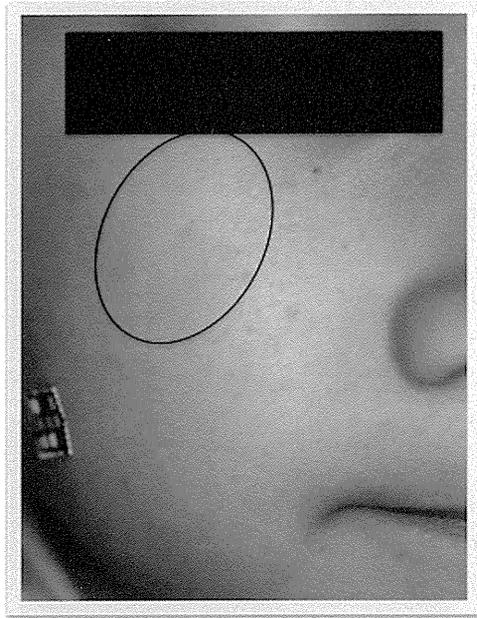


A:外用開始前



B:外用 12 週後

図2 患者2 8歳男児

善に寄与した可能性も考えられた。

E. 結論

TSCの白斑成因やrapamycinの効果の機序には未だ不明な点が多いが、TSCの白斑においても、rapamycin外用療法は副作用が少なく実際に有効な治療法であることが確認された。今後さらに臨床・実験の両側面から検討を加えていきたい。

F. 健康危険情報

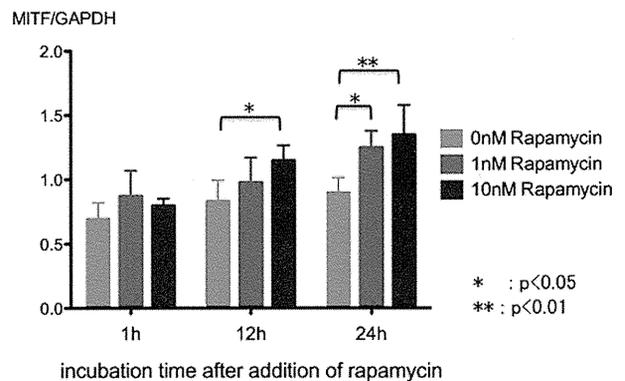


図3 培養正常ヒトメラノサイトにおけるラパマイシン添加によるMITF発現の変化(リアルタイムPCR)

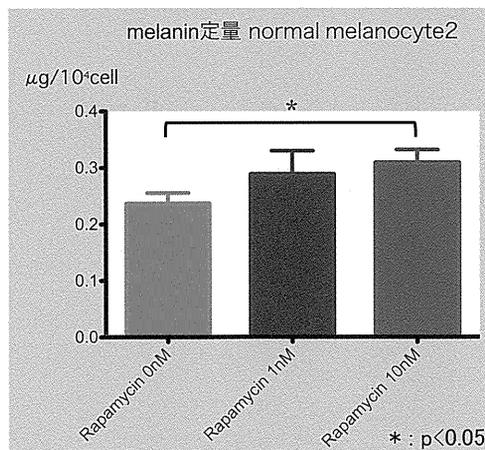
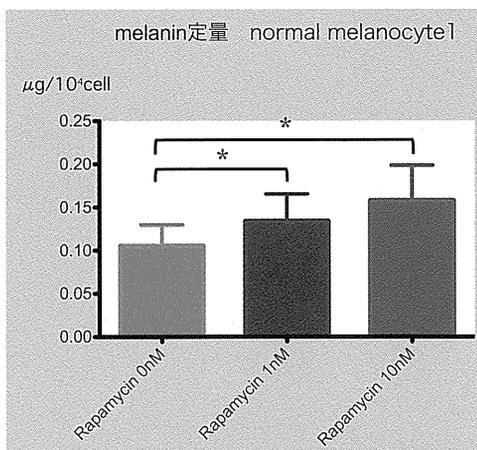


図4 培養正常ヒトメラノサイトにおけるラパマイシン添加によるメラニン量の変化

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Wataya-Kaneda M, Tanaka M, Nakamura A, A, Matsumoto S, Katayama I: A novel application of topical rapamycin formulation, an inhibitor of mTOR, for patients with hypomelanotic macules in tuberous sclerosis complex. Arch Dermatol. 2012 ; 148(1):138-9
2. Wataya-Kaneda M, Tanaka M, Nakamura A, Matsumoto S, Katayama I: A topical combination of rapamycin and tacrolimus for the treatment of angiofibroma due to tuberous sclerosis complex (TSC): a pilot study of nine Japanese patients with TSC of different disease severity. Br J Dermatol. 2011; 165(4):912-6
3. Umegaki N, Nakano H, Tamai K, Mitsuhashi Y, Akasaka E, Sawamura D, Katayama I : Vörner type palmoplantar keratoderma: Novel KRT 9 mutation associated with knuckle pad-like lesions and recurrent mutation causing digital mutilation. Br J Dermatol. 2011; 165(1):199-201.
4. Hanafusa T, Tamai K, Umegaki N, Yamaguchi Y, Fukuda S, Nishikawa Y, Yaegashi N, Okuyama R, McGrath JA, Katayama I : The course of pregnancy and childbirth in Three mothers with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. Clin Exp Dermatol. 2011; 37(1):10-4
5. Terao M, Murota H, Kimura A, Kato A, Ishikawa A, Igawa K, Miyoshi E, Katayama I: 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-1 is a novel regulator of skin homeostasis and a candidate target for promoting tissue repair. PLoS One. 2011; 6(9): e25039.
6. Arase N, Wataya-Kaneda M, Oiso N, Tanemura

A, Kawada A, Suzuki T, Katayama I: Repigmentation of leukoderma in a Piebald patient associated with a novel c-KIT gene mutation, G592E, of the tyrosine kinase domain. J Dermatol Sci. 2011; 64(2):147-9.

7. Kotobuki Y, Tanemura A, Kotobuki Y, Tanemura A, Yang L, Itoi S, Wataya-Kaneda M, Murota H, Fujimoto M, Serada S, Naka T, Katayama I: Dysregulation of Melanocyte Function by Th17-related Cytokines: Significance of Th17 Cell Infiltration in Autoimmune Vitiligo Vulgaris Pigment Cell & Melanoma Research. (in press)
8. Murakami Y, Wataya-Kaneda M, Terao M, Azukizawa H, Murota H, Nakata Y, Katayama I: Peculiar distribution of tumorous xanthomas in an adult case of erdheim-chester disease complicated by atopic dermatitis. Case Rep Dermatol. 2011; 3(2):107-12

2. 学会発表

1. 第36回日本研究皮膚科学会学術大会・総会 (2011.12) Topical rapamycin therapy is effective for hypomelanotic macules arising in tuberous sclerosis complex Tanaka M., Wataya-Kaneda M., Kiyohara E., Tanemura A., Nakamura A., Matsumoto S., Katayama I.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。） 出願中

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

色素性乾皮症の診断に向けた分子細胞生物学的検討

研究分担者 菅澤 薫 神戸大学自然科学系先端融合研究環
バイオシグナル研究センター教授

研究要旨

色素性乾皮症（XP）の遺伝的相補性群のうち、C群とE群の原因遺伝子産物はヌクレオチド除去修復機構においてDNA損傷の認識に関わる重要な因子である。本邦におけるXP-C群患者由来の培養細胞を用いてXPC遺伝子の変異アレル同定を進める過程で、光線過敏症状を伴う特異な症例を見出していたが、今回この患者由来の細胞についてさらに詳細な分子細胞生物学的解析を行った。

A. 研究目的

色素性乾皮症（XP）の遺伝的相補性群のうち、ヌクレオチド除去修復の損傷認識段階に欠損を示すC群、E群について、国内患者の変異解析、および簡便な診断法の開発を目指す。XP-C群については欧米を中心に多数の変異が同定されているが、国内の患者については従来報告がなかったため、どのような変異アレルがどの程度の頻度で分布しているのか実態を把握する必要がある。またXP-E群はDNA修復活性の欠損がマイルドであることから、従来の手法ではその同定が容易ではなく、実際よりも患者数が少なく見積もられている可能性がある。我々は紫外線照射によって誘導されるXPCタンパク質のユビキチン化が、XP-E群患者細胞において特異的に欠損していることを見出しており、この現象をE群の診断に応用するための基礎的な研究を進める。

B. 研究方法

当該患者由来の皮膚線維芽細胞は、神戸大学大学院医学研究科皮膚科・錦織千佳子教授より分与していただき、ヒトTERT、もしくはSV40ラージT抗原の発現により不死化したものを用いた。

ヌクレオチド除去修復により損傷が除去された後のDNA修復合成の指標となる不定期DNA合成は、紫外線照射した細胞に5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU)を取り込ませた後、蛍光標識することによ

り測定した。一方、転写と共役した修復活性の指標となる紫外線照射後のRNA合成回復は、同様に5-ethynyl uridine (EU)の取り込みにより調べた。これらの測定は、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・荻朋男博士らとの共同研究により行った。損傷除去活性の評価は、細胞に紫外線（10 J/m²）を照射後、経時的にゲノムDNAを調製して、残存する(6-4)光産物を損傷特異的なモノクローナル抗体を用いて定量することにより行った。

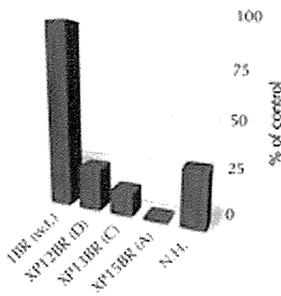
(倫理面への配慮)

