

1. 色素性乾皮症の診療ガイドラインの作成に向けた 患者調査票の解析

2. 日本人色素性乾皮症 D 群の遺伝子変異と *in silico* 解析と 症状との関連性

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

色素性乾皮症 (XP) の患者数、相補性群の分布などの現状を把握するための一次調査を行った。平成 24 年に全国の研修指定病院皮膚科を訪れた XP 全患者数は 186 名 (70 施設)、男女比はほぼ 1、分布はほぼ全国に散らばっていた。これらの患者対象に詳細な二次調査を実施中である。

XP-D 患者の 6 例について実施した遺伝子変異をもとに *in silico* 解析を行ない、臨床症状との関連性検討した結果、遺伝子変異が ATP 活性の低下を引き起こす事が DAN 修復に重要なヘリカーゼ活性の低下に関与する事が示唆された。

A. 研究目的

①平成 19 年度から平成 22 年度迄連続で実施した XP 患者調査の第二弾として、平成 24 年度に各医療機関を受診した患者数の推移を調べる目的で一次調査を実施し、患者のいる施設には二次調査依頼を行なった。

②XPD 群 (XP-D) は重度の光線過敏症を呈し高率に皮膚癌を発症し、神経症状を伴うことが多いとされているが、その重症度は症例によって様々である。欧米からの報告では、XPD 遺伝子の R683W が患者の 73%に見られ、それらの症例においては神経症状の合併が多いが、日本人XP-D では、皮膚癌を発症するものの神経症状は軽症である。XPD 蛋白は、ATP 依存性 5'-3' DNA ヘリケースで、ヌクレオチド除去修復において、損傷部分の DNA 二本鎖を巻き戻し、ほどこことによって、修復を進行させる働きを持つ。日本人 4 家系 6 症例の XP-D 患者につき、診断および遺伝子解析を行ない、*in silico* でヒト XPD 蛋白のシミュレーション解析を行った。

B. 研究方法

①XP の現況把握：全国の皮膚科研修指定病院皮膚科研修指定病院 609 施設を対象に平成 24 年に受診した色素性乾皮症患者の有無を問う一次調査を実施した。該当機関を対象に二次調査を実施した。

②色素性乾皮症D群の遺伝子変異と *in silico* 解析：用いた XP-D 群細胞の症例の詳細は表 1 の通りである。平成 20 年度の本研究班の成果として、XP-D の日症例を診断確定し、そのうちの 3 例については XPD 遺伝子解析を実施していた。今回は残りの 2 例とその後新たに XP-D と診断した 1 例を加え 3 例について遺伝子解析を実施し、今迄の症例を合わせた 6 例について *in silico* 解析を行なった。

ModBase より得られた wild-type の XPD 蛋白の立体構造と、欧米で多く見られる R683W、自験例で見られた R683Q、S541R、del619 について *in silico* でアミノ酸置換、欠失させ、構造最適化を行ったうえで、立体構造を用いて解析した。

(倫理面への配慮)

一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

表 1 XPD 群患者の遺伝子変異と臨床症状のまとめ

Case	Age /Sex	Consanguinity	MED (mJ/cm ²)	Skin cancer ³	Neurological symptoms	UDS (%)	UV survival (D ₃₇ /m ²)	Mutations of <i>XPD</i> gene			
								Allele 1		Allele 2	
								Genome	Amino acid	Genome	Amino acid
XPD1KO	56/F	+	33	+(44)	-	27.3	1.5	c.2048A>G	p.R638Q	c.1855del3nt	p.del619
XPD2KO	52/F	+	ND	+(38)	-	32	2.1	c.2048A>G	p.R638Q	c.1855del3nt	p.del619
XPD3KO	48/F	+	40	-	-	35.7	1.1	c.1621A>C	p.S541R	c.1621A>C	p.S541R
XPD4KO	21/F	+	40	+(21)	-	26	1.25	c.2048A>G	p.R638Q	c.1102C>T	p.Q368X
XPD5KO	19/M	+	60	-	-	30	2.1	c.2048A>G	p.R638Q	c.1102C>T	p.Q368X
XPD6KO	61/F	-	40	+(61)	-	ND	ND	c.1621A>C	p.S541R	c.1621A>C	p.S541R

