

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

患者家族を対象とした第3回市民公開セミナーの実施

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

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

研究要旨

このセミナーは、疾患が稀少であるために、なかなか顔をあわせて話をすることが出来ない、家族同士のコミュニケーションを育てる有意義な機会となっていることは間違いがない。研究班の存続に関わらず、H24年度も、継続してこのセミナーを開催する予定である。一昨年、昨年度に引き続き、H23年度も先天性大脳白質形成不全症の患者家族やそのサポーターを対象にした市民公開セミナーを開催した。今回は、これまでの医療機関での開催から一歩、外へ踏み出し、東京青山にある「こどもの城」で開催した。昨年度とほぼ同じ27家族を含む78人の患者家族の参加者が、例年通り日本全国より集まった。今年は、セミナーの間、子どもたちが退屈してしまうという声をふまえ、スタッフ、ボランティアの学生が、子どもたちとこどもの城のプレイエリアで遊ぶ、という試みを行い、好評を博した。前半のセミナーもこれまでと異なり、3題の講演のうち2題は外部からの招待講演とした。後半はQ&A形式のディスカッションを患者家族と行なった。その後、患者家族会が中心となり、運営会議を実施した。今回の公開セミナーの特徴として、家族と研究班の間のコミュニケーションがより深まった点があげられる。また、昨年にも増して、患者家族の間でのコミュニケーションが広がり、活発な意見交換が出来たことである。発足したばかりの家族会のネットワークが徐々に成熟していることを知ることができた。

1. 研究目的

先天性大脳白質形成不全症は、非常に希少な遺伝性の難治性疾患であり、患者の家族のみならず、主治医も疾患に関する詳細な情報を持ち合わせていないことが多く、患者家族は診療現場

で不安を抱くことが少なくない。また、多くの患者家族が、相談や疾患に関する話題を共有したいと思っても、稀少疾患であるため、他の家族との交流を持つことが困難で、地域に孤立してしまう。また、疾患に関する知識も一般

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

そこで、我々は本研究班を立ち上げて研究を開始するにあたり、孤立している家族のコミュニティー形成の場として、またこの疾患の医療の現状や研究の進歩の状況について知ることが出来る場として、患者家族やケアスタッフを対象とした市民公開セミナーを開催することを計画した。そして一昨年度、第1回市民公開セミナーを神奈川県立こども医療センターにおいて開催した。この会は、予想を大きく上回る30家族70人に及ぶ参加者があり、会議室が満員になる盛会であった。この際に、次年度の開催を希望する声が大きかったため、昨年度に第2回の市民公開セミナーを行った。その際にも継続的な開催を望む声が強かったため、今年度、第3回市民公開セミナーを開催するに至った。

今回は、3回目ということもあり、いくつかの点で新たな試みを行った。まず会場を変えたこと、そして外部からの招待講演を入れたこと、である。もう一つ、本セミナーの特徴は、親の会の設立の準備のサポートであるが、今回正式に親の会を発足させ、その運営会議が行われた点が特筆すべき点である。今年も多く参加者に恵まれ、盛会となった。また、たくさんのボランティアの方にお手伝い頂き、円滑に会を運営することが出来た。

2. 研究方法

【実施日】平成23年7月16日(土)

【会場】今年、会場を都心に移し、青山こどもの城で行った。これまでの2回は、研究班員の所属医療施設であ

る神奈川県立こども医療センターで行っていた。これは、手伝いのスタッフの確保のしやすさ、患者さんに万が一の異変が生じた場合の医療的対応のしやすさ、ビデオカメラなど機材の確保や様々な必要物品の調達がしやすいことなど、いくつもの利点があった。反面、交通の便のわるさ、同じ場所で行うことに伴うマンネリ化、こども達が退屈してしまうなどいくつかの問題点が指摘された。そこで今回、病院施設から飛び出し、こどもの城でセミナーを行うことにした。都心であり交通の便が良いこと、観光も含めて旅行が出来ること、併設するプレイホールでこども達が思う存分遊べること等の利点があった。また、ホテルを併設しており、宿泊を希望する家族には便が良いこと、障害者(児)への対応や理解に優れている施設であることも大きな利点であった。一方で、会場費や駐車場代などのコストがかかること、手伝い人員の確保や機材物品の確保が困難なことなどが不利な点であった。会場は、9階フロアの3つのスペースを使用した。150人収容の大きな研修室は本会場として用いた。それ以外に30人収容程度の部屋を2つ使用した。1つは、退屈したこども達が遊べるように、おもちゃをおき、ウレタンマットを9枚(3m x 3m)敷いておむつ交換のためのスペースを設けた。もう一つは、開場前の待合室兼スタッフの控え室として使用した。

3. 研究結果

【参加者】研究班より伝えられたセミナー開催に関する準備段階での情報は、逐次、親の会の連絡網により伝播された。また、5月に行われた小児神経学会の会場にチラシを配置した(資料3)。こういった広報活動が例年通りおこな

われ、今回も27家族76名の参加があった。ボランティアやスタッフを含めると約100名の参加者となった。参加して頂いた家族の多くは、患児を連れて来ていることも大きな特徴であった。今後、サマーキャンプのような活動へも発展させることが出来るのではないかと思われた。また、セミナー5日前に確定診断を受けた家族から、病児を亡くされた家族まで参加されており、このセミナーが病児を取巻く様々なライフステージの方々が、その情報や思いを共有できる場になりうる事が示された。

【運営スタッフ】会場の設営、物品の買い出し、受付案内、託児係などについて、班員以外に13名がボランティアとしてお手伝いして下さった。内訳は、神奈川県立こども医療センターの遺伝カウンセラーと医師、国立精神・神経医療研究センターの研究者、お茶の水女子大遺伝カウンセラーコースの学生、津田塾大学の学生、玩具福祉学会員などである。慣れない会場でのセミナー運営であるにも関わらず、非常に円滑に会の運営を終えることが出来たのは、彼らの力に依るところ大であった。特に、今回初めて導入した託児（下記）に於いては彼らの力なしにはなし得なかったことであり、今回のセミナーの成功の大きな要因となった。

【講演】講演は、セミナーの前半に3名の講演者により行われた。まず、研究代表者の井上 健により、先天性大脳白質形成不全症に関する疾患に関する解説と研究班で行われている研究の成果についての概要の説明を行った。次に、招待講演の1題目として慶應大学生理学・小児科の沼澤医師により、先天性大脳白質形成不全症のiPS確立と今後の臨床応用に関する講演が行わ