患者由来細胞の解析については、神戸大学医学研究科医学倫理委員会の承認を得た上で、患者・家族からの同意を文書にて取得した後に行った。対照として用いた細胞は細胞バンク等から入手可能な樹立細胞株を使用しており、研究倫理面での問題は無い。

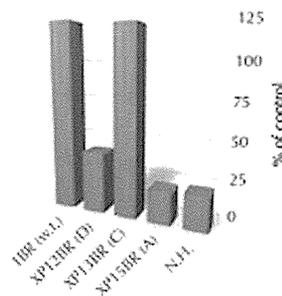
CD. 研究結果と考察

光線過敏症状を伴う当該患者由来の線維芽細胞は紫外線高感受性を示し、宿主細胞再活性化アッセイによりXP-C群である可能性が示唆された。しかしながらXPC遺伝子のゲノム配列には変異が認められず、ウエスタンブロットの結果、全長XPCタンパク質が発現していることも確認された。このことと一致して、細胞に紫外線を照射した後のゲノムDNAからの(6-4)光産物の除去速度は、正常細

不定期DNA合成 (GG-NER)



RNA合成回復 (TC-NER)



患者由来細胞におけるヌクレオチド除去修復欠損

胞に比べて若干遅い程度であることが見出されていた。

今回、この患者由来細胞について紫外線照射に伴う不定期DNA合成レベルを測定したところ、XP-C群細胞と同程度に低いことがわかった。このことは、ヌクレオチド除去修復による損傷の除去は正常に起こるが、その後のDNA修復合成に何らかの異常があることを示唆する。さらに、転写と共役した修復活性の指標であるRNA合成回復能にも欠損が見られたことから、この患者細胞の性質がXP-C群とは明確に異なることが確認された。

以上の結果を考え合わせると、この患者由来細胞では紫外線照射後、ヌクレオチド除去修復の進行と共にゲノムDNA中に一本鎖ギャップが蓄積することが予想された。そこで、紫外線照射24時間後の細胞を使ってコメットアッセイを行ったところ、アルカリ性条件下で電気泳動を行った場合に顕著なDNA鎖切断が観察された。中性条件下の泳動では紫外線非照射時と比べて有意な変化が見られなかったことから、一本鎖切断(ギャップ)が実際に蓄積していると考えられる。

E. 結論

当該患者由来細胞は、ヌクレオチド除去修復による紫外線損傷の除去は正常であるが、その後のDNA修復合成に異常を示す新奇なDNA修復欠損を伴う可能性が高い。現在、cDNA発現ライブラリーによる紫外線感受性の相補と、全ゲノムDNA解析の両面から、この表現型に関わる遺伝子の特定を進めている。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Naegeli, H. and Sugasawa, K.: The xeroderma pigmentosum pathway: decision tree analysis of DNA quality. *DNA Repair* 10: 673-683 (2011).

Yanagihara, H., Kobayashi, J., Tateishi, S., Kato, A., Matsuura, S., Tauchi, H., Yamada, K., Takezawa, J., Sugasawa, K., Masutani, C., Hanaoka, F., Weemaes, C.M., Mori, T., Zou, L. and Komatsu, K.: NBS1 recruits RAD18 via a RAD6-like domain and regulates Pol η -dependent translesion DNA synthesis. *Mol. Cell* 43: 788-797 (2011).

Fischer, E.S., Scrima, A., Böhm, K., Matsumoto, S., Lingaraju, G.M., Faty, M., Yasuda, T., Cavadini, S., Wakasugi, M., Hanaoka, F., Iwai, S., Gut, H., Sugasawa, K., Thomä, N.H.: The molecular basis of CRL4^{DDB2/CSA} ubiquitin ligase architecture, targeting, and activation. *Cell* 147: 1024-1039 (2011).

Sugasawa, K.: DNA damage recognition for mammalian global genome nucleotide excision repair. in *DNA Repair* (Kruman I. ed., InTech, Rijeka, Croatia) pp. 453-476 (2011).

2. 学会発表

Sugasawa, K.: Regulation of DNA damage recognition in mammalian nucleotide excision repair. Conference on Responses to DNA Damage: from Molecular Mechanism to Human Disease. Egmond aan Zee, The Netherlands, Apr. (2011).

菅澤 薫: ヌクレオチド除去修復におけるDNA損傷認識の分子基盤. 日本放射線影響学会第54回大会 神戸 11月 (2011).

Sugasawa, K.: DNA damage recognition in nucleotide excision repair: molecular mechanism and involvement of chromatin structure. The 27th RBC-NIRS International Symposium on Chromatin Dynamics and Epigenetic Memory in DNA Damage Response. Kyoto, Japan, Dec. (2011).

Sugasawa, K., Tone, D., Yasuda, T. and Hanaoka, F.: Reconstitution of mammalian nucleotide excision repair: molecular basis for DNA damage recognition. 第34回日本分子生物学会年会 横浜 12月 (2011).

Matsumoto, S., Yasuda, T., Dohmae, N., Fischer, E.S., Thomä, N.H., Nishi, R., Hanaoka, F. and Sugasawa, K.: Functional analysis of the CRL4^{DDB2} E3

ligase in mammalian nucleotide excision repair.
第 34 回日本分子生物学会年会 横浜 12 月
(2011).

Akita, M., Tak, Y.-S., Shimura, T., Hanaoka, F. and Sugawara, K.: Roles for sumpylation in regulation of the xeroderma pigmentosum group C protein.

第 34 回日本分子生物学会年会 横浜 12 月
(2011).

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
なし

色素性乾皮症やコケイン症候群における ヌクレオチド除去修復、転写の異常に関する研究

研究分担者 田中亀代次 大阪大学大学院生命機能研究科教授

研究要旨

ヌクレオチド除去修復（nucleotide excision repair: NER）機構に異常を持つ色素性乾皮症（xeroderma pigmentosum: XP）、コケイン症候群（Cockayne syndrome: CS）の原因遺伝子産物の機能解析、紫外線高感受性症候群（UV-sensitive syndrome: UV^sS）遺伝子のクローニング、それらに欠損をもつ患者の分子病態の解析を研究目的とした。平成 23 年度は以下の成果を得た。(1) XPF 蛋白質がキネシン Eg5 と結合し、細胞分裂に関与すること、XP-F や XFE 患者では細胞分裂の異常を高頻度に示すことを明らかにした。XP-F や XFE 患者の病態に細胞分裂機構の異常が関与していることを示唆した。(2) 転写と共役した修復に関与するが、これまで未知であった UV^sS-A 群（Kps3 患者）の原因遺伝子を、マウス単一染色体移入、CGH array 法、BACtransfection 法を用いることによりクローニングし、UVSSA と命名した。UV^sS-A 群患者における UVSSA 遺伝子の突然変異を明らかにし、UVSSA の転写と共役した修復機構における役割を解析した。

A. 研究目的

ヌクレオチド除去修復（NER）は、紫外線や活性酸素による損傷を始め多様な DNA 損傷を修復できる重要な遺伝情報維持機構である。NER 機構に異常をもつヒト遺伝疾患として、日光露出部位での高頻度皮膚がんや種々の神経症状を示す色素性乾皮症（xeroderma pigmentosum: XP）、身体発育不全、精神神経症状や早期老化を示すコケイン症候群（Cockayne syndrome: CS）、CS 様徴候に加えて毛髪脆弱、皮膚角化等を示す硫黄欠乏性毛髪発育異常症（trichothiodystrophy: TTD）、日光過敏性や色素斑を示す紫外線高感受性症候群（UV-sensitive syndrome: UV^sS）などが知られており、生命維持における NER の重要性が示唆される。NER 異常を示す XP には XP-A ～ XP-G の 7 つ、CS には CS-A と CS-B の 2 つの遺伝的相補性群が存在する。TTD は TTDA 遺伝子以外に XPB、XPD 遺伝子の突然変異でも発症し、UV^sS は CSA、CSB 遺伝子の他に、未知の遺伝子である UV^sS-A の突然変異で発症する。UV^sS-A

以外の遺伝子は既にクローニングされている。また、NER 機構には、転写を阻害し細胞死を誘発する転写鎖上の DNA 損傷を特異的に修復する「転写と共役した修復」（transcription-coupled nucleotide excision repair: TC-NER）と、転写部位の非転写鎖上や非転写部位の DNA 損傷も修復する「ゲノム全体の修復」（global genome nucleotide excision repair: GG-NER）の 2 つの機構が存在する。CS や UV^sS では TC-NER 機構が、XP-C や XP-E では GG-NER がそれぞれ選択的に欠損している。本研究では、XPF の機能解析、及び、UV^sS-A の原因遺伝子のクローニングを行い、NER の分子機構の解明、XP、CS や UV^sS の分子病態の解明を研究目的とした。

B. 研究方法

XPF の生化学的、分子生物学的機能解析を行った。未知の UV^sS-A 原因遺伝子を微小核を用いた染色体導入法や CGH array 法を用いクローニングした。

(倫理面への配慮)

本研究で使用する試料は、既に細胞バンクに登録され、学術論文に発表されている患者由来の皮膚繊維芽細胞であり、個人情報に連結不可能匿名化された状態で研究用に広く一般に利用されている細胞である。従って、これらの試料を研究に使用するにあたっては、インフォームドコンセント、個人情報管理体制などは免除される。

