、終末部 TH の活性により刺激伝達を行うものと、黒質 TH 活性により刺激伝達を行うものの二種があり、前者は乳幼小児期の刺激伝達の主役をなすが、後者は 10 歳以後特に思春期 20 歳代でその役を受け持つことが示唆させた。前者は、DA 刺激伝達のみに関与、中枢神経系の形態、機能、発達には関与しないが、後者は、これらに関与、かつ、月・年齢による特異的な形態、機能の発達に関与することが示唆された。

加藤浩光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。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。

以上の結果から 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ことを明らかにした。

齊藤伸治は小児神経伝達物質病の診断基準の作成とその妥当性を検討するために不随意運動を示す 5 症例の検討を行った。その結果原因が同定されたのは 1 例のみであり、MCT8 欠損症であった。原因不明の 4 例には髄液モノアミン代謝物の解析を行ったが、神経伝達病を積極的に示唆する結果は得られなかった。最終年度に実施した DNA アレイ解析では、34 例の AS 様表現型を呈する患者のなかに、3 例 (8.8%) に染色体コピー数異常を同定した。これらの結果から、小児期早期に不随意運動を示す患者の原因は多彩であり、小児神経伝達物質病を含めた体系的な解析が望ましいこと、さらに原因不明の神経伝達物質病の検査の一環として、DNA アレイは欠かせない位置づけとなっていると考えられた。

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、MRI では不随意運動に関連する基底核の異常所見よりも、大脳白質における異常所見が重要と考えられることを示した。その結果、① SSADH 欠損症で基底核の異常所見が明瞭なこと以外、他の神経伝達物質病の MRI では不随意運動に関連する基底核の異常所見よりも、大脳白質における異常所見が重要であること、②不随意運動、知的障害を呈し、MRI で髄鞘化遅延、髄鞘形成不全・白質変性、脳梁菲薄化など大脳白質の異常を呈している場合は、神経伝達物質病を鑑別疾患に加えるべきであること、③SISCOM 画像解析法により、不随意運動時の基底核の局所脳血流増加を明瞭に可視化できたこと、④SPECT のような機能画像とソフトウェアの改善は神経伝達物質病のような形態的異常が乏しい疾患の病態の解明、ならびに治療効果の判定に有用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、瀬川病女性例で月経前の症状増悪、妊娠初期の症状増悪を高率に認め、L-dopa 増量によりほとんどの症状は軽快した。女性ホルモン、特に Estradiol/progesterone 比のドパミン代謝に対する影響(E2/P 比低下で dopamine 低下)が原因として想定されることを見いだした。

遠山潤は、神経伝達物質病のひとつであるセピアプテリン還元酵素欠損症の診断基準を作成し患者集積をおこなった。その結果、現在のところ患者数は不定であった。新生児マススクリーニング開始以前に発症した BH4 欠損症症例では、運動発達の遅れ以外に、ジストニア、ジスキネジア、アテトーゼ、振戦などの不随意運動、筋緊張低下、歩容異常、パーキンソンニズム症状などがみられた。BH4 欠損症は早期診断、早期治療が重要であり、日内変動を伴い、低緊張型もしくは不随意運動を伴う原因不明の脳性麻痺例では、BH4 負荷試験、尿中プテリジン化合物分析が必要であることを提言した。

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。その結果 SSADH 欠損症は重度な神経症状を呈し予後不良なことが多いが、特異的な臨床症状に乏しいため乳児期早期からの原因不明の発達遅滞、発達障害、てんかんの患者において積極的に尿中有機酸分析を行うことが早期診断につながることを提言した。また、まれに感染を契機に急性脳症を発症することがあるが急性脳症は重い神経学的後遺症につながることもあるため注意が必要であること、さらに感染を契機に急性脳症を発症した患者において両側の淡蒼球に異常が見られた場合には SSADH 欠損症も疑い、尿中有機酸分析を行うことが診断に重要であることを報告した。

前垣義弘、平成 21 年度は中国・四国地方の症例調査を、平成 22-23 年度は鳥取・島根両県の重症心身障害児施設に通院・入所している原因不明の重度運動障害症例を対象に、神経伝達物質病

の可能性を神経所見から調査した。その結果、神経伝達物質病に比較的特徴的な眼球運動発作と症状の日内変動を呈する例は少なく、同意の得られた症例に対して尿有機酸分析、髄液プテリジン分析およびメタボローム解析を行ったが診断例はなかったことが、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について、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。