れた。沼澤医師は、大学院生として自らiPS細胞の確立と分化誘導実験を手がけており、その困難に立ち向かう熱意が伝わる講演内容であった。次に、玩具福祉学会・小学校教員の堀田さんによっておもちゃを用いた障害児のケアについての講演が行われた。堀田さんは重度障害を持つ脳性麻痺の母であり、これまでおもちゃを用いて重度の運動および知的障害のあるこども達のコミュニケーション能力を引き出す試みを行って来ており、その経験について講演した。講演はすべて、班員の小坂によりビデオ撮影され、後日DVDに編集され、参加した家族や参加できなかった家族など、希望者に無料で配布される予定である。

【こどもの城プレイゾーンでの託児】今回の会場の大きな特徴は、こども達が遊ぶための充実したプレイゾーンを併設していることである。こども達がセミナー中に退屈してしまえば、両親はセミナーに集中することが出来ない。そこで、今回はボランティアの託児スタッフがこども達をプレイゾーンに連れ出し、保護下に思う存分遊ばせる、という試みを行った。監督として、研究班員の出口医師がボランティアのメンバーを統括し、臨機応変に対応を指示したため、円滑に託児を行うことが出来た。託児に関しては、申込書を作成し、これに各児に関する注意点や万一の際の連絡先も記載して頂いた。託児に参加したこどもは10名であった。当初は、健常児のみの対応を予想していたが、実際には比較的軽症の患児も4名参加した。患児も楽しく過ごすことが出来たのは予想外の大きな収穫であったが、準備段階で患児の託児に関してのアナウンスに配慮できなかったのは次回への反省点となった。

【親の会】セミナーの後半は、親の会

を中心とするセッションとなった。まず、講演内容を含め、参加者から医師や医療などに関する質問を受けた。主に自身の患児に関する質問が主であったが、内容は病状や治療、リハビリ、遺伝など多岐にわたるものであった。それぞれについて、その分野を得意とする研究班員が丁寧に答えた。多くは複数の患児に共通してみられる問題点であり、質問者のみならず、聴いている家族にも役立つ情報が多かったようである。次に、スタッフの西川遺伝カウンセラーより、昨年度のアンケート調査の結果の報告と本年度のアンケートへの調査の依頼があった。最後に、親の会の事務局を努める藤原さんより、親の会設立に関する報告と趣旨説明、今後の検討事項、活動の内容に関する説明などが行われた。今後、組織的な活動を展開していくために、複数の事務局のメンバーが必要になると考えられるため、その呼びかけが行われた。最後に、招待講演者からのコメント頂き、研究代表者の挨拶をもって終了となった。

4. 考察

今回も例年通り、多くの患者さんとご家族の皆様に参加頂き、班員ともども疾患について勉強をする場を持てたことは、非常に有意義であった。また、家族同士、あるいは医療研究者と、実際に会って生の声を聴き、交流するという本セミナーの目的は、達成することが出来た。今回、初めて託児を導入し、こども達も楽しみながらセミナーに参加出来た点、外部からの招待講演により新しい話題を取り入れることができた点は、今年度のセミナーのユニークな成果であった。

研究班の活動が最終年度を迎え、来年度以降、経済的な裏付けがない状況で

の開催も考慮せねばならないが、「来年も是非」という参加者全員の意思確認は出来たと思われる。本セミナーの主催も、親の会が担っていけるよう、今後もその成長を支えていきたい。

5. 結語

先天性大脳白質形成不全症の患者家族を対象とした市民公開セミナーを実施し、疾患に関する医療や研究の進歩ついての情報を提供するとともに、患者家族同士、患者と医療・研究者との交流を深めることが出来た。

6. 研究発表

A. 論文発表

なし

B. 学会発表

(1) 井上 健、岩城明子、黒澤健司、高梨潤一、出口貴美子、山本俊至、小坂 仁 先天性大脳白質形成不全症の統合的研究の推進 第56回日本人類遺伝学会総会 2011年11月12日 千葉

7. 健康危険情報

特記事項無し

8. 知的財産権の出願・登録状況

なし

細胞内小胞体ストレスを標的とした Pelizaeus-Merzbacher 病の治療薬候補の開発

守村敏史、沼田有里佳、後藤玲央、井上 健

国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究第二部

研究要旨

Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) は、先天性大脳白質形成不全症で最も頻度が高い代表疾患である。*PLP1* 遺伝子の重複や点変異などの変異が原因であり、変異によって異なる分子病態を介して髄鞘の低形成が生ずるが、現在までに有効な治療法はない。点変異は、PLP1 蛋白質の折りたたみ異常を来し、これが小胞体に異常蓄積することによって引き起こされる小胞体ストレス反応がその分子病態である。これまで、我々は安全性が確立されている既存の化合物や薬物の中から小胞体ストレスを軽減させることができるものを「再発見」し、これらを *PLP1* 点変異による PMD の治療に応用したいと考え、研究を行ってきた。昨年度、報告したクルクミンに加え、本年度は新たな小胞体ストレス軽減薬 (ER stress attenuator:ERAT) を同定し、その効果を検証した。HeLa 細胞を用いた変異型 PLP1 強制発現系を用いた解析を行った結果、この ERAT は、変異型 PLP1 蛋白質の発現を優位に低下させること、この発現低下は、細胞の翻訳機構を抑制することにより発揮されること、その結果、ER ストレスマーカー遺伝子の発現が優位に低下することを *in vitro* および *in vivo* で観察することができた。これらの所見より、この ERAT は、今後 *PLP1* 点変異による PMD の治療薬候補になりうると考えられた。

1. 研究目的

現在、先天性大脳白質形成不全症の代表的疾患である Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) には有効な治療法がない。そこで、PMD のモデル動物や培養細胞を用いて、PMD の治療薬候補を見いだすことが、本研究の目的である。本課題では、PMD 患者のおよそ 3 割程度に見いだされるアミノ酸置換型の変異を標的に、クルクミンの有用性を検討する。

PLP1 の点変異は、非常に臨床型のばらつきが多いことが知られている。その分子病態については、PLP1 蛋白質

の変異による何らかの毒性機能獲得がメカニズムとして考えられており、とくに小胞体に異常蛋白質が蓄積することによるストレス応答が病態に関与すると考えられている。そこで、我々はこれまでこの小胞体ストレス反応を治療の介入点として、小胞体ストレスを病態機序とする幾つかの遺伝性疾患での治療モデルが提唱されているクルクミンを用いて、PMD の点変異モデルマウス *myelin synthesis deficit (Msd)* に対して治療実験を行い、その治療効果と分子薬理動態を検討してきた。

クルクミンは 25%の寿命の延長効果やオリゴデンドロサイトの細胞死の抑制など、一定の治療効果をもたらしたものの、MSD マウスのミエリンの再構築をきたしたり、運動能力の改善をもたらしたり、といった効果は見られず、クルクミンによる治療は、現段階では部分的治療効果と結論づけられた。