C. 研究結果

(C-1) XPF 蛋白質は細胞分裂に関与し、その異常が XP-F 患者の病因になっている

色素性乾皮症F 群蛋白質 (XPF) は ERCC1 とヘテロ2量体を形成し、構造特異的エンドヌクレアーゼ活性をもち、ヌクレオチド除去修復や DNA 鎖間架橋修復に関与する。一方、XPF や ERCC1 遺伝子に突然変異を持つ患者は色素性乾皮症 (XP-F) の他にコケイン症候群 (XP-F/CS あるいは XFE) を発症する。さらに、Xpf や Ercc1 ノックアウトマウス

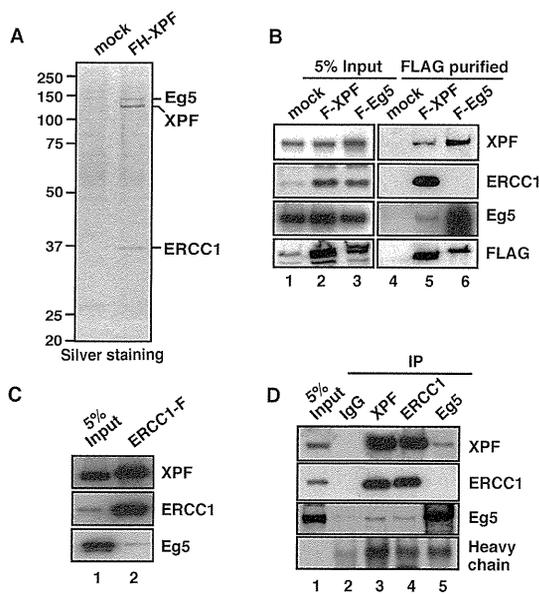


図1 XPF 蛋白質はキネシン蛋白質 Eg5 と結合する (A) FLAG-His tagged XPF を発現する HEK293 細胞の抽出液から抗 FLAG 抗体を用いて XPF タンパク質を affinity purification し、XPF タンパク質を複合体として精製した。XPF 複合体を SDS-PAGE してのち、銀染色を行った。(B) 同様に XPF、Eg5-複合体を精製し、右端に記述した抗体を用いて western blot した。(C) FLAG-His tagged ERCC1 を発現する HEK293 細胞の抽出液から抗 FLAG 抗体を用いて affinity purification し、ERCC1 タンパク質複合体を精製した。その後、右端に記述した抗体を用いて western blot した。(D) HeLa 細胞抽出液を、カラム上端に記述した抗体を用いて免疫沈降し、その後、右端に記述した抗体を用いて western blot した。

は生後 4 週の離乳前に早老症状を呈して死亡する。XPF-ERCC1 複合体は DNA 修復のみならず、多様な機能をもち、その異常が XP-F や XP-F/CS (XFE) 患者が示す様々な病態の原因となっていることが示唆される。我々は XPF 蛋白質がキネシン蛋白質 Eg5 と結合することを見つけた (図 1)。Eg5 は、細胞分裂期において中心体や紡錘体の形成と分離に必須の蛋白質である。免疫蛍光染色所見でも、(図 2)。また、siRNA を用いた XPF のノックダウン細胞は高頻度に細胞分裂の異常、細胞核の形態異常を示した。他方、XPF-ERCC1 複合体が DNA 修復で果たすエンドヌクレアーゼ活性は Eg5 存在下で増強した (図 3)。さらに、XP-F や XP-F/CS 患者細胞では高頻度に細胞分裂の異常、細胞核の形態異常が認められた (図 4)。以上の結果から、XPF は正常な

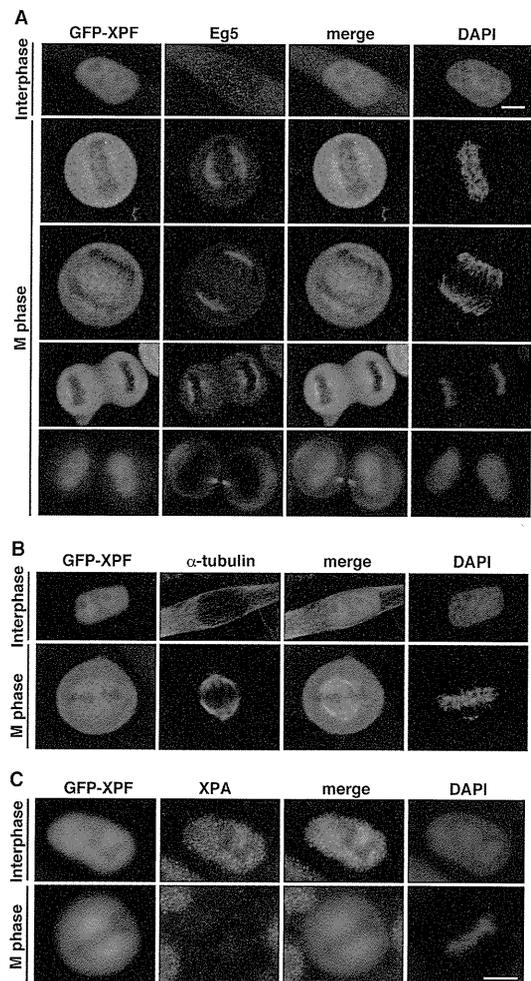


図2 XPF は Eg5 と分裂期で共局在する (A) GFP-XPF を発現する HeLa 細胞を G1/S 期で同調し、その後 S 期へ移行させ、分裂期で観察した。XPF は GFP で検出し、Eg5 は抗 Eg5 抗体を用いた免疫蛍光染色法で検出した。(B) (C) 上記細胞を抗 α -チューブリン抗体、抗 XPA 抗体で染色し、GFP-XPF との共局在の有無を調べた。

染色体分配機構の制御に必須の役割を担っており、XP-F や XFE 患者ではその機構に異常をもつことが示唆された (Li-Jing Tan ら: *Genes to Cells*, 2012 年印刷中)。

(C-2) UV^s-A 群原因遺伝子のクローニングと機能解析

TC-NER 異常を示す UV^s 患者は日光過敏性、皮膚の色素沈着、乾燥を主な臨床症状とするが、CS に認められる身体発育異常、神経症状、早期老化徴候は認められない。現在、UV^s は 3 つの遺伝的相補性群からなることが知られている。我々は日本人 UV^s 患者 UV^s1KO が CSB 遺伝子にホモ接合性の突然変異を持つことを報告し (*Proc Natl Acad Sci USA*, 101, 15410-15415, 2004)、フランス人 UV^s 患者 UV^s1VI は CSA 遺伝子にホモ接合性の突然変異を持つことが報告された (*Proc Natl Acad Sci USA*, 106, 6209-6214, 2009)。今回、原因遺伝子が未知の UV^s-A 群 (Kps3 患者) について、当該原因遺伝子のクローニングを試みた。微小核融合法により

Kps3 細胞へマウス単一染色体移入を行い、紫外線抵抗性を獲得した複数の Kps3 細胞を得た。さらに、微小核にガンマ線を照射することで断片化した染色体を導入した Kps3 細胞からも紫外線抵抗性クローンを得た。各クローンに共通してマウス 5 番染色体が導入されていることをマルチカラー FISH 法と染色体特異的プライマーを用いた PCR 法によって確認した。さらに、比較ゲノムハイブリダイゼーションアレイ (CGH array) 解析から、紫外線抵抗性を獲得した 4 個の独立した Kps3 トランスフェクタントが保持する唯一のマウスゲノム共通領域として、5 番染色体中の 600kb の領域を同定した。この領域には 10 個の遺伝子が含まれる。また、マウス 5 番染色体の移入によって Kps3 細胞の TC-NER が回復することも確認した。当該領域をカバーする BAC クローンを Kps3 細胞に導入したところ、一つの BAC クローンが Kps3 細胞の紫外線感受性や TC-NER を正常化した。この BAC クローンに含まれる遺伝子の cDNA の導入によっても Kps3 細胞は正常化した。しかも、Kps3 細胞はこの遺伝子に nonsense

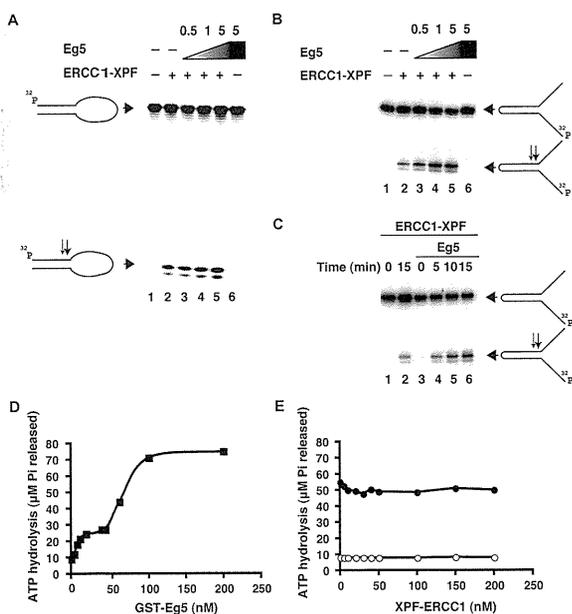


図 3 XPF-ERCC1 複合体と Eg5 の相互作用の機能的解析 (A) XPF-ERCC1 複合体と 5' 末端 [³²P] ラベルの 46mer stem-loop DNA 基質を混合し、Eg5 の存在下、非存在下で、XPF-ERCC1 複合体のエンドヌクレアーゼ活性により切断された 9-、10-mer の反応産物をオートラジオグラフィで検出した。(B) 同様に、5' 末端 [³²P] ラベルの 52mer splayed-arm DNA 基質を用いた場合のエンドヌクレアーゼ活性を測定した。(C) splayed-arm DNA 基質を用いたタイムコース実験。(D) チューブリンを基質にした Eg5 の ATPase 活性の定量。(E) XPF-ERCC1 複合体存在下での Eg5 の ATPase 活性測定。