松石豊次郎らは、稀少疾患である、小児伝達物質病の疾患概念の啓蒙をはかり、理解をすすめ、九州地区での未診断の患児・者の発見および治療的介入を検討した。その結果、瀬川病は九州でも新たに 3 人の患児と 1 人の疑い例がみつかり、潜在的にもっと存在している可能性が示唆された。Oculogyric crisis は AADC 欠損症で注目されているが、TH 欠損症や他の疾患でもあり今後の鑑別が必要であることを示した。

服部英司は我国の小児科、神経内科を有する病院ならびに重症心身障害児施設を対象とした小児神経伝達物質病のアンケート調査を施行し、重症心身障害児施設において診断不明のまま、脳性麻痺や知的障害とされている患者の症状と病歴によるスクリーニング、血漿プテリジン分析によるスクリーニングを試みた。その結果、新たな患者の発見には至らなかったが、重症心身障害児・者では血漿ピオプテリンの値が低い傾向にあることを明らかにした。

藤岡弘季は、ドーパ反応性ジストニアを来した患者の血漿を用いて瀬川病の化学診断法を開発について検討した。その結果、瀬川病患者において、血漿中ネオプテリン、及び髄液中ネオプテリン・ピオプテリン値の低下を認めた。これは瀬川病の新しい化学診断とて有用であると示唆された。

井手秀平は、重症心身障害児(者) (以下重症児(者)) の中には、眼球上転発作やジストニアを示す例があり AADC 欠損症が疑われる症例が存在するが、診断に必要な髄液採取は実施困難な場合

が多く、重症児（者）でも抵抗なく実施可能な簡便なスクリーニング検査が望まれることから、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った。その結果、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であることを示した。

D. 考察

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 22～23 年度中に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うことを目的に、希少疾患を神経伝達物質病として集約し、共通の概念で病態の解明と調査研究を行った。新たに 1 人の SSADH 欠損症が発見され、また 44 人の瀬川病患者が新規に診断されている。本研究班終了後も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 3 班合同シンポジウムを開催した。この合同シンポジウムを通じて患者家族の会の方々にも参加して頂き、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

今後これらの神経伝達物質病について引きつづき病態の解明を勧め、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
9. 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.* 2010 52(3): 393-7

10. Fujioka H, Shintaku H, Kudo S, Yamano T, Fujioka H. Plasma phenylalanine level in dopa-responsive dystonia. *Mov Disord.* 2009 24 (15):2289-90.

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
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
平成 23 年 8 月 12-14 日(東京)
12. Haruo Shintaku, Masaya Segawa, Mitsuhiko Kato, Shinji Saitoh, Shin-ichiro Hamano, Masaya Kubota, Jun

- Tohyama, Jun Natsume, Yoshihiro Maegaki, Toyojiro Matsuishi, Hideji Hattori, Shuhe Ide, Yasusi Itoh, Hiroki Fujioka, Yoshiko Nomura. Nationwide epidemiological study of pediatric neurotransmitter disease in Japan. The 4th World Congress on Controversies of Neurology (CONy) Barcelona, Spain, October 28-31, 2010
13. Hiroki Fujioka, Haruo Shintaku, The Effects of Excitotoxicity with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Piglet Model. The 4th World Congress on Controversies in Neurology (CONy), Barcelona, Spain
14. Haruo Shintaku, Teruo Kitagawa, Misao Ohwada. Long-term Follow-up of Tetrahydrobiopterin (BH4) Therapy in Patients with BH4 Deficiency in Japan. the 2010 SSIEM Annual Symposium Istanbul, Turkish, Aug 31-Sep 3 2010
15. 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
16. Haruo Shintaku, Development of dopaminergic neurons and serotonin neurons in an aspect of neurobiochemistry. 11th International Child Neurology Conference, Cairo, Egypt · May 2-7, 2010
17. Haruo Shintaku, Masaya Segawa, Mitsuhiko Kato, Shinji Saitoh, Shin-ichiro Hamano, Masaya Kubota, Jun Tohyama, Jun Natsume, Yoshihiro Maegaki, Toyojiro Matsuishi, Hideji Hattori, Shuhe Ide, Yasusi Itoh, Hiroki Fujioka, Yoshiko Nomura. Nationwide epidemiological study of pediatric neuro-transmitter diseases in Japan (1st Report). International Symposium on Epilepsy in Neurometabolic Diseases (ISENMD) 2010. 3. 26-28 Taipei/Taiwan
18. 小児神経伝達物質病 (PND) の全国調査. 新宅治夫、瀬川昌也、加藤光広、斉藤伸治、浜野晋一郎、久保田雅也、遠山潤、夏目淳、服部英司、前垣義弘、松石豊次郎、井出秀平、藤岡弘季、野村芳子、伊藤康. 第52回日本小児神経学会 2010. 5. 20-22 博多.
19. 新宅治夫 フェニルアラニン水酸化酵素欠損症のBH4反応性の評価と診断法の検討. 第52回日本先天代謝異常学会 2010. 10. 21
20. 藤岡弘季、新宅治夫、低酸素性虚血性脳症における興奮毒性の影響 第1回 JPM, 名古屋 2010. 7. 24
- 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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合研究報告書