そこで本年度は、クルクミン以外の治療薬候補の探索を行ったところ、変異型 PLP1 蛋白質の発現を抑制し、小胞体ストレスを軽減する薬物 (ER stress attenuator:ERAT) を見だし、その分子薬理機序を明らかにした。

2. 研究方法

(1) ERAT の同定

FLAG タグを融合した MSD 変異型 PLP 1 蛋白質 (PLP-A242V) を HeLa 細胞に一過性に強制発現する系を確立した。この培養液中に、各種の薬剤を投与し、一定時間後に回収し、PLP1 蛋白質の発現量をウェスタンブロットにて解析した。変異型 PLP1 蛋白質の発現量を有意に低下させる化合物を選択した。

(2) 小胞体ストレスに対する効果

上記と同様に、PLP-A242V 発現 HeLa 細胞に、ERAT を投与した後、抽出した RNA を逆転写し cDNA を合成した。これを鋳型として定量的 RT-PCR を行った。ヒト GRP78, Chop に対する Taqman Probe を用いて、これらの小胞体ストレス関連分子の mRNA の発現量を測定した。また、XBPI のスプライシングについて、RT-PCR により同定した。また、小胞体ストレス関連蛋白質をウェスタンブロットにより検出した。

3. 研究結果

使用した数種類の薬物の中の 1 つ (ERAT) が、PLP-A242V 変異型蛋白質の発現を優位に低下させることが明らかになった。変異 PLP1 蛋白質の発現低下作用は、投与量やインキュベーションの時間に依存性であった。

PLP-A242V 変異型蛋白質を発現する HeLa 細胞では、GRP78, Chop の発現が上昇するが、ERAT を投与した細胞では、これらの遺伝子の発現量が低下した。同様に、XBPI のスプライシングも、ERAT の投与により、低下した。

次に小胞体ストレス関連蛋白質の発現を見たところ、eIF2 のリン酸化が ERAT の投与により有意に上昇していることが明らかになった。また、実際に ERAT の投与により PLP1 蛋白質の翻訳が抑制されることが chase 実験により、明らかになった。

4. 考察

以上の結果、今回 ERAT として同定された薬剤は、変異型 PLP1 蛋白質の翻訳を抑制することによって、折りたたみ異常を来した変異蛋白質の細胞内への蓄積を防ぎ、その結果、小胞体ストレスを軽減していることが示唆された。

5. 結語

小胞体ストレスを標的とした新たな PMD の治療薬候補を同定した。この薬剤は、臨床的な用量や安全性、副作用などに関する情報が確立されており、臨床応用への障壁が少ない点で、有望である。今後、MSD マウスへの投与など、生体内での治療効果に関する知見を加えて、この薬剤の臨床応用への可能性について、さらに検討していきたい。

6. 研究発表

A. 論文発表

なし

B. 学会発表

- (1) 守村 敏史, 沼田 由里佳, 有馬 恵里子, 後藤 雄一, 井上 健
小胞体ストレスを標的とした
Pelizaeus-Merzbacher 病に対する
治療薬の確立 第34回日本神
経科学大会 横浜 2011年9月
15日

7. 健康危険情報

特記事項無し

8. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

オートファジーに注目した食品化合物ライブラリースクリーニング
～オートファジー活性化をきたす化合物の探索～

沼田有里佳、守村敏史、井上 健

国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究第二部

研究要旨； PLP1 のゲノム重複は、最も頻度の高い Pelizaeus-Merzbacher 病の原因遺伝子変異である。正常な PLP1 蛋白質の過剰発現が、中枢神経系の髄鞘の形成不全を来すと考えられているが、その細胞分子病態は不明である。近年の研究により、過剰発現された PLP1 は後期エンドソームに局在し、オートファゴソーム内への蓄積も認めることから、PLP1 重複の病態としてオートファジーの関与が示唆された。オートファジーは、細胞内の不要蛋白質分解系として機能することが知られ、近年、神経変性疾患の病態に大きく関与していることが示唆されている。我々は、このオートファジーを活性化することにより、過剰発現された PLP1 の分解を促進し、症状の緩和を来すことが出来るのではないかと考えた。そこで本研究では、培養細胞を用いてオートファジーの活性化を検出する実験系を確立し、これを用いて食品化合物ライブラリーをスクリーニングすることにより、オートファジーを活性化するような食品化合物を同定することを目的とした。昨年度、GFP 融合 LC3 蛋白質発現 HeLa 細胞を用いたオートファジー活性化の検出系の確立を行った。本年度は、この系を用いて食品化合物ライブラリーのスクリーニングを行い、複数の候補化合物を同定した。今後、これらの化合物の分子薬理作用を明らかにし、治療への応用について検討をしていく予定である。

1. 研究目的

Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) は、先天性大脳白質形成不全症の代表的な疾患である。中枢神経系の髄鞘膜蛋白質をコードする proteolipid protein1 (*PLP1*) 遺伝子の変異が原因であることが知られている。PMD を引き起こす *PLP1* 遺伝子の変異には、いくつかの異なる種類の変異が存在するが、最も頻度が高いのは *PLP1* ゲノム領域の重複によるものである。これは、正常の *PLP1* 遺伝子が 2 コピー以上存在するもので、生成される PLP1 蛋白質の品質には異常はないが、発現

量が増加するために、疾患を引き起こす、いわゆる gene dosage effect とされているものである。近年の研究により、*PLP1* 重複が起こるゲノム再構成の機序が明らかにされてきたが、なぜ、正常な PLP1 蛋白質が増加しただけで、著明な髄鞘形成不全を引き起こすのか、その病態機序に関しては、ほとんど解明されていない。

PLP1 重複の病態解析に適した動物モデルは、トランスジェニックマウスである。この *Plp1* トランスジェニックマウスのオリゴデンドロサイトは、分化の最終段階でアポトーシスに陥り、

髄鞘化が停止してしまう。この変化は、*Plp1* の発現量に比例して重症化する。これらの所見は、一見、点変異マウスと同様であるが、以下の2点で点変異とは異なる病態に基づくものであることが示唆される。第一に、過剰発現した PLP1 蛋白質は、*in vitro* でも *in vivo* でも、小胞体へ異常蓄積することなく正常に細胞膜へ輸送される。第二に、点変異モデルと過剰発現モデル双方にアポトーシスが起こるが、点変異モデルでのみ、小胞体ストレス反応に伴うアポトーシスに特異的な変化である活性化型 caspase12 が増加しており、過剰発現モデルでは増加していない。

近年 PLP1 は、コレステロールと結合し、髄鞘でミエリンラフトと呼ばれるガラクトシルセラミドに富む膜成分に組み込まれることがわかった。細胞内に過剰発現した PLP1 は、コレステロールと結合したまま、後期エンドソーム／リソソームに蓄積し、不溶化することがわかった。この後期エンドソーム／リソソームでの異常な蓄積が、このミエリンラフトの生成と髄鞘の形成に影響を及ぼすのではないかと考えられている。