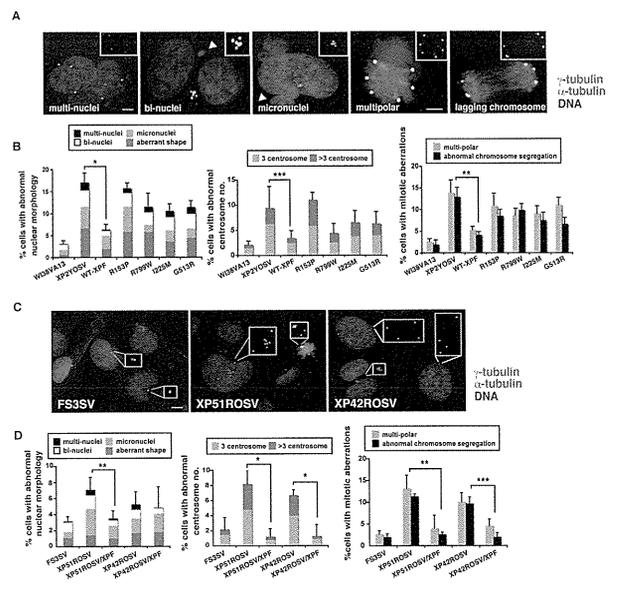


図 4 XP-F 及び XFE 患者細胞における細胞分裂異常と核の形態異常 (A) XP-F 細胞 (XP2YOSV) における核の形態異常、中心体の異常、染色体分配の異常。(B) XP2YOSV 細胞、及び、野生型 XPF cDNA あるいは XP-F、XFE 患者由来の変異 XPF cDNA を発現する XP2YOSV 細胞における核の形態異常、中心体の異常、染色体分配の異常。(C) 正常ヒト細胞 (FS3SV)、XFE 細胞 (XP51ROSV)、XP-F 細胞 (XP42ROSV) における中心体。(D) 親 XP51ROSV 細胞、野生型 XPF cDNA を導入し正常化した XP51ROSV 細胞、親 XP42ROSV 細胞、野生型 XPF cDNA を導入し正常化した XP51ROSV 細胞における核の形態異常と細胞分裂異常。

mutation をホモ接合性に持っていた。このことから、我々は UV^s-A 遺伝子をクローニングできたと確認し、UVSSA 遺伝子と命名した。UVSSA は TC-NER 機構において CSA、CSB、RNA polymerase II と結合すること、CSB の脱ユビキチン化に必須であることを明らかにした (X. Zhang ら：論文投稿中)。

D. 考察

色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum: XP) の原因遺伝子産物の機能解析、紫外線高感受性症候群 A 群 (UV^s-A) 原因遺伝子のクローニング、それらに欠損をもつ患者の分子病態の解析において当初の計画どおり成果をあげることができた。UVSSA の論文を投稿中であり、今年度中に発表できるようにしたい。

E. 結論

XPF の新規機能を明らかにし、XP や CS の病因解明に貢献した。また、TC-NER に関する未知の UV^s-A 群 (Kps3 患者) 原因遺伝子 UVSSA のクローニングを行いその機能解析を行った。

G. 研究発表

(G-1) 論文発表

- 1) Li Jing Tan, Masafumi Saijo, Isao Kuraoka, Takashi Narita and Kiyoji Tanaka. Xeroderma pigmentosum group F protein binds to Eg5 and functions in mitosis: Implication for XP-F and XFE. *Genes to Cells*, in press
- 2) Leizhen Wei, Li Lan, Akira Yasui, Kiyoji Tanaka, Masafumi Saijo, Ayako Matsuzawa, Risa Kashiwagi, Emiko Maseki, Yiheng Hu, Jeffrey Parvin, Chikashi Ishioka, and Natsuko Chiba. BRCA1 contributes to transcription-coupled repair of DNA damage through polyubiquitination and degradation of Cockayne syndrome B protein. *Cancer Science*, 102, 1840-1847, 2011.
- 3) Ashild K. Andreassen, Inger-Lise Steffensen, Ann-Karin Olsen, Kiyoji Tanaka, Richard Wiger. Spermatogenesis not impaired in a nucleotide excision repair-deficient Min mouse model with or without neonatal mutagen. *International Journal of Andrology*, 32, 541-549, 2011.
- 4) Masafumi Saijo, Arato Takedachi, and Kiyoji Tanaka. Nucleotide excision repair by mutant xeroderma pigmentosum group A (XPA) proteins with

deficiency in interaction with RPA. *Journal of Biological Chemistry*, 286, 5476-5483, 2011

- 5) Katsuyoshi Horibata, Masafumi Saijo, Mui Nee Bay, Li Lan, Isao Kuraoka, Philip J. Brooks, Masamitsu Honma, Takehiko Nohmi, Akira Yasui and Kiyoji Tanaka. Mutant Cockayne syndrome group B protein inhibits repair of DNA topoisomerase I-DNA covalent complex. *Genes to Cells*, 16, 101-114, 2011.

(G-2) 学会発表

- 1) Kiyoji Tanaka. Early Bird Seminar: "Molecular mechanism and inherited disorders of nucleotide excision repair". 第 34 回日本分子生物学会年会、横浜、平成 23 年 12 月 15 日
- 2) Kiyoji Tanaka. Keynote Lecture: "Molecular Mechanism and Human Inherited Disease of Nucleotide Excision Repair" in the Conference "Responses to DNA damage: from molecular mechanism to human disease", Egmond aan Zee, The Netherlands, April 3-8, 2011.
- 3) Masafumi Saijo, Xue Zhang, Katsuyoshi Horibata, Chie Ishigami, Akiko Ukai, Shin-ichiro Kanno, Hidetoshi Tahara, Edward G. Neilan, Masamitsu Honma, Takehiko Nohmi, Akira Yasui, and Kiyoji Tanaka. "UVSSA and USP7 cooperate to stabilize CSB in transcription-coupled DNA repair" 第 34 回日本分子生物学会年会、横浜、平成 23 年 12 月 15 日
- 4) Xue Zhang, Katsuyoshi Horibata, Masafumi Saijo, Chie Ishigami, Akiko Ukai, Shin-ichiro Kanno, Hidetoshi Tahara, Edward G. Neilan, Masamitsu Honma, Takehiko Nohmi, Akira Yasui, and Kiyoji Tanaka. "Molecular cloning of the gene for UV-sensitive syndrome with deficiencies in transcription-coupled DNA repair" 第 34 回日本分子生物学会年会、横浜、平成 23 年 12 月 15 日
- 5) Hironobu Nakane, Kiyoji Tanaka, Toshio Kameie, Sumie Inaga, Tomonori Naguro. 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年会、横浜、平成 23 年 12 月 13 日
- 6) 関 峰秋、田中亀代次。「ヒト MMS19 のクロスリンク修復と FeS アセンブリーにおける機能」。第 40 回日本環境変異原学会、東京、平

成 23 年 11 月 21 日

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

(H-1) 特許取得

なし

(H-2) 実用新案登録

該当なし

(H-3) その他

該当なし

色素性乾皮症の神経障害に関する臨床神経病理学的研究

研究分担者 林 雅晴 財団法人東京都医学総合研究所脳発達・神経再生

研究要旨

A 群色素性乾皮症（XP-A）6 剖検例の視床下部で Calbindin-D28K（CD）と Tyrosine hydroxylase（TH）に対する免疫組織化学染色を行い、対照脳と同様に室傍核、視索上核、腹内側核を同定した。また、松果体より分泌され概日リズム形成に関与するメラトニンの尿中代謝物（6-Sulphatoxymelatonin, aMT6s）を定量し、XP 患者の aMT6s 値は対照より低値を示したが、統計的に有意ではなかった。メラトニンには抗酸化作用を有しており、XP-A 患者でのメラトニン、受容体アゴニスト使用が考慮された。

A. 研究目的

A 群色素性乾皮症（XP-A）に関して、剖検脳 Meynert 核でのアセチルコリン神経脱落を報告した（Brain Dev in press）。一方、XP-A では Meynert 核近傍の視床下部病変に関する病理学的解析は十分行われてこなかった。そこで、剖検例の視床下部を免疫組織学的に解析した。同時に松果体より分泌され概日リズム形成に関与するメラトニンの主たる代謝物（6-Sulphatoxymelatonin, aMT6s）の尿中排泄を検討した。

B. 研究方法

- 死亡時 18～26 歳の XP-A6 剖検例の視床下部連続切片で Calbindin-D28K（CD）と Tyrosine hydroxylase（TH）に対する免疫組織化学染色を行った。
- 対照 25 例（11 カ月～66 歳）、XP-A 患者 8 例（8～30 歳）、疾患対照としてのコケイン症候群（CS）患者 6 例（8～30 歳）から、保護者または被験者本人の書面による同意を得て早朝尿を採取した。GenWay Biotech 社製 ELISA キットで aMT6s 値を測定し、creatinine 補正值（ng/mg creatinine）による評価を行った。