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

瀬川病の診断基準の作成と病態の解明

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

瀬川病の診断基準を作成するとともに、各症例の発達年齢、臨床経過と既知の黒質線条体ドパミン・ニューロンの発達過程と対比、病因となる黒質線条体ドパミン・ニューロンを特定するとともに黒質線条体ドパミン神経系及び線条体直接路、間接路及び大脳基底核出力路の発達過程およびこれら神経系が本来有する機能的左右差を考慮、瀬川病の諸症状の出現経過から各症状に関与する神経回路を明らかにし、その病態を臨床的に解明した。さらに90歳で死亡した症例の剖検脳の検索から、この病態を確証、瀬川病及びドパ反応性ジストニアは終末部チロシン水酸化酵素活性により刺激伝達を行う黒質線条体ドパミン・ニューロンの異常に起因、パーキンソン病に関与する黒質チロシン水酸化酵素の活性により刺激伝達を行うドパミン・ニューロンは関与していないことを明らかにした。これらの検索から従来から想定されていた二種の黒質線条体ドパミン・ニューロンが存在を実証した。

A. 研究目的

瀬川病は小児期に発症するジストニアで、臨床経過に関係なく l-dopa により症状は完全に寛解する。また、無治療で高齢となった場合もパーキンソン病とはならない。これは瀬川病に関与するドパミン・ニューロンはパーキンソン病と関与するドパミン・ニューロンとは異なり、小児期にドパミン刺激伝達の主役となる終末部チロシン水酸化酵素が高活性を有するドパミン・ニューロンであることを示唆する。このニューロンが選択的に障害されていると考えられる瀬川病の病態解明は、本研究課題、この目的となったものと云え、本研究を行った。

B. 研究方法

大脳基底核の特定の部位の障害は、それに続く正常に機能している神経系、あるいは、神経回路を介して特異的症状を発現する。従って、大脳基底核が発達過程にある小児期では、障害部位及びその下流にある神経系があるレベル以上に発達して、はじめて症状が発現する。

黒質ドパミン・ニューロン及び大脳基底核はともに機能的左右差を有する神経系であり、この一次性病変は必ず左右差を呈する。これを四肢筋と胸鎖乳突筋にみると線条体の入力系である黒質線条体ドパミン・ニューロン障害では、胸鎖乳突筋の優位罹患側はドパミン・ニューロン優位罹患側と同側、四肢筋優位罹患側はその対側となる。一方、線条体及びその下流に存在する大脳基底核の障害では、胸鎖乳突筋及び四肢筋とも、その優位罹患側の対側優位の異常を示す。これらに基づき、各症状発現の月、年齢、左右差に留意、病変部位、病態を解明、さらに衝動性眼球運動検査、体性感覚誘発反応検査により、大脳基底核直接路、間接路の罹患の程度、及び大脳基底核上行性出力路罹患の有無を検索した。

C. 研究結果

1. 瀬川病の臨床と病態

遺伝子異常が証明された 41 例、遺伝子異常は証明されなかったが、生化学的に GCH-1 活性低下が認められた 5 例を対象に臨床症状を検索した。

その結果、瀬川病は家系により、ジストニア姿勢を主徴とする姿勢ジストニア型とこれにジストニア運動が加わる動作ジストニア型と大別された。

男女比は遺伝子異常の認められた症例では、姿勢ジストニア型は 16 : 2 動作ジストニア型は 18 : 5 とともに著明な女性優位を示した。

初発症状は姿勢ジストニア型は全例 1-13 歳、一側下肢ジストニア姿勢で、動作ジストニア型は 5 例を除き、1-10 歳に下肢ジストニアで発現するが、他に 8 歳、10 歳で上肢ジストニア運動で又 25 歳に斜頸で、38 歳に書痙で、58 歳でパーキンソン病徴候が発症した症例があった。

振戦は両病型とも 8-20 歳で発症するが、動作ジストニア型成人発症例は 28 歳、58 歳で発症、又、部分ジストニアは動作ジストニア型のみで見られるが、斜頸は 16, 20, 24, 32 歳、書痙は 34, 38 歳で認められた。

黒質線条体ドパミン・ニューロンのチロシン水酸化酵素 (TH) は終末部で幼児時に高活性を示し、継年齢的に指数函数的に減少、20 歳代で低値に達するが、黒質の TH 活性は小児期は低値であり、年齢とともに直線的に増加、20 歳代で終末部のレベルに達する。