また、最近の報告では、*PLP1* トランスジェニックマウスでは、これらの PLP1 蛋白質がオートファゴゾームに存在していることが示されており、*PLP1* 重複とオートファジーとの関連性が示唆されている。オートファジーは、飢餓状態における自己融解による生存のための細胞内メカニズムとして知られているが、近年では様々な神経変性疾患における病態にオートファジーの低下が関与していることが明らかになっている。

そこで、我々は PLP1 重複の細胞病態におけるオートファジーの関与の解明とオートファジーを標的にした治療

法開発を目的とした研究を開始した。まず昨年度は、培養細胞下にオートファジーの活性化を可視的に検出できる実験系の確立を行った。これは GFP を融合したオートファジー関連蛋白 LC3 を安定発現する HeLa 細胞を作製し、これを用いてオートファジー活性化時に蛍光蛋白質が凝集化することによって、蛍光顕微鏡下に目視で判別できるスクリーニング系である。本年度は、この実験系を用いて、食品化合物ライブラリーの中から、オートファジーを活性化させる食品化合物の同定を行った。

2. 研究方法

既知の食品化合物約 140 種を集めた化合物ライブラリーは、分注したものを日本水産より提供を受けた。これらの化合物を 12 ウェルプレートにまいた GFP-LC3 発現 HeLa 細胞の培養液中に投与し、経時的に細胞を観察する。LC3 はオートファジー関連蛋白質で、LC3-I が LC3-II に切断されることにより、オートファゴゾームに集積することが知られている。定常状態では LC3-I が細胞質に拡散し、び漫性の緑色蛍光を呈し、オートファジーの活性化時には LC3-II がオートファゴゾームに集積するため顆粒状に緑色蛍光が観察される。昨年度、実際にこの細胞を用いることにより、オートファジーの活性化を顕微鏡下に可視化できるかどうかを、ラパマイシン 200nM で投与し確認した。食品化合物は各 20 μ m の濃度で 6 時間処理した。蛍光顕微鏡下に観察し、細胞質に存在する蛍光粒子の凝集化が陽性となった細胞が、10% 以下のものを陰性 25% 以上のものを陽性とした。化合物について、実際にこの細胞でオートファジーが活性化されているかどうかを確認するため

に、LC3のウェスタンブロットを行った。候補化合物で処理した細胞をハーベストし、抗GFP抗体にてウェスタンブロットを行った。

3. 研究結果

140種類の化合物について、ラパマイシンを陽性対症としてスクリーニングを行った結果、4つの化合物において、1視野で25%以上の細胞でラパマイシンと同様の蛍光凝集の陽性所見を認めた。これらの化合物について、導入LC3のウェスタンブロットを行った。ウェスタンブロットでは、ラパマイシン処理により、オートファジーの指標であるLC3-IIが増加することが示された。少なくとも3つの化合物について、ラパマイシン同様の陽性所見を再現できた。

4. 考察

PLP1重複変異は、最も頻度の高い変異であるにもかかわらず、その細胞病態が十分に明らかになっておらず、治療法開発への足がかりが見つかっていない。しかし、近年、エンドゾーム・リソソームでの過剰PLP1蛋白質の蓄積が報告されたことから、オートファジーの病態への関与が示唆された。このことから、我々はオートファジーがPLP1重複変異の治療標的の一つになるのではないかと考えている。

本研究では、この仮説に基づき、PLP1重複変異によるPMDの治療法開発の一端として、培養細胞系でオートファジーの活性化を可視的に検出できる解析系を確立した。さらに、今回、この経を用いて食品化合物ライブラリーのスクリーニングを行い、オートファジーを活性化させると予想される食品化合物を4種同定した。

今後、これらの化合物が生体内でも

同様の薬理効果を発揮することができるのか、神経系への移行性や体内での化合物安定性などについての知見を総合的に考慮し、これらの化合物がPLP1重複によるPMDの治療薬候補となりうるのか、検討を行っていきたい。

5. 結語

in vitroでのオートファジー活性化の可視化をスクリーニングできる実験系を用いて、オートファジーを活性化する化合物を4種同定した。これらはPLP1重複によるPMDの治療薬候補になる可能性があるため、今後、さらに生体内での薬理効果などを検討していく予定である。

6. 研究発表

なし

7. 健康危険情報

特記事項無し

8. 知的財産権の出願・登録状況

なし

先天性大脳白質形成不全症の診断と治療

小坂仁¹、新保裕子¹、永井淳一²、黒澤健司³、井上健⁴、才津 浩智⁵、
松本直通⁵

1 地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立こども医療センター
神経内科、2 同 検査科、3 同 遺伝科

4 国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第二部

5 横浜市立大学医学部 遺伝学教室

研究要旨

1, PLP1 解析；平成 21 年 4 月以降に、当院で PMD 診断を目的に PLP1 遺伝子検索を行った 22 例について、定量的 PCR、FISH、シークエンスを行った。その内、開始コドンに変異を認めた症例 1 と、エクソン 2-7 に欠失を認めた症例 2 については、さらに詳細な解析を行った。依頼総数 22 例の内、量的異常としては、重複が 3 例、3 倍が 1 例、エクソン 2-7 の欠失 (症例 2) が 1 例であった。点突然変異は 8 例で認め、ATG>AGG (initiation codon) (exon1)、Phe32Val (exon2)、Ileu176Asn(exon4)、Asp203His (exon4)、Arg205Lys (exon4)、Ala214Asp (exon5) はそれぞれ 1 例に、Phe240Leu (exon6) は血縁関係のない 2 例に認めた。症例 1 では ATG>AGG (initiation codon)の変異導入により、抗 FLAG 抗体では PLP 1 の検出が消失した。また FLAG による影響を回避するため、タグのないプラスミドから作成された蛋白を無細胞系で検出したが、同様の結果であり、完全欠失に相当する変異と考えられた。軽症の表現型や、末梢神経伝導速度低下も完全欠失に合致していた。また症例 2 では、イントロン 1 から始まる 34 kb の欠失を証明し、切断点を同定した。この症例もまた軽症の表現型を認め、機能喪失型変異は、軽症の表現型を呈するという従来の結果を支持した。

2,新規遺伝子単離；PMLD, X-linked PMLD (X 染色体上の PMD 様疾患)および小脳萎縮と脳梁低形成を伴うび慢性大脳白質形成不全症 (Diffuse cerebral hypomyelination with cerebellar atrophy and hypoplasia of the corpus callosum ; HCAHC) について連鎖解析およびエクソームシークエンスを行い、それぞれ *GJC2* の調節領域変異、*MCT8* 変異および *POLR3A/POLR3B* 変異を見出した。