（倫理面への配慮）

本研究計画は東京都神経研と協力医療機関の倫理委員会から承認されている。生体資料・剖検脳の収集ならびに患者の治療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

- XP-A 剖検脳において、対照脳と同様に、CD 染色により室傍核、TH 染色により室傍核、視索上核、腹内側核がそれぞれ描出された（表 1）。
- 対照の aMT6s 値は幼児期に高値を示し、思春期で成人レベルとなり、以後、年齢に応じて低下した。年齢をそろえた 8 対照（8～32 歳）との平均値の検定では、XP 患者の平均 aMT6s 値 24.5 は対照のそれ（41.3）より低い値を示したが、統計的に有意ではなかった（Mann-Whitney 検定 $p <$

表 1 視床下部の免疫組織化学染色のまとめ

		Calbindin-D28K		Tyrosine hydroxylase		
	Nucleus of Meynert	Paraventricularis	Paraventricularis	Supra-opticus	Ventromedial	
19y/Male	2-	N	N	N	N	
19y/Male	2-	(n/A)	(n/A)	(n/A)	N	
21y/Male	N	N	N	(n/A)	N	
23y/Female	2-	(n/A)	(n/A)	N	(n/A)	
24y/Female	1-	N	N	N	N	
26y/Female	1-	(n/A)	(n/A)	N	N	

0.05)。一方、概日リズム異常を XP-A より高頻度に呈する CS 患者の平均 aMT6s 値 19.2 は対照より有意に低下していた (図 1)。

D. 考察

XP-A 患者では CS 患者に比べ、概日リズム障害や内分泌障害の発生頻度が低いと推察され、今回、視床下部での TH・CD 表出が比較的保たれていたこととよく合致する。一方、早朝尿でのメラトニン代謝物は、CS 患者に比べ軽度ではあったが、低下していた。XP-A の神経変性には酸化ストレスが関与し、一方、メラトニンが抗酸化作用を有することもよく知られている。XP-A 患者において、メラトニン、メラトニン受容体アゴニスト (ラメルテオン) の使用が考慮された。

E. 結論

XP-A 患者の視床下部垂核の機能マーカー発現は保たれていること、松果体から分泌され概日リズム形成に関与するメラトニンの分泌が XP 患者では低下している可能性が明らかになった。

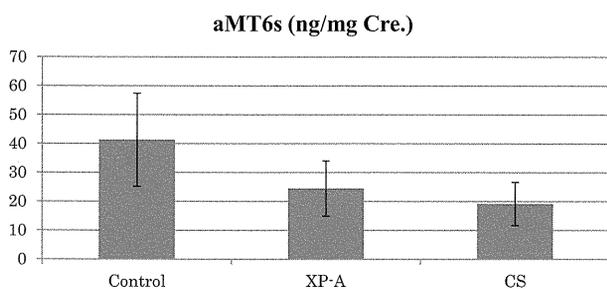


図 1 尿 6-Sulphatoxymelatonin (aMT6s) 排泄

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hayashi M, et al. Lesions of cortical GABAergic interneurons and acetylcholine neurons in xeroderma pigmentosum group A. *Brain Dev* (Epub) DOI: 10.1016/j.braindev.2011.06.015
2. Hayashi M, et al. Brain vascular changes in Cockayne syndrome. *Neuropathology* (Epub) DOI:10.1111/j.1440-1789.2011.01241.x.
3. Hayashi M, et al. Oxidative stress in developmental brain disorders. In: Ahmad S, ed. *Neurodegenerative diseases*. Austin: Landes Bioscience. 2011, pp278-290.
4. 林 雅晴. 色素性乾皮症の神経病変. *Visual Dermatology* 2011; 10(5):456-458.

2. 学会発表

1. 林 雅晴. こどもの脳の発達における環境因子と神経伝達物質代謝の影響. 東京都医学研 究所記念シンポジウム、東京 (2011, 7.20)
2. 林 雅晴、宮田理英、田沼直之. 毛細血管拡張性運動失調症の小脳皮質病変. 第 52 回日本神経病理学会総会学術研究会、京都 (2011, 6.4)
3. 林 雅晴、宮田理英、田沼直之. 色素性乾皮症におけるモノアミン神経病変に関する解析. 第 53 回日本小児神経学会総会、横浜 (2011, 5.28)

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。

神経皮膚症候群に関する研究

研究分担者 森脇真一 大阪医科大学皮膚科教授

研究要旨

演者は平成10年より色素性乾皮症（xeroderma pigmentosum ; XP）、コケイン症候群（Cockayne syndrome ; CS）など紫外線性 DNA 損傷の修復障害による遺伝性光線過敏症の分子細胞診断に携わってきた。今回、この診断システムを維持する過程で非常に稀な病型である XPG 群を新たに3例経験した。いずれも相補性師試験にて XPG 群と診断した。XP3HM では *ERCC5 (XPG) gene* の exon 2 に c.194T > C ホモ変異 (p.L65P) が確認された。他症例は現在検索中である。XPG 群は本邦でもきわめて稀な病型であるがその表現型には人種差があるものと推測される。

A. 研究目的

研究分担者は12年以上にわたり色素性乾皮症 (XP) の分子細胞診断を行っている。これまで解析した症例数は計398例、XP確定診断例も126例となった。今回、その診断過程の中で経験した、XPG群（本邦でもきわめて稀なXP病型）3例に注目し、過去の報告例を検索してXPGにおける表現型・遺伝型関連を検討した。

B. 研究方法

症例1 (XP3HM) : 40歳、男性

両親はいとこ婚。小児期から日光過敏を自覚していた。顔面を含む露光部皮膚の色素異常が徐々に進行し40歳で下口唇に扁平上皮癌が生じた。神経学的異常はない。

症例2 (XP52HM) : 60歳、男性

小児期から日光過敏を自覚していた。日光露光部皮膚に色素異常あり。54歳から左肩に徐々に増大する色素斑に気づき、60歳時に悪性黒色腫と診断された。神経学的異常はない。

症例3 (XP80HM) : 9ヶ月女児

生後2ヶ月より少しでも日光に当たると露光部皮膚に水疱を伴う浮腫性紅斑が出現し、このエピソードを繰り返すうちに顔面、手背に小色素斑、脱色素斑が生じるようになった。

生後12ヶ月の現在これまで発育・発達の遅れはない。いずれも相補性師試験にてXPG群と診断した。

（倫理面への配慮）

今回の研究は大阪医科大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査会において承認されている。研究はその審査会の基準を遵守し、患者あるいは家族の文書による同意を得た後に施行し、その場合検体は連結可能コード化して取り扱った。個人情報には十分配慮し、検体の保管も厳重に行った。またコントロール細胞など一部の細胞はすでに論文などで発表されており本研究者が長年連結不可能化して保持しているものである。

C. 研究結果

XP3HMでは *ERCC5 (XPG) gene* の exon 2 に c.194T > C ホモ変異 (p.L65P) が確認された。この変異は下等生物からヒトまで保存されている PIN domain 内に見られ (図1)、患者 phenotype に関する変化である (図2)。他症例は現在検索中である。本邦XPG群患者は今回提示した自験例3例を含む4例のみである。成人例の3例 (XP31KO、XP3HM、XP52HM) ではいずれも色素異常、若年齢での皮膚がんの発生はみるがXP神経症状の出現は

SIENPHLLTLFHRRLCKLLFFRIRPIFVFDGD 79 homo sapiens
 PAENAHLLGFFWRICKLLQHRICKPIFVFDGN 119 polysphondylium pallidum PN500
 PQGAHLLGFFKRLCKLLYYGILPVIVFDGT 79 cryptosporidium hominis
 GKNAHLVGGFFRIRLCKLLFLGIKPVFVFDGV 76 yarrowia lipolytica
 AVKNSHITGFFRIRCKLLYFGIRPVFVFDGG 79 saccharomyces cerevisiae S288C
 EFKNIHLVGIKRLCRLLSLGIKPVFVFDGK 80 tetrahymena thermophila SB210
 TPLGAHLLGFFKRLCKLLYYGIYPVIVFDGI 79 cryptosporidium muris RN66;
 RRGNDIYGVFFLRICYLLEKRIYPIFVFDGR 76 babesia bovis;
 RRGFDIYAIFFLKICYLLETRIRPIFVFDGI 76 babesia sp. WA1
 NFENVHLIGILKRIMFLLENGIKPVFVFDGP 78 paramecium tetraurelia

図1 (Modified from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cddsrv.cgi>, cd09868:PIN-XPG)

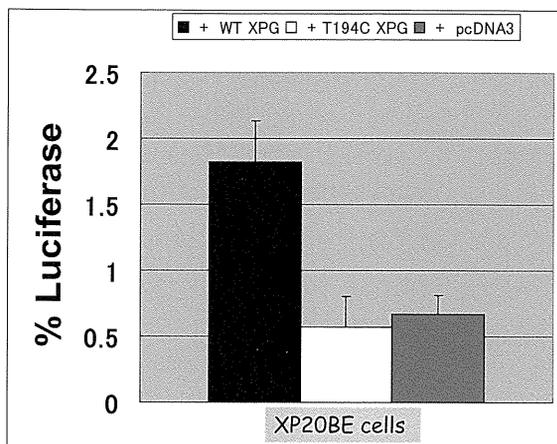


図2 (site-directed mutagenesis in XP20BE)
 XP20BE は既知の XPG 細胞
 米国 NIH の Dr.Kraemer より供与

ない。自験3例目の XPG 症例はまだ1歳であるがこれまで発育・発達に遅れはみられていない。一方海外XPG 症例では過去12例の報告例中7例は XP/CS complex、2例は XP neurological type、3例が XP cutaneous type である。従って XPG 群での表現型には人種差があるものと思われる。

D. 健康危険情報

なし

E. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Moriwaki S, Takigawa M, Igarashi N, Nagai Y, Amano H, Ishikawa O, Khan SG, Kraemer KH Xeroderma pigmentosum complementation group G patient with a novel homozygous mutation and no neurological abnormalities, *Exp Dermatol*, in press.
- (2) Moriwaki S, Takahashi Y, Shimizu H, Inoue M, Sugiyama Y, Inoue S Decreased repair of singlet oxygen-induced DNA damage in xeroderma pig-

mentosum group A cells determined by plasmid host cell reactivation *J Derm Sci*, submitted.