一方、衝動性眼球運動の検索から、大脳基底核の回路は、直接路は 6 歳で完全に成熟したレベルに達しているが、間接路は 15 歳で成人レベルに達することが明らかにされた。

これは幼少時期には、終末部ドパミンがドパミン伝達の主役を示し、黒質ドパミンは 20 歳代でその後を受け持つこと、又、幼少後期には間接路は病態に関与していないことを示唆する。

8 歳発症、57 歳迄無治療で経過した女性例の臨床経過は、黒質線条体終末部 TH 活性の継年齢変化とよく符号していた。

胸鎖乳突筋と四肢筋の筋強剛の優位罹患側をみると、姿勢ジストニア型は対側、動作ジストニア型は同側、振戦は両病型とも同側、動作ジストニアにみる斜頸は筋緊張異常の優位罹患側と同側であった。これは姿勢ジストニアの筋強剛は線

条体の入力する黒質線条体ドパミン・ニューロンに起因するが、他の症状は線条体、或いは、その下流に存在する神経系に起因することを示す。しかし、これらは全て 1-dopa に反応することから、その病因に視床下核に入力する、黒質線条体ドパミン・ニューロンが関与することが示唆された。

D2 受容体間接路は小児期には未発達であるが、視床下核は幼児期早期には発達段階に達しており、その異常は症状発現につながり得る。

以前に施行した終夜睡眠ポリグラフ検査では、姿勢ジストニアと動作ジストニアは異なる所見を呈し、後者では D2 受容体の過感受性を示唆する所見が認められた。動作ジストニアには D2 受容体は関与していないが、視床下核の異常でこの所見を説明し得る。

ジストニアの病型の発症年齢の研究から全身型ジストニアは小児期に、部分又、局在性ジストニアは思春期以後に発症することが示されている。又、前者に大脳基底核疾患の中では低活性型罹患、後者は、高活性型疾患に入れられる。即ち、書痙、斜頸は後者であり、10 歳代、特に思春期以後に成熟する大脳基底核上行路出力路が関与する。大脳運動野磁気二発刺激検査では、姿勢ジストニア型は正常であったが、動作ジストニア型 2 例は異常を示した。これは、上行性出力路は全身性ジストニアには、関与せず、部分、又は局在性ジストニアには関与していることを明らかにした。これから動作ジストニア型には大脳基底核上行路出力路の関与があり、これが、斜頸、書痙及びパーキンソン病徴候の発現につながることが示唆された。

2. 早期発症例と非特異例の検索

瀬川病の病態を考える上で、早期発症性と非特異例の検討は重要である。文献的検索から早期発症例は乳児期に、運動及び躯幹筋緊張低下、這い這いの異常を示し、主病変にロコモーション障害が認められる。これは小児期後期になると、前屈症 (camptocormia) が出現、成人年齢には、パー

キンソン病の徴候の発現につながる。非特異例には、ジストニア様スパズム、注視発症 (Oculogyric crisis) , 筋緊張低下、運動発達遅滞、言語発達遅延、自閉症、うつ病があげられる。又、優性遺伝性運動誘発性ジストニアを呈した優性遺伝性 GCH-1 欠損症、症状の日内変動を認めなかった瀬川病、軽度精神遅滞症例を有する優性遺伝性 GCH-1 欠損症の家系があげられている。

瀬川病でテヘロ遺伝子異常で症状が発現することは dominant negative effect で説明され、家族間、家系間で症状に差を呈することは、mutant/wild-type GCH-1 mRNA 比が mutation の部位により異なるためと考えられている。また、テトラヒドロビオプテリン (BH₄) 欠損症でありながら、TH が主として侵されることは、GCH-1 mRNA の分布が DA ニューロンとセロトニン (5HT) ニューロンで異なるため、また TH とトリプトファン、ヒトモシラーゼ (TPH) の BH₄ に対する affinity の差 (TH/TPH) として説明されている、また、女性優位は DA ニューロンの遺伝的に規制された性差による。

しかし、非特異的症例に含まれる 1) 自閉症、2) うつ病、3) 筋緊張低下、4) 四つ這い及び歩行の遅れは、5HT 低活性に起因する症状で、特に 3), 4) は合成異型接合体 (compound heterozygote) 症例にみられ、5 ハイドロキシ・トリプトファンの併用投与により、改善をみている。

これら 5HT 活性異常による筋活性低下は、REM 期の atonia の REM 期への収約を阻害、atonia の NREM 期への漏出をもたらす。これは、橋脚被蓋核 (PPN) の活性を阻害。黒質及び腹側被蓋野の DA 活性を低下させる。非特異例にみる強迫神経症は、この黒質 DA 活性低下とともにそれを併発した 5HT 活性低下が非運動系大脳基底核視床皮質路を介し、眼窩、前頭皮質に障害をもたらせたことによると考えられる。