Mutations of <i>XPD</i> gene	Number	Age (mean)	Skin cancer*	Neurological symptoms*	References
p.R638W	7	24.3	5/5(<15.4)	7/7	Taylor <i>et al.</i> , 1997; Viprakasit <i>et al.</i> , 2001
p.R638Q	7	34.1	4/5(35.3)	4/7	Taylor <i>et al.</i> , 1997; Falik-Zaccai <i>et al.</i> , 2012

F, female; M, male; MED, minimal erythema dose (最少紅斑量) ; ND, not done; UDS, unscheduled DNA synthesis (不定期 DNA 合成)

*各症状を有する患者数

(論文発表 1 を改変)

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。

遺伝子解析については本人の文書による同意を取得している。

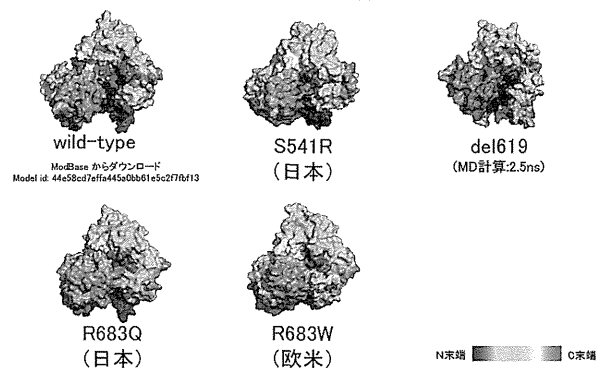
C. 研究結果

①日本の XP 患者の現況：XP 患者を有する施設は 70 施設であった。全患者数は 186 名で男女比はほぼ 1 であった。地域的には、関西から西日本にかけて患者数が多い傾向がみられるものの、広範囲の地域に広く散在していることが明らかとなった。現在各患者についての二次調査を実施中である。

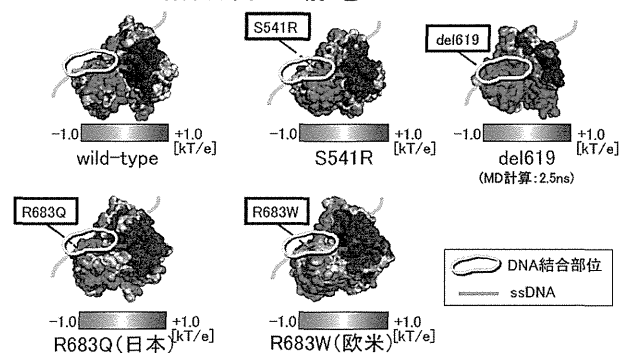
②*XPD* の *in silico* 解析：男性 1 例、女性 5 例。年齢は平成 20 年 11 月時点で 19~61 才であった。症例 1 と症例 2 は姉妹、症例 4 と症例 5 は姉弟であった。各症例の臨床症状および病歴の詳細は表 1 に記した。症例 6 を除き両親がいとこ婚であり、全症例が生後まもなく日光曝露後に水疱形成や著明な紅斑などの光線過敏症状を生じている。いずれの症例も明らかな神経症状は認められず、看護師や学生として健常人と同様に社会的に活動している。

ヌクレオチド除去修復のうち global genome repair の指標となる Unscheduled DNA synthesis (UDS) 全例健常人の約 30% と低下していた。*XPD* 遺伝子の解析と症状を表 1 に示す。

XPD の立体構造





DNA 結合部位の静電ポテンシャル



* R683, R683Q, R683W は上図の裏側に位置する

XP-DとATPのドッキング解析 (MOE DOCK)

	wild-type	S541R	R683Q (日本)	R683W (欧米)	del619 (MD計算:2.5ns)
論文報告*と 同じ向き の結合 	100回中50回 ドッキングスコア -5.81±1.52	100回中22回 ドッキングスコア -4.86±0.51	100回中34回 ドッキングスコア -4.38±1.50	100回中0回 ドッキングスコア — ※ドッキングサイトが 検出されない	100回中2回 ドッキングスコア -3.84±0.91
論文報告*と 逆向き の結合 	100回中50回 ドッキングスコア -3.72±2.14	100回中76回 ドッキングスコア -4.63±0.85	100回中68回 ドッキングスコア -4.40±1.51	100回中100回 ドッキングスコア -4.33±0.39	100回中68回 ドッキングスコア -3.24±2.82

* Fuss J.O. et al. DNA Repair 10(7): 697-713, 2011
ドッキングスコアは、値が小さいほど結合がエネルギー的に安定。