- (3) Prenatal diagnosis of xeroderma pigmentosum group A in Japan. Moriwaki S, Yamashita Y, Nakamura S, Fujita D, Kohyama J, Takigawa M, Ohmichi H *J Dermatol*, in press.
- (4) 5-Aminolevulinic acid (ALA) - mediated photodynamic therapy to superficial malignant skin tumors using Super Lizer™. Hirata Y, Koga S, Fukui N, Yu A, Koshida S, Kosaka Y, Moriwaki S *J Dermatol* 38:748-754, (2011)
- (5) Cancer and neurologic degeneration in xeroderma pigmentosum : long term follow-up characterizes the role of DNA repair. Bradford PT, Goldstein AM, Tamura D, Khan SG, Ueda T, Boyle J, Oh K-S, Imoto K, Inui H, Moriwaki S, Emmert S, Pike KM, Raziuddin A, Plona T, DiGiovanna JJ, Tucker MA, Kraemer *J Med Genet* 48:168-176, (2011)
- (6) Identification of autoantibodies for α and γ enolase in serum from a patient with melanoma. Hiura Y, Nakanishi T, Tanioka M, Takubo T, Moriwaki S *Jpn Clin Med* 2:35-417, (2011)

(邦文)

- (1) 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）印刷中
- (2) 森脇真一 色素性乾皮症 皮膚疾患 最新の治療 2011-2012 p116 2011 南江堂 印刷中
- (3) 森脇真一 紫外線を用いた皮膚病治療 皮膚科セミナー 日本皮膚科学会雑誌 印刷中
- (4) 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 印刷中
- (5) 森脇真一 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
- (6) 森脇真一 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 121:2745-2747, 2011
 - (7) 森脇真一 遺伝性早老症の病態、診断と治療 難病と在宅ケア 印刷中
 - (8) 森脇真一 DNA 修復機構と色素性乾皮症 Monthly Book Derma (全日本病院出版会) 印刷中
 - (9) 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) p94-97, 2011
 - (10) 森脇真一 色素性乾皮症の遺伝子診断 Visual Dermatology 10:448-451, 2011
 - (11) 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) p23 2011
 - (12) 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) p40 2011
 - (13) 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 (改訂 12 版) p415-425 医学書院 2011

2. 学会発表

- (1) 森脇真一、櫛原維華 LED (light emitting diode) による皮膚アンチエイジング効果の実験的検討 UVABCclub 2011 平成 23 年 3 月 4 日 (熱海)
- (2) 森脇真一 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 平成 23 年 3 月 11 日 (京都)
- (3) 森脇真一 光線過敏症の診断と患者ケア 奈良県臨床皮膚科医会 平成 23 年 5 月 14 日 (奈良)
- (4) Moriwaki S, Ichihara Y, Kotani M, Fujita A EFFECTS OF RED AND BLUE LIGHT EMITTING DIODES (LED) ON THE CULTURED HUMAN SKIN The 22nd World Congress of Dermatology May 25, 2011 (Seoul, Korea)
- (5) 浦川優作、庵前美智子、吉田ひとみ、巽 純子、田村和朗、藤川和男、森脇真一 生後 1 週的新生児を発端者とする色素失調症家系の遺伝カウンセリング 遺伝医学合同学術集会 2011 平成 23 年 6 月 16 日 (京都)
- (6) 森脇真一 遺伝性光線過敏症の患者家族会活動への関わり 第 100 回日本皮膚科学会静岡地方会 平成 23 年 6 月 19 日 (浜松)
- (7) 松永 司、森脇真一 FF-CBIA 法を用いたヌクレオチド除去修復能の個人差解析と色素性乾皮症診断の試み 第 33 回日本光医学光生物学会 平成 23 年 7 月 22 日 (大阪)
- (8) 森脇真一 色素性乾皮症とコケイン症候群 from molecule to patient 特別講演 第 33 回日本光医学光生物学会 平成 23 年 7 月 23 日 (大阪)
- (9) 大津詩子、藤原美智子、別所 優、森脇真一、石井健太郎 光老化皮膚に対する Intense Pulsed Light (IPL) 治療の照射波長による改善効果の違いの検討 第 29 回日本美容皮膚科学会総会 平成 23 年 9 月 10 日 (下関)
- (10) 森脇真一 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「神経皮膚症候群に関する調査研究」班 平成 23 年 12 月 2 日 (東京)

F. 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

1. 色素性乾皮症の診療ガイドライン作成に向けた 患者調査の解析

2. 色素性乾皮症 A 群細胞における遊走異常と神経症状発症との 関連について

研究分担者 錦織千佳子 神戸大学大学院医学研究科皮膚科学教授

研究要旨

①平成 19-22 年に実施した色素性乾皮症（XP）の調査票を集計し、XP 各相補性群の特長、診療上の注意点などの観点から解析した結果をもとに、XP の診断指針、診療指針（案）を策定した。② shRNAi を用いて XPA をノックダウンすることにより、XPA が神経前駆細胞から後分裂細胞への遊走に重要な役割を果たしていることが示唆された。

A. 研究目的

①平成 19 年度～21 年度に実施した色素性乾皮症（xeroderma pigmentosum: XP）の調査をもとに XP 診療に関わる医師の診療の手引となるよう、診療ガイドラインの策定を目指した。

②XP における神経症状の発症機序を解明する目的で XPA タンパクの神経細胞における機能を個体レベルで子宮内エレクトロポレーション法を用いて研究し、XPA をノックダウンした細胞では神経細胞が中間帯にとどまっている事を示した。本年はその機序が XP-A 細胞の遊走異常に基づく可能性について検討した。

B. 研究方法

①XP の現況把握：平成 19 年から平成 21 年にかけて、全国の皮膚科研修指定病院皮膚科研修指定病院 609 施設を対象に行なった色素性乾皮症患者の二次調査を解析を進め、診療ガイドライン（案）を作成した。

②マウス *xpa* 遺伝子をターゲットとした shRNAi ベクターを EGFP 遺伝子とともに導入することにより *xpa* ノックダウン神経細胞を可視化し、表現型の解析を行なった。また、XP-A 患者細胞を用いてスクラッチアッセイにより、遊走能を正常と比較し

た。

（倫理面への配慮）

二次調査を行なう方法については、連結可能匿名化を行なって実施する手法をとっており、神戸大学医学研究科医学倫理委員会に審査を申請し、承認済みである。遺伝子検索については神戸大学倫理委員会の承認を得たうえで、患者の同意を文書にて取得したのちに行った。

C. 研究結果

①日本の XP 患者の現況：表 1 は XP における皮膚がんの初発年齢について以前のデータと比較したものである。A 群患者への遮光指導が徹底し、低年齢層の A 群における皮膚癌発症は減っているものの、10 歳を過ぎてから皮膚癌を発症している A 群症例が少なからずいる。早期診断とその後の遮光の重要性を示すデータである。

一方、神経内科医あるいは小児神経科の医師による詳細な神経学的検査が全て行なわれた症例 23 例（1 歳 6 ヶ月から 27 歳）についてまとめたのが表 2 である。1 歳から 2 歳で知能発育遅延を認めている。特に言語発達の遅れとして現れる事が多いようである、一方で、眼振・眼球の動きの異常などの眼科的

表1 皮膚悪性腫瘍の平均初発年齢

相補性群	今回の患者調査(2007-2010年)			1988年の報告*)						
	患者数	罹患者数合計	平均初発年齢(歳)			患者数	罹患者数合計	平均初発年齢(歳)		
			BCC	SCC	MM			BCC	SCC	MM
A	86	23	13.2	19.8	20.5	121	41	9.3	8.2	7.5
C	1	0	-	-	-	8	7	14.0	7.8	14.0
D	9	7	39.8	53.0	-	6	4	44.0	42.5	-
F	3	1	42.0	-	-	12	3	45.4	64	-
V	32	24	44.7	55.9	54.2	87	40	41.5	42.0	46.8