これら非特異例の存在から乳児期抗重力筋緊張低下、ロコモーション不全 (はいはい不全) を認めた症例に、はいはいの訓練を、瀬川病の家

系にみられる場合に、5 ヒトロモシトトリプトファン または、テトラヒドロバラオプテリンの投与を行う。

家族例のない場合は、プテリジン代謝を含め、刺激伝達物質の検査を行い、異常がみいだされれば、治療をおこなう。

上記、疾患が否定された症例には、5HT ニューロンが 環境要因で活性化されることから、睡眠・覚醒リズムの確立、ロコモーションの訓練を行う。これで対処することが必要である。

3. 剖検例の検査により、臨床的に推察した病症を確証がされた

症例は、8 歳時日内変動を呈する左内反尖足で発症、10 歳代前半には歩行は朝のみ可能、筋強剛が下肢に発現、上肢に振戦を認め、10 歳代後半には筋強剛は全肢に、20 歳代後半には振戦も全肢に拡大した。しかし、これら症状は 30 歳代以後は固定した。

43 年間無治療経過された後、51 歳、医師を受診、左側優位の姿勢ジストニア筋強剛、歩行は支え歩行でのみ可能であった。これらは L-dopa で寛解、その効果は 90 歳まで持続したが、90 歳 6 ヶ月、癌で死亡した。死亡 8 日前の検査では、軽度の筋強剛、上肢回内回外運動障害を認めたが、他の自発運動は可能であった。

神経病理学的所見では、視床細胞減少と線維性グリオシスの他異常なし、免疫組織化学的検査では、被殻外側、striosome 優位に TH 染色体低下を認めたが、黒質の TH 活性は正常であった。しかし、他に異常は認められなかった。

D. 考察

黒質 TH 活性が正常でありながら、ジストニアの治療に L-dopa を要すること。また、GCH-1 欠陥が存在しながら、黒質ドパミンが正常に保たれていたことは、NS-DA ニューロンには線条体終末部 TH 活性で刺激伝達を行うものと、黒質 TH 活性により、それを行うものの二種あることを証明した。黒質 TH 活性は、瀬川病非特異例や劣性遺伝性 TH

欠損症の報告例では、乳児期の抗重力筋活性化の障害による atonia を REM 期へ限局するアミン系神経系の活性低下を伴い、これによる PPN の障害に起因すると考えられる。また終末部 TH 活性により DA 刺激伝達を行うニューロンは脳の発達過程で DA 伝達の主役をなすが、脳の機能、形態的発達には関与しない。一方、黒質 TH 活性により DA 伝達に関与する DA ニューロンは小児期では運動機能には大きな関与はないが、脳の構造機能の発達に重要な役割をもつ。このことは、他の刺激伝達物質を有するニューロンにも同様のニューロンのあることが示唆された。

E. 結論

瀬川病の研究- チロシン水酸化酵素欠陥症の文献的研究から、黒質線条体ドパミン・ニューロンには、終末部 TH の活性により刺激伝達を行うものと、黒質 TH 活性により刺激伝達を行うものの二種があり、前者は乳幼小児期の刺激伝達の主役をなすが、後者は 10 歳以後特に思春期 20 歳代でその役を受け持つことが示唆された。前者は、DA 刺激伝達のみに関与、中枢神経系の形態、機能、発達には関与しないが、後者は、これらに関与、かつ、月・年齢による特異的な形態、機能の発達に関与することが示唆される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Segawa M: Dopa-responsive dystonia. In: Michael J, Aminoff, Francois Boller, Dick F. Swaab, eds. Handbook of Clinical Neurology, Vol.100 (3rd series): Hyperkinetic Movement Disorders. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. pp.539-557, 2011.
- 2) Segawa M: Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. Brain Dev 33(3); 195-201, 2011.

- 3) 瀬川昌也: 小児の歩行機能異常. BRAIN and NERVE 62(11); 1211-1220, 2010.
- 4) Nomura Y, Nagao Y, Kimura K, Hachimori K, Segawa M: Epilepsy in autism: A pathophysiological consideration. Brain Dev 32(10); 799-804, 2010.
- 5) 瀬川昌也: DYT5 (Segawa disease) . Clinical Neuroscience 28(7); 766-770, 2010.
- 6) Segawa M: Autosomal Dominant GTP Cyclohydrolase I (AD GCH 1) Deficiency (Segawa Disease, Dystonia 5; DYT 5). Chang Gung Med J 32(1); 1-11, 2009.
- 7) Segawa M: Segawa Dopa Responsive Dystonia. In: Squire, LR ed. Encyclopedia of Neuroscience, volume 8. Academic Press, Oxford. pp.525-531, 2009.