3, 根本治療薬の開発：PLP 重複による PMD 患者の治療薬開発を目的として細胞スクリーニングより得られた、候補薬の中から 8 種類を選定し、正常マウスに人で安全性が確認されている最大量を体重換算し、1 週間強制投与した。その後片側大脳より mRNA を抽出し、発現量を測定した。その結果、1 種類の薬物で mRNA の有意な減少をみた。(p<0.05)

A. 研究目的

①PLP1 遺伝子解析；現在当院では Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) の診断を保険診療として行っている。臨床的に PMD と診断される症例のうち、約半数で proteolipid protein 1 (PLP1) 遺伝子異常を見いだしている。臨床症状は、定額のない重症例から、臨床的に痙性対麻痺に相当する軽症例まで幅が広い。今回は、班研究開始時からの解析例を報告し、そのうち非典型的な軽症例の分子基盤を明らかにすることを目的として、さらに詳細な解析を行った。

②新規遺伝子単離；先天性大脳白質形成不全症のうち *PLP1*, *SOX10* 以外の中枢ミエリン形成不全遺伝子として *GJC2*, *DRCTN1* 等が見いだされている。しかしながら中枢ミエリン形成不全症の 2-3 割の症例は、遺伝子異常が見いだせない。これらの診断見確定例の中から、今回 3 つのタイプの先天性白質形成不全症；(1) Pelizaeus-Merzbacher like disease, PMLD (2) X-linked PMLD (3) Diffuse cerebral hypomyelination with cerebellar atrophy and hypoplasia of the corpus callosum, HCAHC を疾患原因遺伝子単離の対象とした。

③治療薬開発；PMD 患者数として最も多い、遺伝子重複の治療薬開発のため内因性の *plp* 発現を認められるラット C6 グリオーマを用いた薬物スクリーニングより、得られた薬剤を正常マウスに投与し、個体での効果が得られる薬物を抽出した。

B. 研究方法

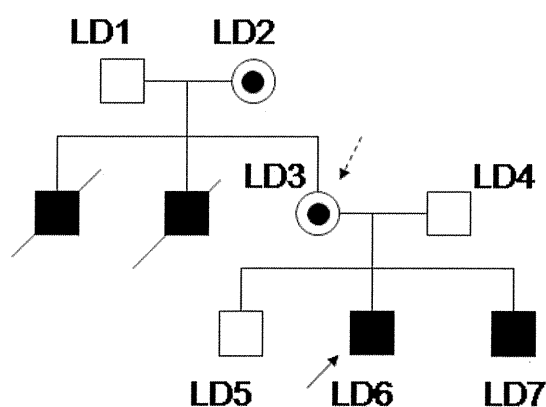
①PMD 解析；平成 21 年 4 月以降に、当院で PMD 診断を目的に PLP1 遺伝子検索を行った 22 例について、定量的 PCR、FISH、シーケンスを行っ

た。その内、開始コドンに変異を認めた症例 1 と、エクソン 2-7 に欠失を認めた症例 2 について、さらに詳細な解析を行った。症例 1 (6 歳男児、支持歩行、二語文あり。末梢神経電動速度低下を認めた、非典型例)；正常型 *PLP1* と site directed mutagenesis により得た変異型 *PLP1* を、発現ベクターに組み込み、COS 細胞にリポフェクタミンにてトランスフェクトさせ、24 時間後蛋白を回収し、抗 FLAG 抗体にて検出を行った。また無細胞系として、T7 Ribo MAX™ Express Large Scale RNA Production System により mRNA を合成、引き続きタンパク質合成を行った。反応系に Promega 社製 FluoroTect™ GreenLystRNA 0.5 μL を添加し、蛍光標識を行ったのち、50 μL スケールでタンパク質合成 (25°C、5 時間) を行い SDS-PAGE 後、蛍光検出した。症例 2 (26 歳男性、座位可能、言語発達遅滞あり。末梢伝導速度低下を認める非典型例)；*PLP1* のイントロン 1 と、下流の遺伝子配列の間で Long-PCR を行い、バンドが確認後、順次プライマー間隔を狭め、切断点を同定した。

②新規遺伝子単離；(1) PMLD (血族結婚例)；我々が解析した症例の中に 4 世代前の血族結婚により、常染色体劣性遺伝形式をとるとされる女性例がある (Nedu A., et al., Brain & Develop, 1996)。この家系の多型解析を行い、罹患者でホモの SNP が連続し、非罹患者と明らかにハプロタイプが異なる領域を特定し、候補遺伝子領域を狭小化、その染色体上の候補遺伝子が、数百となり解析可能な遺伝子数となったため個々の候補遺伝子解析、機能解析を行う。(2) X-linked PMLD (X 染色体上の PMD 様疾患)；我々は、*PLP1* とは別の白質形成不全をおこす

遺伝子があることを報告したが(Osaka H et al., 1996 Ann Neurol)、その遺伝子異常によると思われるミエリン形成不全症では典型的な PMD に加え、獲得性の小頭症をきたし、画像的にも早期より皮質萎縮をきたす。米国からの連鎖解析により、原因遺伝子の X 染色体のおよその位置が明らかになっていたが、一家系しか報告がないためにその後連鎖部位が更に狭められることはなかった(Lazzarini A. et al., Neurology 1997)。我々の家系の中にも、同様の表現形を来す家系があり (Fig. 1)

Fig. 1 X-linked PMLD (X 染色体上の PD 様疾患)家系



PLP1 等の既知遺伝子異常はない。この家系はすでに、ハプロタイプ解析にて疾患遺伝子が存在すると考えられる領域は絞り込まれている。次世代シーケンサーにより、X 染色体の exome sequence を行い、この領域に絞り原因変異を特定する。

(3) HCAHC；小脳萎縮と脳梁低形成を伴うび慢性大脳白質形成不全症は、2009 年に本邦から提唱された新しい疾患概念で中枢神経系の髄鞘形成不全に加え、小脳萎縮と脳梁低形成を伴う。大脳基底核の萎縮は認めない。これまで報告された 3 例はいずれも 1~

3 歳代に自立歩行を獲得しているが、10代に入り徐々に進行する歩行失調、振戦、緩徐言語、錐体路症状を認め、軽度から中等度の精神運動発達遅滞を示している。原因遺伝子は不明であり、家族例の報告もなく遺伝形式も不明である。2009 年度、佐々木らにより本邦から、報告された 3 家系は、いずれも既知遺伝子を当研究室で解析した家系であり、その後 2 家系が加わり、全 5 家系が集積した。これら 5 家系のゲノムワイドの連鎖解析および全エクソンシーケンシング:ハイブリダイゼーションの技術を用い、ゲノム上のエクソン領域 (蛋白質をコードする領域) を選択的にキャプチャし、高効率に濃縮してから次世代シーケンサーを用いて包括的に解析する。