BCC:基底細胞癌、SCC:有棘細胞癌、MM:悪性黒色腫

*)佐藤吉昭、錦織千佳子 皮膚病診療:10(1);22-27,1988

表2 A群患者の神経症状

年齢	性	() : 家族アンケートによる初発年齢(歳)												
		精神発達遅滞	聴力障害	嚥下障害	筋力低下	腱反射	病的反射	筋緊張	足変形	小脳失調	不随意運動	感覚障害	歩行	
2	M	-	-	-	-	-	-	正常	-	-	-	-	自立	
2	M	+	-	-	-	→/↓	-	正常	-	-	-	-	自立	
2	M	+	-	-	-	→/↓	-	正常	-	+	-	-	自立	
4	F	+	-	+	-	-	-	正常	-	-	-	-	自立	
4	M	+	-	-	-	↓	-	正常	-	+	-	-	自立	
6	M	+	+	+	+	-	-	正常	-	-	-	-	自立	
6	M	+	-	-	-	→/↓	+	-	-	+	-	-	自立	
7	M	+	+(4)	-	-	↓	+	-	-	+	-	-	自立	
7	F	+	+	+	+	→/↓	+	正常	-	-	-	-	自立	
8	F	+	+	+	+	-	-	正常	-	-	-	-	自立	
8	F	+	+(6)	-	-	↓	+	-	-	-	-	-	自立	
8	F	+	+	+	+	-	-	低下	-	+	-	-	自立	
9	M	+	+	+	+	→	-	正常	-	-	-	-	自立	
10	F	+	-	-	-	↓	↓	+	-	-	-	-	自立	
14	M	+	+	+	+	↓	↓	+	-	+	-	+	車椅子	
16	M	+	+	+	+	↓	↓	+	-	-	-	-	車椅子	
18	M	+	+	+	+	↓	↓	-	-	-	+	-	支援	
19	M	+	+(5)	+(15)	+	↓	↓	+	強剛	+	-	+	車椅子	
19	M	+	+	+	+	↓	↓	+	痙直	+	-	-	車椅子	
21	F	+	+	+	+	↓	↓	-	正常	-	-	-	車椅子	
26	M	+	+	+	+	↓	↓	-	痙直	+	+	+	寝たきり	
26	F	+	+	+	+	↓	↓	-	痙直	+	+	+	寝たきり	
27	M	+	+	+	+	↓	↓	+	痙直 強剛	+	+	-	車椅子	

表3 患者アンケート調査

	有(最小年齢)	有(最高年齢)	無(最高年齢)
夜中に息が詰まる	18	20	22
食物でむせる	15	19	
誤嚥性肺炎	19	24	
胃ろうの造設	17	24	44
気管切開	17	24	44
喉頭気管分離手術	23		

どのくらいの時期に介入を行うかの標準的な方針が望まれている。

所見は全例で見られなかった。聴力低下は6歳くらいから見られている。聴力障害はXPの神経症状のうちでも比較的早く始まるので、今後はABRで解析する必要があるであろう。腱反射の低下、病的反射の出現は略全例で見られていた。筋緊張、筋力低下、不随意運動の出現は8歳から見られている。小脳失調も比較的低位年齢から見られた。1歳半で不安定歩行が見られた例がある一方で10歳で小脳失調が見られていない例もあった。また、年齢が進むと感覚障害も見られる事が明らかとなった。歩行困難、歩行の不安定性が下肢の感覚障害も一因となっ

ている可能性がある。

患者に対してアンケート調査の結果(表3)では、15歳頃から食事中にむせたりする事が多くなり、17歳から24歳の間にPEGの造設が行なわれている。無呼吸発作が増えてくるのが10代後半でそれに伴い17歳から24歳で気管切開・喉頭気管分離手術が行なわれている。誤嚥性肺炎の発症をきっかけに胃瘻造設と気管切開/喉頭気管分離手術が同時に行なわれている。

これらの今回の患者調査の解析を踏まえて、XPの診療に携わる医療従事者の診療の手引きとなるよう診療指針(案)を作成した(図)。

②胎生期14日目にRNAiベクターを導入し、その3日後の大脳組織切片において、GFP陽性細胞を対照群と比較検討したところ、対照では、皮質の表面に到達しているのに比して、*xpa*をノックダウンした個体では、ほとんどのGFP陽性細胞が皮質板の脳室側、特に中間帯(Intermediate Zone: IZ)に留まっているのが認められた。これらのIZに留まっている*xpa*ノックダウン細胞のほとんどすべてがKi-67陽性で、リン酸化ヒストンH3陽性であった。*xpa*ノックダウン細胞は、IZに行く過程で後分裂細胞になっていないことを示す。さらにBrdUラベルした後の*xpa*ノックダウン細胞はBrdU陰性細胞数がコントロールレベルであることより、分裂頻度には差はなく、後分裂細胞に移行する前に細胞周期が停止を起こしていることが示唆された。これらの減少が*xpa*ノックダウンによる遊走異常に基づくという仮説のもと、XP-A患者由来の初代培養線維芽細胞を用いて、スクラッチアッセイにより細胞の移動度を検討した。単層培養の皮膚線維芽細胞でスクラッチしてから3日後の細胞の移動を正常とで比較したところ、XP-A細胞では細胞の遊走が明らかに落ちていた。

D.E. 考察と結論

①以前のXPの統計と比較すると、A群の患者の寿命が延びているだけに、患者の能力に応じた適切な生活指導が必要である。XPの認知度は以前と比べると高まっているが、未だに1歳を過ぎてから診断される症例も多い。確定診断後遮光が徹底されるので、診断される時期によって皮膚癌の発症率が大きく異なる事を考えると、どこに住居しても的確な診断が迅速になされる必要を感じる。特にA群患者にとって生後1年から2年の間の日光曝露が生涯の皮膚癌発症に大きく関わることを、そして、10代の

色素性乾皮症 (XP) の診断指針と診療指針 (案)

- 1) **原因遺伝子**: 紫外線により生じる DNA 損傷の修復に欠損のある常染色体劣性遺伝性疾患で、A-G 群 (ヌクレオチド除去修復欠損型) とバリエーション型 (損傷乗り越え合成欠損型) の 8 つの相補性群が知られている。
- 2) **疫学**: 日本での頻度は 22,000 人に 1 人。日本人 XP 患者の 50% は A 群で創始者効果が見られる。約 2.5% がバリエーション型であり、海外の分布とはかなり異なる。

3) 臨床症状

50%以上の患者で強い日焼けの反応が見られる。100%の患者で 10 歳までに露光部に限局した色素斑と多形皮膚萎縮に気づかれる。遮光が適切に行われなければ、幼児期から皮膚癌が生じる。生じる皮膚癌は XP 以外の患者と同様、基底細胞癌 (BCC)、有棘細胞癌 (SCC)、悪性黒色腫 (MM)が多い。XP でみられる色素斑は、通常の雀卵斑が見られる部位を超えて、耳介、下顎、頸部、V-area にも生じ、色調が不均一で不整形の大小異なる色素斑が混在する。

A・B・D・(F)・G 群では進行性で多彩な神経症状を伴う。重症型である A 群では、歩行開始から軽度の遅れがみられ、幼児期から歩行が不安定性、言語発達の遅れがあり、就学期から聴力低下が出現、学童期後半には知的障害が進行する。筋緊張異常による手足の変形拘縮がみられ、腱反射は低下する。思春期には全身の筋力低下と失調のため歩行不能となる。嚥下障害が顕著となり誤嚥性肺炎を頻発する。頭部 MRI では年齢とともに大脳、脳幹、小脳の全てが進行性に萎縮する。末梢神経伝導検査においても運動神経、感覚神経ともに活動電位、伝導速度ともに低下が進行する。

4) 診断の手引き

- a) 若年での光老化徴候: 全ての患者において、露光部に限局した特徴的な色素斑、皮膚萎縮、毛細血管拡張、皮膚がんなどの光老化の徴候が若年で出現する。
- b) 急性の光線過敏症状: 短時間の日光暴露により異常に強い日焼けがみられ、紅斑のピークの遅れがみられることが多い。最少紅斑量 (minimum erythema dose: MED) は XP-A、B、D、F、G で低下するが、XP-C、E、V では正常でのことも多い。
- c) XP のヌクレオチド除去修復群では患者線維芽細胞を用いた、紫外線照射後の不定期 DNA 合成能、紫外線致死感受性試験で、修復能が低下が見られる。
- d) XP-V 型では修復能テストは正常である事が多い。
- e) 上記 a) から d) で XP を疑った場合には各相補性群 cDNA による修復能の回復、各相補性群遺伝子産物の検出により相補性群を決定した上で、遺伝子診断を行なう。

5) 診療指針

初期症状は光線過敏症として現われるが、神経症状が生じる症例では進行性の神経症状に対して、神経内科、耳鼻科、整形外科、リハビリテーション科の各診療科の連携を含む生活指導重要となる。一方、軽症型の成人発症例では、幼少時の紫外線防御が不完全であったことより、皮膚癌が多発するので皮膚癌の早期発見が重要となる。

a) 日常の遮光対策

遮光はサンスクリーン塗布と遮光服など、複数の手段を組み合わせる。日照時間帯の戸外活動は原則禁止し、外出時には、つば広の帽子、長袖、長ズボンを着用し、露出部にはサンスクリーンを塗布する。サンスクリーンは SPF 30 以上のものを用い、2 時間置きに塗り直す。部屋、車の窓ガラスに遮光フィルムを貼る。日照時の外出が必要な学童に合っては、遮光フィルムで作った遮光ガウンの着用するのが有効である。光防御効果のあるリップクリームを用いて、口唇の遮光。横からの光もカットできるような紫外線防御効果のある眼鏡をかける。

b) 皮膚と眼科の定期検診。

皮膚科は皮膚がんが生じる迄は年に 1-2 回、皮膚がんが生じ始めてからは年に 3-6 回、眼科は年に 1 回

c) 皮膚がんの治療

早期発見早期治療が原則。BCC は臨床像、ダーモスコピーの所見を参考にしながら初期に生検を兼ねて切除してしまうのが現実的かつ確実な治療法である。

光線角化症はベセルナクリーム、5FU 軟膏塗布、得液体窒素治療も有用である。

悪性黒色腫は切除が原則。

d) 神経学的診療

幼小児期からの易転倒傾向や発達遅滞、難聴の出現などに対して年 1 回程度の定期的な小児科・神経内科・整形外科での検診と耳鼻科での聴力検査が勧められる。残存する神経機能の維持のための診療とリハビリテーションなどの最適化が求められる。