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 1 1 4 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 2 6 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.
- 5) 瀬川昌也: 小児期発症の神経伝達物質疾患—瀬川病を中心に— 第 52 回日本小児神経学会総会 教育講演 4. 福岡市, 2010 年 5 月 22 日.
- 6) Masaya Segawa: Sleep and Locomotion. Their Importance in the Development of the Brain. 11th International Child Neurology Congress "ICNC 2010". Cairo, Egypt, 2010 年 5 月 7 日.
- 7) Masaya Segawa, Yoshiko Nomura: Approach to

Neurotransmitter Disorders. 11th International Child Neurology Congress “ICNC 2010”, Cairo, Egypt, 2010年5月4日

8) Masaya Segawa, Premovement Gating in SEPs with Segawa Disease, 10th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Taegu, Korea, June 12, 2009

9) Masaya Segawa, Hereditary Progressive Dystonia with Marked Diurnal Fluctuation, 10th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Taegu, Korea, June 12, 2009

10) Masaya Segawa, Movement Disorder, International and IX Ukrainian Congress of Child Neurology, Kyiv, Ukraine Sept.10, 2009

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

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

AADC欠損症の臨床像と遺伝子解析に基づいた診断基準の作成

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

AADC欠損症は、ドーパミンとセロトニンの2つの神経伝達物質の産生低下により多様な神経症状をきたす難治性の疾患であり、国内では2家系3例のみだが、未診断例が多いと推測される。国内における症例数を把握するために、既報告例をもとに診断基準を作成し全国疫学調査を行った。しかし新たな症例は確認されなかった。次に診断基準の妥当性を検討するために、国際共同研究に参加し、AADC欠損症の臨床像を明らかにした。低緊張および発作性に眼球上転をきたす異常眼球運動oculogyric crisisの頻度が高く、特に後者は特異性も高いと考えられた。特徴的な臨床症状から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。1990年に Hyland と Clayton によって初めて報告され、国内での確定診断例は2家系3例のみと非常に稀である。しかし診断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。

本研究では、国内における AADC 欠損症症例の同定のために初年度に診断基準を作成し全国疫学調査を行った。2年度には、診断基準の妥当性の検証のために、国際共同研究で AADC 欠損症の臨床像（症状・経過・検査所見）を明らかにした。3年度には臨床症状から 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、その結果を報告する。

B. 研究方法

論文報告および自験例に基づき、AADC 欠損症の診断基準を作成し、全国の小児科標榜病院に該当症例の有無について疫学調査を行った。次に、AADC 欠損症の臨床的特徴を明らかにするための国際共同研究（スイス・チューリッヒ大学小児病院 Blau 博士主催）に参加し、自験例 2 例の臨床症状をデータベースに登録し、AADC 欠損症に共通する臨床像を明らかにした。遺伝子解析は、保護者から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。

遺伝子解析対象症例：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、本研究班の啓蒙活動を契機に AADC 欠損症の可能性が疑われ、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。5 歳から週に 2-3 回左上方を凝視し筋緊張亢進、口唇を嚙むような動作、体温上昇をきたす発作が日中に 1-2 時間出現。現症 134cm, 20kg。除皮質肢位とジストニア。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。3 か月から毎日数分間の間歇性内斜視。11 か月から 4 歳頃をピークとする突発波を伴う入眠時の発声・強直発作。12 歳から興奮・不眠・不機嫌を示し、16 歳から発声・眼球偏倚・強直発作が 1 週間に数回再発。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。現症 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（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

全国疫学調査では、新たな AADC 欠損症の症例は確認されなかった。

国際共同研究では、合計 78 例（男 41 例、女 31 例、不明 6 例。既報告 46 例、新規 32 例。国内は自験 2 例）の AADC 欠損症患者の臨床情報が集積された。75 例は乳児期もしくは小児期に発症し、筋緊張の低下が最も多く認められた（74 例 95%）。次に異常眼球運動 oculogyric crisis (OGC) が 67 例、86%に認められた。その他、発汗（65%）、発達遅滞（63%）、ジストニア（53%）、過緊張（44%）、摂食・嚥下困難（42%）、構音・発語困難（41%）、流涎過多（41%）、眼瞼下垂（39%）、不眠（37%）、易刺激性（35%）、運動減少（32%）、鼻閉（31%）、体温変動（29%）、頸定不良（28%）、アテトーゼ（27%）、固視不良（26%）、舞踏病（22%）であった。なお、MRI 異常は 19 例 24%に、脳波異常を 10 例 13%に認めたが、特異的所見はなかった。