③治療薬開発:正常マウスを用いたスクリーニング；(PLP を減少させる化合物の絞り込み)ラット神経芽細胞株由来 C6 グリオーマを用いた細胞実験により、内因性 PLP が 30%以上低下した食品化合物 13 種類を候補化合物とする。これらはすべて、食品中に含まれるものであり、安全性は確認されている。マウスは日本チャールズリバーより提供された CrIj: CD1(ICR)を用いる。入荷後 1 週間以上の馴化期間の後、ラット用経口ゾンデを用い、一匹あたり 0.2ml の化合物を含有したスキムミルクを連日経口投与する。Day 8 に左脳より、TRIZOL を用い Total RNA を抽出し、オリゴ dT を用い、逆転写反応により cDNA を合成し、SYBER GREEN を用いた PCR 法を用い、PLP の発現量を定量。内因性のコントロールとして G6PDH および HPRT を用いる。6 種類の候補化合物について順次 N=6 以上の実験を行い、有意に低下を認める薬物を数種類に絞り込む。

C. 研究結果

①PMD 軽症例解析; 依頼総数 22 例の内、量的異常としては、重複が 3 例、3 倍が 1 例、エクソン 2-7 の欠失 (症例 2) が 1 例であった。点突然変異は 8 例で認め、ATG>AGG (initiation codon) (exon1)、Phe32Val (exon2)、Ileu176Asn(exon4)、Asp203His (exon4)、Arg205Lys (exon4)、Ala214Asp (exon5) はそれぞれ 1 例に、Phe240Leu (exon6) は血縁関係のない 2 例に認めた。症例 1 では ATG>AGG (initiation codon)の変異導入により、抗 FLAG 抗体では PLP 1 の検出が消失した。また FLAG による影響を回避するため、タグのないプラスミドから作成された蛋白を無細胞系で検出したが、同様の結果であり、完全欠失に相当する変異と考えられた。軽症の表現型、末梢神経伝導速度低下もそれを支持していた。また症例 2 では、PLP1 のイントロン 1 と、RAB9B のエクソン 1 にプライマーを設定したところ、Long-PCR が可能であった (~50kb)。順次プライマー間隔を狭め、PCR 産物の全長がシークエンス可能となった時点で切断点を同定した。イントロン 1 から始まる 34 kb の欠失を証明し、切断点を同定した。この症例もまた軽症の表現型であり、機能喪失型変異は、軽症の表現型を呈するという従来の結果を支持した。

②遺伝子単離 (1) PMLD; 患者においてホモの SNP が連続し、非罹患者と明らかにハプロタイプが異なる領域を全染色体上に 13 箇所特定した。その内最も、広い候補領域 (染色体 1 番) に存在する遺伝子数はおおよそ 30 であった。順次ダイレクトシークエンス法にて塩基配列を決定したところ、候補領域のほぼ中心に位置する遺伝子

GJC2 の、調節領域に変異をみいだした (c.-167A>G)。この遺伝子変異は、患者においては homozygous に存在していた。50 例以上の正常人でこの領域の変異を検討したが、全て正常配列であり、報告されている SNIP もなかった。細胞を用いた転写発現解析を行ったところ、この変異により転写因子 SOX10 の結合が無くなること、また結合による転写活性上昇がみられないことが明らかになった。

(2) X-linked PMLD; エクソームシークエンスにより Monocarboxylate transporter 8 (MCT8) に c.1102A→T, p.R368X の変異を認めた。家系と連鎖しており、正常 200 アリルでこの変異を認めないため、原因変異と考える。

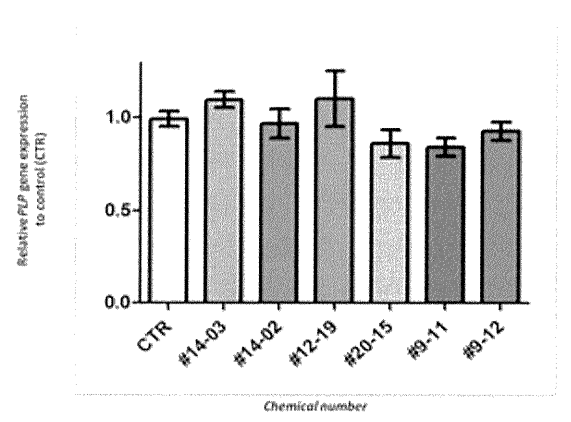
(3) HCAHC; 全エクソンシークエンスを 3 名の患者で行い、1 名において *POLR3A* 遺伝子の c.2690T>A, p.Ile897Asn/c.3013C>T, p.Arg1005Cys を、2 名において *POLR3B* 遺伝子の複合ヘテロ接合体 c.1857-2A>C, p.Asu620_Lys652del/c.2303G>A, p.Arg768His および c.1648C>T, p.Arg550X/c.2778C>G, p.Asp926Glu を同定した。*POLR3A* および *POLR3B* 遺伝子は RNA polymerase III (PolIII) 合体のコアになるサブユニット (RPC1 および RPC2) をコードしており、複合体の 3 次元モデルの解析から、同定された変異は PolIII 活性を低下させると予想された。PolIII は tRNA と 5SrRNA を含む大多数の低分子 RNA をコードする遺伝子を転写しており、これらの低分子 RNA 量が不足することにより髄鞘化不全が起きると考えられる。

③重複治療薬スクリーニング

最適化された実験の条件下、日本水産株式会社中央研究所 健康基盤研究

室 竹尾 仁良博士より貸与を受けたすでに安全性が確認されているおよそ150の食品ライブラリーに関して細胞スクリーニングを終了し、PLPの発現が50%以上低下する食品化合物を2種類、30%以上低下する食品化合物を11種同定していた。今回これらの薬物のうち6種類を正常マウスに投与し、mRNAの発現の変化を検討した(Fig. 3)。そのうち#9-11において有意に発現量の減少をみた。(Fig. 1; $P < 0.05$, two tailed p-test)

Fig. 2 薬物投与後の mRNA 発現量



D,E 考察および結論

①PMD 軽症例解析；症例1ではATG > AGG (initiation codon)の変異導入により、抗FLAG抗体ではPLP1の検出が消失した。またFLAGによる影響を回避するため、タグのないプラスミドから作成された蛋白を無細胞系で検出したが、同様の結果であり、完全欠失に相当する変異と考えられた。軽症の表現型、末梢神経伝導速度低下もそれを支持していた。また症例2では、イントロン1から始まる34 kbの欠失を証明し、切断点を同定した。この症例もまた軽症の表現型であった。以上の2例は、機能喪失型変異は、軽症の表現型を呈するという従来の結果を支