10 代の後半には、四肢体幹の高度な運動障害のため日常生活への介護支援が求められる。夜間の無呼吸や誤嚥性肺炎を繰り返す場合は、18 歳から 22 歳あたりをめどに気管切開や胃瘻造設が必要となる。

終わり近くなって生じた皮膚癌治療のために入院する際に臥床のために神経症状が急速に衰える事を考えると、皮膚癌の予防が神経症状との関連においても重要である事を再認識させられた。

神経症状については変異の部位によって異なる事も知られているので、今後の解析には遺伝子変異も

加味した解析が必要かと思われる。

②XP-A 細胞ではスクラッチアッセイにおいて細胞の遊走が明らかに落ちていたことから、XP の神経症状の原因として胎生期における神経細胞の遊走異常である可能性が示唆された。XP-A は転写と共役したヌクレオチド除去修復の異常であるとされている

ることから、この遊走の異常が転写の異常によるのかを、検討して行き、XPの神経症状の発症機序を明らかにし、治療への可能性を探りたい。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ueda T, Kanda F, Aoyama N, Fujii M, Nishigori C, Toda T : Neuroimaging features of xeroderma pigmentosum group A. *Brain and Behavior*, in press
2. Nakano E, Kunisada M, Ikeda T, Kikusawa A, Hirose M, Shibuya Y, Komori T, Nishigori C : Successful treatment with fluoropyrimidine TS-1 of human papillomavirus type 16-detected multiple oral bowenoid papulosis in an elderly woman. *Eur J Dermatol*, in press
3. Ibusuki C, Kunisada M, Ogura K, Ikeda T, Oda Y, Nishigori C : A case of human papilloma virus type 16-associated verruca vulgaris on the digits with multiple cancerous anogenital lesions. *Eur J Dermatol*, in press
4. Sakaguchi M, Oka M, Iwasaki T, Fukami Y, Nishigori C : Role and regulation of STAT3 phosphorylation at Ser727 in melanocytes and melanoma cells. *J Invest Dermatol*, in press
5. 錦織千佳子 : 光線過敏症. 今日の小児治療指針 15 版、大関武彦、古川 漸、横田俊一郎、水口雅編、医学書院、東京、印刷中
6. 錦織千佳子 : 光線テスト. 今日の皮膚疾患治療指針第 4 版、塩原哲夫、宮地良樹、渡辺晋一、佐藤伸一編、医学書院、東京、印刷中
7. 錦織千佳子 : 光線過敏症. 今日の皮膚疾患治療指針第 4 版、塩原哲夫、宮地良樹、渡辺晋一、佐藤伸一編、医学書院、東京、印刷中
8. 錦織千佳子 : 光線過敏症の分類. 今日の皮膚疾患治療指針第 4 版、塩原哲夫、宮地良樹、渡辺晋一、佐藤伸一編、医学書院、東京、印刷中
9. 錦織千佳子 : 紫外線発癌の機序とその予防. 日本医事新報、印刷中
10. 竹内聖二、錦織千佳子 : 先天性光線過敏症の概説と最新の知見. *MB Derma*, 印刷中
11. 錦織千佳子 : 色素性乾皮症 (XP). 日本皮膚科学会認定皮膚科専門医研修講習会テキスト 必須B コース. 2012.
12. Masuoka E, Bito T, Shimizu H, Nishigori C : Dysfunction of melanocytes in photoleukomelanderma following photosensitivity caused by hydrochlorothiazide. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* : 27(6) : 328-330, 2011.
13. Kunisada M, Yogianti F, Sakumi K, Ono R, Nakabeppu Y, Nishigori C : Increased Expression of Versican in the Inflammatory Response to UVB- and Reactive Oxygen Species-Induced Skin Tumorigenesis. *Am J Pathol* : 179(6) : 3056-3065, 2011.
14. Matsumoto R, Bito T, Washio K, Ikeda T, Oka M, Manabe T, Nishigori C : Primary cutaneous small cell carcinoma of the vulva arising from squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol* : 165(5) : 1147-1148, 2011.
15. Kunisada M, Nagai H, Shimizu H, Yogianti F, Nishiyama S, Nishigori C : Double-headed nodules on the abdomen. Myxoid dermatofibrosarcoma protuberans (DFSP). *Arch Dermatol* : 147(7) : 857-862, 2011.
16. Chiyomaru K, Nagano T, Nishigori C : Polymorphisms of Glutathione S-Transferase in skin cancer in a Japanese Population. *Kobe J Med Sci* : 57(1) : E11-E16, 2011.
17. Oka M, Edamatsu H, Kunisada M, Hu L, Takenaka N, Sakaguchi M, Kataoka T, Nishigori C : Phospholipase C ϵ has a crucial role in ultraviolet B-induced neutrophil-associated skin inflammation by regulating the expression of CXCL1/KC. *Lab Invest* : 91(5) : 711-718, 2011.
18. 錦織千佳子 : 色素性乾皮症. 皮膚科診療カラーアトラス. 鈴木啓之、神崎保編、講談社、東京、106-107、2011.
19. 小野竜輔、中野英司、竹内聖二、錦織千佳子 : 色素性乾皮症～遺伝子診断における最近の動向～. *日本皮膚科学会雑誌* : 121(13) 増刊 : 2741-2744、2011.
20. 加藤真弓、錦織千佳子、岡本祐之、森脇真一、川田暁、古川福実、宮地良樹 : 新規紫外線吸収剤を配合したブロードスペクトラム日やけ止め化粧品BSUS ミルク-1 の光線過敏症患者への使用試験. *皮膚の科学* : 10(5) : 424-441, 2011.
21. 幸田 太、野崎 誠、佐々木りか子、畑三恵子、錦織千佳子 : 6 歳まで診断されなかった色素

性乾皮症A群の1例. 西日本皮膚科 : 73(4) : 354-357, 2011.

22. 竹内聖二、中野 創、錦織千佳子 : 骨髄性プロトポルフィリン症の6例 : 1例の遺伝子解析症例を含む. 皮膚の科学 : 10(3) : 220-223, 2011.
23. 福永 淳、錦織千佳子、伊藤 圭、清水 宏、佐々木りか子、加藤真弓、宮地良樹、竹内 聡、田代あかり、古江増隆 : 光線過敏症などに対するサンスクリーン剤の有用性評価. 西日本皮膚科 : 73(3) : 271-277, 2011.
24. 錦織千佳子 : こどものサンスクリーン剤. 学ぼう—こどもの皮膚疾患 : No.7 : 裏表紙 (コラム)、2011.
25. 錦織千佳子 : 色素性乾皮症と紫外線発癌. Visual dermatology : 10(5) : 452-455, 2011.
26. 小野竜輔、正木太朗、竹内聖二、上出良一、錦織千佳子 : スプライス異常の複合ヘテロ接合型変異による色素性乾皮症バリエーション型の1例. Visual dermatology : 10(5) : 484-485, 2011

2. 学会発表

1. 錦織千佳子 : 色素性乾皮症の診断と最近の話題. 日本皮膚科学会第357回福岡地方会 2011. 6.19
2. 国定 充、フランディアナ ヨギアンティ、作見邦彦、小野竜輔、中別府雄作、錦織千佳子 : UVB- 活性酸素で生じる皮膚の8-oxoG蓄積が皮膚腫瘍形成において重要な修飾的役割を担う. 第33回日本光医学・光生物学会 2011.7.22-23
3. 錦織千佳子 : 色素性乾皮症の臨床とその遺伝子導入. 長崎皮膚腫瘍研究会学術講演会 (特別講演) 2011.7.23
4. Nishigori C: Mechanisms of photocarcinogenesis in terms of wavelength difference in UV response

and UV damage. 5th Asia and Oceania Conference for Photobiology (Session) 2011.7.30-8.1

5. Kunisada M, Yogianti F, Sakumi K, Ono R, Nakabeppu Y, Nishigori C : Inflammatory response is closely related to versican overexpression in UVB/reactive oxygen species-induced skin tumorigenesis. 5th Asia and Oceania Conference for Photobiology 2011.7.30-8.1
6. Yogianti F, Kunisada M, Ono R, Sakumi K, Nakabeppu Y, Nishigori C : Analysis of /p53/ mutations in ultraviolet-induced skin tumors among broad and narrow band UVB sources with Ogg-1 knockout mice. 5th Asia and Oceania Conference for Photobiology 2011.7.30-8.1
7. Nakano E, Ono R, Masaki T, Takeuchi S, Nishigori C: Five case reports of Xeroderma Pigmentosum group D without neurological symptoms. 5th Asia and Oceania Conference for Photobiology 2011.7.30-8.1
8. 錦織千佳子 : 光線過敏症/最近のトピックス. 日本皮膚科学会宮城・山形・福島3県合同地方会学術大会第355回例会 (スポンサードセミナー) 2011.9.4
9. Nakano E, Ono R, Masaki T, Takeuchi S, Nishigori C : Five case reports of Xeroderma Pigmentosum group D without neurological symptoms. 日本研究皮膚科学会第36回年次学術大会・総会 2011.12.9-11

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