In silico による構造解析では wild-type と比較すると、それぞれのアミノ酸置換、欠失の影響で立体構造も変化していた。表面の静電ポテンシャル解析では、wild-type において ATP 結合部位は正に帯電しているのに対し、各変異蛋白においてはゼロ、または負の帯電に変化しており、ATP 結合能が低下すると予想された。そこで、ATP と XP-D 蛋白とのドッキング解析を行った。ATP の結合部位と、その向きが報告されているが、wild-type においては 100 回の解析で 50 回既報告と同じ向きでの結合を認めた。一方、S541R、del619、R683Q においてはそれぞれ 100 回中 22 回、32 回、34 回同じ向きでの結合を認めた。しかし R683W においては同じ向きに結合することは無かった。

D.E. 考察と結論

①以前の XP の統計と比較して数、分布の大きな変化は見られなかった。毎年定期的に受診するわけではなく、皮膚がん発症時に受診したり、一旦診断がつくとその後の受診が途絶える例も多いため、患者の登録制度等も検討する必要があるかもしれない。A 群の軽症例や D 群での神経症状の有無の解析と重症型 A 群の解析を比較する事で XP の神経症状の原因がより明確になり、新たな治療法の開発も進むので、今後も引き続き遺伝子診断未実施症例について、遺伝子診断の確定と症状の精査を進める必要がある。

②XP-D において遺伝子解析がなされ、かつ神経症状の有無について述べられている症例は内外合わせて 37 症例あり、今回の 6 症例を追加し、43 例について遺伝子変異と臨床症状の関連について検討した。43 例のうち、R683W をホモ変異で持つものは 7 例あり、R683Q をホモ変異で持つものも 7 例認めた。R683Q のホモ変異症例では、7 例中 3 例は神経症状を認めず、3 例は軽微な神経症状を呈し、1 例

が神経症状を認めたとされている。一方、R683W をホモ変異として持つ 7 例は、6 例が神経症状を呈し、1 例は軽微な症状であった。皮膚症状に関してみてみると、R683W では皮膚癌の発症の有無について記載があった 5 例中 5 例ともに皮膚癌を発症し、平均初発年齢は 15.4 歳以下であった。一方で R683Q では記載のあった 5 例中 4 例が皮膚癌を発症し、平均初発年齢は 35.3 歳であった。神経内科医の診察や画像検査などを含めた総合的な判断無くして神経症状の重症度を客観的に評価することは難しく、また皮膚癌の発症も紫外線暴露量などの要因も関連するが、R683W と R683Q を比較すると前者の方が臨床症状として重症例が多いと考えられた。

XP-D 遺伝子の変異の多くはヘリケースドメインに集中しており、変異によって DNA 結合や ATPase 活性が低下すると考えられる。R683 はヘリケースドメインに位置しており、既報告では R683W はヘリケース活性が無いとするものと、正常よりも劣るものの残存しているとする報告がある。R683W と R683Q の比較では後者の方が ATPase 活性と ssDNA 結合能が前者よりも高いとする報告がある。我々の *in silico* 解析においても後者においては正常よりも劣るものの ATP とのドッキングを認めたのに対し、前者は ATP とのドッキングは認めなかった。XP-D 蛋白は ATP 依存性 DNA ヘリケースであり、ATP の加水分解によって DNA の巻き戻しを行っており、これらの報告および解析結果はそれぞれの変異を持つ患者の重症度の違いと関連している可能性を示すものである。また、S541R や del619 においても R683Q と同様に、臨床症状として比較的軽症であるのは ATP とのドッキング能が残存することで説明しうる。

以上より R683W は ATP との結合能がほとんど無く、臨床症状として重症例が多いのに対し、R683Q、S541R、del619 は ATP との結合能が残存し、臨床症状の軽症化に働いていると考えられた。

XP-D 患者における臨床症状の差異は遺伝子変異の違いと関連することが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakano E, Ono R, Masaki T, Takeuchi S, Takaoka Y, Nishigori C: Differences in Clinical Phenotype