遺伝子解析では、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

全国疫学調査でも新たな症例は確認されなかったが、AADC 欠損症を診断するためには、異常眼球運動など特徴的な臨床症状に気づいて、髄液検査で意識してモノアミンを測定する必要がある、通常の診療とは異なる発想が必要である。疫学調

査時点では「小児神経伝達物質病」の概念は十分知られておらず、AADC 欠損症も知られていたとは言いがたく、未診断例が隠れている可能性が高い。

国際共同研究では、既報告 46 例の他に今回新たに 32 例が追加され、AADC 欠損症の一般像が初めて明らかにされた。最も多い症状は低緊張であり、他にもジストニア、過緊張、運動減少、頸定不良、アテトーゼ、舞踏病など運動症状が多い。脳性麻痺や重症心身障害の中で、低緊張型もしくは不随意運動を併発する原因不明例は、AADC 欠損症の可能性を考量に入れる必要がある。

AADC 欠損症のもう一つの高頻度の症状は異常眼球運動 OGC であった。OGC は、両側の眼球が発作性に短時間上転する状態であり、神経遮断薬の副作用としての報告が多いほか、パーキンソン病でも認められ、神経伝達物質の異常に比較的特異な所見である。AADC 欠損症では数日起きに発作を起こし、家族や介護者の観察頻度は高いが、小児科領域での頻度は少なく、OGC の認知度は低い。OGC は AADC 欠損症の症状として、頻度も特異度も高く、診断スクリーニング項目に最も有用と考えられることから、OGC の啓蒙を進めることが必要である。

発汗、流涎過多、体温変動など自律神経症状と考えられる症状も半数以上に認められた。これらは過緊張の脳性麻痺でも頻度が高く、特異性は低いが、参考所見として挙げられるであろう。

今回の調査ではてんかんに関する項目はなかったが、13%に脳波異常を認めており、数日毎に発作性に OGC やジストニア、過緊張をきたすことからてんかん性脳症と診断される例もあり、注意が必要である。

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と考えられる。

E. 結論

AADC 欠損症の効率的な診断スクリーニングには、臨床症状が最も重要であり、低緊張型もしくは不随意運動を伴う原因不明の脳性麻痺で、発作性に眼球上転をきたす例では AADC 欠損症を疑い、髄液検査を行う必要がある。

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* 155A:130-133, 2011
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* 21:563-568, 2011
 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* 56:104-105, 2011
 5. Hirose M, Haginoya K, Yokoyama H, Kikuchi A, Hino-Fukuyo N, Munakata M, Uematsu M, Iinuma 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* 42:163-166, 2011
 6. Ide S, Sasaki M, Kato M, Shiihara T, Kinoshita S, Takahashi JY, Goto Y. Abnormal glucose metabolism in aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency. *Brain Dev* 32:506-510, 2010
 7. Brun L, Ngu LH, Keng WT, Ch'ng GS, Choy YS, Hwu WL, Lee WT, Willemsen MA, Verbeek MM, Wassenberg T, Regal L, Orcesi S, Tonduti D, Accorsi P, Testard H, Abdenur JE, Tay S, Allen GF, Heales S, Kern I, Kato M, Burlina A, Manegold C, Hoffmann GF, Blau N. Clinical and biochemical features of aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency. *Neurology* 75:64-71, 2010
2. 学会発表
 1. 加藤光広：AADC 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
 2. Shintaku H, Segawa M, Kato M, and Japan PND study group: Nation-wide epidemiologic study of pediatric neurologic disease in Japan (the 1st report). International Symposium on Epilepsy in Neurometabolic Diseases (ISENMD)-The 13th Annual Meeting of the Infantile Seizure Society, Howard Plaza Hotel, Taipei, Taiwan, March 27-29, 2010
 - 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
テレビ朝日系列のドキュメンタリー番組「希少難病～たった 3 人の患者と母たち」の医学監修

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

神経伝達物質病の疫学と病態に関する研究

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

神経伝達物質病の疫学と病態を明らかにすることを目的として、一連の研究を実施した。1年目には北海道における神経伝達物質病の一次調査を実施し、その中から瀬川病6名と原因不明の不随意運動4名を抽出した。2年目は原因不明の不随意運動5名（1名増加）を対象として臨床的解析を行った。3年目はこれら原因不明の疾患の病態を明らかにするために、遺伝学的解析としてのDNAアレイ解析の意義を検討した。神経伝達物質病は未診断にて見逃されている例が多いと考えられる。原因不明の不随意運動例の診断は未だに困難であり、さらなる研究が必要である。