持した。

②遺伝子単離(1) PMLD；常染色体劣性遺伝形式をとる白質形成不全症患者に於いて世界で初めてGJC2の調節領域の変異を見いだした。生体内では、実際にSOX10の下流でGJC2の発現が調節されていることが明らかとなり、髄鞘化機構の解明に寄与した。またSOX1の異常により、ヒルシュスプルング病と白質形成不全が合併する例があることが知られていたが(Waardenburg syndrome, and Hirschsprung disease (PCWH; MIM609136)) 今回の症例解析を通じて、SOX10の異常はGJC2の遺伝子発現不全により、中枢白質形成不全を呈することを明らかにした。

(2) X-linked PMLD；MCT8 遺伝子変異による先天性白質形成不全症は、Allan-Herndon-Dudley 症候群とよばれ、MCT8 遺伝子異常により triiodothyronine (T3)のニューロン取り込み低下が神経症状と関連している可能性が考えられており、血清T3値の上昇が診断の手掛かりとなると考えられている。血清T3値の上昇なく白質形成不全が疑われ、診断に苦慮したが、血清TSH,T3,T4の値が正常範囲であっても、考慮すべき疾患であると考えられた。

(3) HCAHC；本研究はHCAHCの原因遺伝子を明らかにしたばかりでなく、髄鞘化不全の病態に低分子RNAの不足が関与しているという新たな知見を加えた。今後の髄鞘化不全の病態の解明と、治療法の開発に大きく寄与することが期待される。

③重複治療薬スクリーニング；先天性大脳白質形成不全症のうち、最も変異として多いPLP1 遺伝子重複の患者に対する治療候補薬を正常マウスに投与し、有意に発現量を下げる薬物を見い

でした。今後は実際に PLP1 の重複を持つ疾患モデルマウスに投与し、PLP1 mRNA 量の低下および臨床症状の軽減化が認められるか否か検討を行いたい。

G. 研究発表

1, 論文発表

Arai M, Osaka H (2011) Acute leukoencephalopathy possibly induced by phenytoin intoxication in an adult patient with methyl-enetetrahydrofolate reductase deficiency. *Epilepsia* 52 (7):58-61.

Tsuji M, Mazaki E, Ogiwara I, Wada T, Iai M, Okumura A, Yamashita S, Yamakawa K, Osaka H (2011) Acute encephalopathy in a patient with Dravet syndrome. *Neuropediatrics* 42 (2):78-81.

Tsuji M, Takagi A, Sameshima K, Iai M, Yamashita S, Shinbo H, Furuya N, Kurosawa K, Osaka H (2011) 5,10-Methylenetetrahydro- folate reductase deficiency with progressive polyneuropathy in an infant. *Brain Dev* 33 (6):521-524.

Tsurusaki Y, Osaka H, Hamanoue H, Shimbo H, Tsuji M, Doi H, Saitsu H, Matsumoto N, Miyake N (2011) Rapid detection of a mutation causing X-linked leukoencephalopathy by exome sequencing. *J Med Genet* 48 (9):606-609.

Tsuyusaki Y, Shimbo H, Wada T, Iai M, Tsuji M, Yamashita S, Aida N, Kure S, Osaka H (2011) Paradoxical

increase in seizure frequency with valproate in nonketotic hyperglycinemia. *Brain Dev.* 10.1016/j.braindev.2011.01.005

Saitsu H, Osaka H, Sasaki M, Takanashi J, Hamada K, Yamashita A, Shibayama H, Shiina M, Kondo Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Miyake N, Doi H, Ogata K, Inoue K, Matsumoto N (2011) Mutations in POLR3A and POLR3B Encoding RNA Polymerase III Subunits Cause an Autosomal-Recessive Hypomyelinating Leukoencephalopathy. *Am J Hum Genet* 89 (5):644-651.

Saitsu H, Osaka H, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Matsumoto N (2011) A girl with early-onset epileptic encephalopathy associated with microdeletion involving CDKL5. *Brain Dev.* doi:S0387-7604(11)00182-3

Tanoue K, Matsui K, Ohshiro A, Yamamoto A, Hayashi T, Fujimoto J, Osaka H (2011) Acute encephalopathy in two cases with severe congenital hydrocephalus. *Brain Dev* 33 (7):616-619.

Wada T, Shimbo H, Osaka H (2011) A simple screening method using ion chromatography for the diagnosis of cerebral creatine deficiency syndromes. *Amino Acids.* doi:10.1007/s00726-011-1146-1

Saitsu H, Osaka H, Sugiyama S, Kurosawa K, Mizuguchi T, Nishiyama K, Nishimura A,

Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Harada N, Kato M, Matsumoto N. (2011) Early infantile epileptic encephalopathy associated with the disrupted gene encoding Slit-Robo Rho GTPase activating protein 2 (SRGAP2). Am J Med Genet A. 2011 Nov 21. doi:10.1002/ajmg.a.34363.

Yoneda Y, Haginoya K, Arai H, Yamaoka S, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Yokochi K, Osaka H, Kato M, Matsumoto N, and Saitsu H. De novo and inherited mutations in COL4A2, encoding the type IV collagen $\alpha 2$ chain cause porencephaly. Am J Hum Genet. (in press)

2. 学会発表

渡辺好宏、辻 恵、和田敬仁、井合瑞江、山下純正、小坂仁、当院で経験した小児期発症歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症のてんかん症状について、第 67 回神奈川てんかん懇話会 2011.1.29 横浜

谷河純平、新保裕子、渡辺好宏、辻恵、和田敬仁、井合瑞江、山下純正、小坂仁、特徴的な顔貌異常を呈する Leigh 脳症(SURF1 遺伝子異常)の 1 女児例、第 47 回神奈川小児神経学会、2011.1.22 横浜

大城亜希子、田上幸治、松井潔、山本敦子、林拓也、藤本潤一、小坂仁、VP シャント術後の先天性水頭症の患児に発症した急性脳症 2 症例、第 47 回神奈川小児神経懇話会、2011.1.22 横浜 (座長)

Hitoshi Osaka, Atsuo Nezu, Hiroto Saitsu, Kenji Kurosawa, Hiroko Shimbo, Naomichi Matsumoto, Ken Inoue, A SOX10 binding site mutation in GJC2 promoter causes Pelizaeus-Merzbacher-like disease 2011 年 5 月 26 日 (土) 第 53 回日本小児神経学会総会、English session 横浜.