A. 研究目的

神経伝達物質病の疫学と病態を明らかにすることを目的として北海道における疫学調査を実施した。そのなかで抽出された原因不明の不随意運動患者を対象として臨床的解析を行ったが、原因の同定は困難であった。そこで、3年目にはDNAアレイを用いた解析手法の開発を行った。新しい診断技術の開発を通して、神経伝達物質病の病態を明らかにすることが、治療法開発の基盤となることを示したい。

B. 研究方法

1年目には全国調査の一環として、北海道地区において一次調査を実施した。

2年目には、北海道大学病院小児科に現在通院しており、乳児期に発症した不随意運動を主要な症状とする5例を対象として、臨床的検討を行った。診療録を後方視的に検討し、髄液が入手できる場合はモノアミン代謝産物の検索を行った。

3年目はDNAアレイ法の有効性を明らかにするために、モデル疾患として、臨床的にAngelman症候群（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34例を対象として、DNAアレイ解析を行った。DNAアレイ解析は33例ではAffimetrics 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。

（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

1次調査のなかで、北海道大学病院に通院中の瀬川病6例、原因不明の不随意運動4例を抽出した。瀬川病の患者は14-39歳、男1名、女5名であり、小児科年齢の患者は1名のみであった。家族例は母子例一家系のみであり、その他は孤発例であった。全例メネシット100mg～200mgにて良好なコントロールが得られていた。診断根拠は症状のみ2名、髄液プテリジン分析2名、酵素活性1名、遺伝子診断1名であった。症状は多彩であり乳児期の筋緊張低下から成人発症の斜頸まで

みられたが、幼児期に歩行障害で始まる下肢優位のジストニアが主であった（4名）。

2年目には原因不明不随意運動を示した4例に1例加えた5例について詳細な検討を行った。原因が同定されたのは1例のみであり、MCT8欠損症であった。原因不明の4例には髄液モノアミン代謝物の解析を行ったが、神経伝達病を積極的に示唆する結果は得られなかった。

最終年度に実施したDNAアレイ解析では、34例のAS様表現型を呈する患者のなかに、3例（8.8%）に染色体コピー数異常を同定した。

D. 考察

一次調査の結果において、北海道において成人領域での瀬川病の登録が限られていることは、把握されている患者数は一部に過ぎないことを示している。症状が多彩であり、L-dopa治療により完全に寛解することから、必ずしも十分な検討がなされていない可能性が示唆された。実際に、北大病院の症例でも遺伝子解析が行われたのは1例にすぎず、十分な検査は行われていなかった。神経伝達物質病の患者は未診断のままで見逃されている可能性が考えられた。

小児神経伝達物質病は症状として不随意運動を示すことが重要である。そのため、原因不明の不随意運動を示す小児例5例を詳細に検討した。異常眼球運動が診断的特異性の上で重要であるが、今回検討した5例では明らかなoculogyric crisisを示す例は存在しなかった。不随意運動の形から原因を絞り込むことは難しく、生化学的な検索が必要である。

今回髄液検査を行うことができた4例のなかで、明らかな異常値を示す例は存在しなかった。沢山の検査項目から、スクリーニングのための項目を選択することが重要である。小児神経伝達物質病のスクリーニングのためには、これらを効率的に測定するシステムの構築が重要と考えられる。

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。

最終年度の検討でも、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。これらの結果は、原因不明の神経伝達物質病の検査の一環として、DNAアレイは欠かせない位置づけとなっていると考えられた。

E. 結論

神経伝達物質病は正確な頻度ははっきりせず、見逃されている可能性が高い。また、診断のためには生化学的、酵素学的、遺伝学的検査を包括的に実施する体制が必要である。これらの整備が今後益々求められる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tokutomi T, et al. A de novo direct duplication of 16q22.1→q23.1 in a boy with midface hypoplasia and mental retardation. *Am J Med Genet A* 149A:2560-2563, 2009.
- 2) Gueneau L, et al. Mutations of *FHL1* gene cause Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Am J Hum Genet* 85:338-353, 2009.
- 3) Hosoki K, et al. Maternal uniparental disomy 14 syndrome demonstrates Prader-Willi syndrome-like phenotype. *J Pediatr* 155:900-903.e1, 2009.
- 4) Sueda K, et al. MEG time-frequency analyses for pre and post surgical evaluation of patients with epileptic rhythmic fast activity. *Epilepsy Res* 88:100-107, 2010.
- 5) Asahina N, et al. Vaccine-associated paralytic poliomyelitis in a non-immunocompromised infant. *Pediatr Int* 52:838-841, 2010.
- 6) Nakamura M, et al. MERRF/MELAS overlap syndrome: A double pathogenic mutation in mitochondrial tRNA genes. *J Med Genet* 47:659-664, 2010.