安西里恵、小坂仁、露崎悠、高木篤史、辻 恵、鮫島希代子、井合瑞江、山下純正、五味淳、田中水緒、田中祐吉、平田善弘、北河徳彦遺伝子診断で確定した神経型 Wilson 病の 1 例 2011 年 5 月 26 日 (土) 第 53 回日本小児神経学会総会、横浜

辻 恵、渡辺好宏、和田敬仁、井合瑞江、山下純正、小坂仁 診断に苦慮した先天性白質形成不全 Allan-Herndon-Dudley 症候群の兄弟例 2011 年 5 月 26 日 (土) 第 53 回日本小児神経学会総会、横浜

小坂仁、診断のための検査と医療的ケア (教育講演) 先天性大脳白質形成不全症の克服へ向けて～患者さんを取巻く医療と研究の進歩～ 第 2 回市民公開セミナー主催：厚生労働科学研究補助金難治性疾患克服研究事業「先天性大脳白質形成不全症の診断と治療に向けた研究」班 平成 22 年 7 月 17 日、横浜

小坂仁、才津浩智、奥田美津子、高野亨子、和田敬仁、井合瑞江、山下純正、松本直通,DKL5 欠損を認めた早期てんかん性脳症の 1 女児例、第 68 回神奈川てんかん懇話会平成 23 年 7 月 30 日、横浜

小坂 仁、辻恵、井合瑞江、山下純正、
荒井元美 5,10-Methylenetetra-
hydrofolate reductase deficiency
の2例、第45回日本てんかん学会
2011年10月6日、7日新潟

奥田美津子、高野亨子、和田敬仁、井
合瑞江、山下純正、小坂 仁、高橋幸

利 Opsoclonus-myoclonus
syndrome に対し、Rituximab を使用
した1例第47回神奈川小児神経懇話
会、23年6月17日、横浜

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許出願

2010-25346 弱酸性陽イオン交換カ
ラムを用いた生体アミンの検出。

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

GeneReviews に掲載された PLP1-Related Disorders
—情報リソースの重要性—

分担研究者 黒澤健司

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立こども医療センター
遺伝科部長

研究要旨

難治性疾患情報リソースの原型としての GeneReviews の PLP1-Related Disorders の邦訳を試みた。邦訳対象は、GeneReviews (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/GeneTests/review/>) のページより、PLP1-Related Disorders を参照して、その内容を可能な限り原文に即して邦訳を試みた。今回参照した version は、16 March 2010 だった。内容は、患者家族は勿論、医療従事者にもわかりやすく、そのフォーマット化された構成が理解を促していると考えられた。難治性疾患の治療法開発は疾患克服の最終ゴールではあるものの、膨大な時間と労力を要する。一方で、疾患の自然歴を明らかにし、情報リソースを整備することは根本治療に結びつかないものの、長期的予後改善には極めて有用である。GeneReviews を参照しつつ、情報リソースの在り方の重要性を再確認した。

研究協力者

富永牧子

地方独立行政法人神奈川県立病院機構
神奈川県立こども医療センター
遺伝科

西川智子 同認定遺伝カウンセラー

小坂 仁 同神経内科

ある。原因遺伝子は X 染色体 q22 にマップされる *Proteolipid protein 1* (*PLP1*) 遺伝子で、X 連鎖劣性遺伝形式をとる。診断は、臨床症状およびびまん性の大脳白質変性を特徴とする頭部 MRI 画像所見、聴性脳幹反応 (ABR) など電気生理学的評価を組み合わせで行われる。しかし、大脳白質変性疾患は遺伝的異質性が高く、確定診断は遺伝子診断による。PMD をきたす *PLP1* 遺伝子の異常は多岐に及び、臨床的に PMD と診断された患者での変異は、*PLP1* 領域の遺伝子重複が 50–60%、シーケンス解析で検出される遺伝子内変異が 15–25% とされる。

A. 研究目的

Pelizaues-Merzbacher 病 (PMD) は、乳児期早期から眼振、筋緊張低下、発達遅滞などの症状を呈し、成長とともに痙性四肢麻痺と失調が進行する代表的な中枢神経系ミエリン形成不全症で

しかし、実際には、まれな例として遺伝子内欠失や転座重複例、さらには3重複(triplex)例などが存在する。PLP1遺伝子領域の重複は平均500 kbとされ、Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) での重複確認は間期核を用いる。上述のように Pelizaeus-Merzbacher 病は、その重症度と遺伝形式、医療管理、さらには発症メカニズム、診断確定の点から、医療上の対応が極めて困難であり、患者家族は勿論、医療従事者にとってもその理解は極めて重要である。今回我々は、こうした遺伝性疾患の情報リソースとして国際的に認められた GeneReviews の PLP1-Related Disorders を邦訳し、その臨床的意義をまとめた。

B. 研究方法

邦訳対象は、GeneReviews

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/GeneTests/review/>)のページより、PLP1-Related Disorders を参照して、その内容を可能な限り原文に即して邦訳を試みた。GeneReviews の掲載の各疾患はその分野の専門家によって記載され、改定 (Revision) が行われている。今回参照した version は、16 March 2010 を参照した。参考文献(全95編)は割愛とした。

C. 研究結果

(邦訳の全体を添付資料としてまとめた。)構成は PLP1-Related Disorders に限らず、極めてフォーマット化されているために読みやすく、読者のニーズに即した形で内容が整理されていた。特に臨床医が最初に参照する情報として「要約」を最初に掲げ、疾患の臨床的意義から対応および発症メカニズムまでが簡潔に正確に記述されていた。

一般の医学書に記載の少ない遺伝カウンセリングの記述には大きなスペースが割り当てられ、基本事項が整理されていた。

D. 考察

多くの疾患においてその予後改善は、最良の治療法の開発がその最終目標であることは言うまでもない。しかし、いわゆる「難治性疾患」は発生頻度が極めて低く、その発症メカニズムも全貌が明らかにはなっていない疾患がほとんどである。したがって、治療法の開発のスタート地点にたどり着くまでに膨大な時間と労力を要するのが一般である。その間にも多くの新しい発症者は生まれ、多くの家族や医療従事者がその対応に苦慮しているのが実際である。これは先天性疾患に共通する問題である。こうした疾患においては個々の臨床家のきめ細かな対応は予後改善に重要な役割を果たすが、対象が限定され、患者全体への波及効果は期待できない。しかし、自然歴を初めとした疾患の正確でわかりやすい、実行可能な情報は、患者家族は勿論、医療従事者にとっても極めて有用であり、結果として患者全体の予後改善にきわめて重要である。GeneReviews は、その疾患に関して国際的な業績を残している経験豊富な専門家によって記述されたウェブ上の情報リソースである。当初は University of Washington の Pagon らを中心とした形をとっていたが、現在は米国 NIH の NCBI にサイトが置かれていて、パブリックリソースとしての地位を確立している。邦訳は内容の重要性は勿論であるが、その構成を参考とする意味で極めて有意義と考えられた。今後、我が国における難治性疾患情報リソースのあり方に関する議論も重要であると考えられた。