- Among Patients with XP Complementation Group D; 3-D Structure and ATP-Docking of XPD in silico. *J Invest Dermatol*, in press
- 2) 錦織千佳子：遺伝子修復機構とその異常. 図説分子病態学改訂5版. 一瀬白帝、鈴木宏治編. 中外医学社. 東京. 印刷中
 - 3) 中野英司、錦織千佳子：光老化のモデルとしての色素性乾皮症. *医学のあゆみ*. 印刷中
 - 4) 竹内聖二、中野英司、山下大介、井川 健、森田明理、荻田典生、錦織千佳子：軽症型A群色素性乾皮症の1例. *小児皮膚科*. 印刷中
 - 5) Chiba Y, Mizoguchi I, Mitobe K, Higuchi K, Nagai H, Nishigori C, Mizoguchi J, Yoshimoto T: IL-27 enhances the expression of TRAIL and TLR3 in human melanomas and inhibits their tumor growth in cooperation with a TLR3 agonist poly (I:C) partly in a TRAIL-dependent manner. *PLoS One*: 8(10): e76159, 2013.
 - 6) Tian H, Matsuo Y, Fukunaga A, Ono R, Nishigori C, Yodoi J: Thioredoxin ameliorates cutaneous inflammation by regulating the epithelial production and release of pro-inflammatory cytokines. *Front Immunol*: 4: Article269, 2013.
 - 7) Ono R, Fukunaga A, Masaki T, Yu X, Yodoi J, Nishigori C: Suppressive effect of administration of recombinant human thioredoxin on cutaneous inflammation caused by UV. *Bioengineered*: 4(4): 254-257 (Addenda), 2013.
 - 8) Ono R, Masaki T, Takeuchi S, Shimizu A, Tanioka M, Kambe N, Matsue H, Kamide R, Nishigori C: Three school-age cases of xeroderma pigmentosum variant type. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*: 29(3): 132-139, 2013.
 - 9) Kunisada M, Masaki T, Ono R, Morinaga H, Nakano E, Yogiarti F, Okunishi K, Sugiyama H, Nishigori C: Hydrochlorothiazide enhances UVA-induced DNA damage. *Photochem Photobiol*: 89(3): 649-654, 2013.
 - 10) Taguchi K, Fukunaga A, Ogura K, Nishigori C: The Role of Epidermal Langerhans Cells in NB-UVB-Induced Immunosuppression. *Kobe J Med Sci*: 59(1): E1-9, 2013.
 - 11) Imoto K, Nadem C, Moriwaki S, Nishigori C, Oh KS, Khan SG, Goldstein AM, Kraemer KH: Ancient origin of a Japanese xeroderma pigmentosum founder mutation. *J Dermatol Sci*: 69(2): 175-176, 2013.
 - 12) 錦織千佳子：光線過敏症. 高齢者によくみられる皮膚疾患アトラス—鑑別と治療のポイント. 横関博雄、片山一朗編集. 医薬ジャーナル社. 東京. 92-96, 2013.
 - 13) 錦織千佳子：物理・化学的皮膚障害. 標準皮膚科学第10版. 富田靖監修、橋本 隆、岩月啓氏、照井正編集. 医学書院. 東京. 124-146, 2013.
 - 14) 西村景子、矢上品子、佐野晶代、小林 東、沼田茂樹、高橋正幸、三和拓人、佐々木りか子、福永 淳、錦織千佳子、森田栄伸、松永佳世子：新しい皮膚生理機能評価法による乾燥性口唇に対するリップクリームの有用性検討. *西日本皮膚科*：75(6): 540-544, 2013.
 - 15) 錦織千佳子：IV. 有棘細胞癌（日光角化症・Bowen病）有棘細胞癌の危険因子生活習慣と環境因子. *日本臨牀皮膚悪性腫瘍 基礎と臨床の最新研究動向*. 71増刊号4：436-440, 2013.
 - 16) 錦織千佳子：V. 基底細胞癌 危険因子：生活習慣と環境因子・宿主因子. *日本臨牀皮膚悪性腫瘍 基礎と臨床の最新研究動向*. 71増刊号4: 582-586, 2013.
 - 17) 錦織千佳子：薬剤師が知っておきたい紫外線による皮膚の光老化と皮膚疾患. *Vis-à-Vis*: 61: 1-5, 2013.
 - 18) 錦織千佳子：紫外線と美容・老化. *Visual Dermatology*: 12(6): 623-627, 2013.
 - 19) 小野竜輔、錦織千佳子：日光過敏症のスキルアップ「作用波長と検査および対策」. *Monthly derma*: No.203: 31-36, 2013.
- ## 2. 学会発表
- 1) Takeuchi S, Nishigori C, Declercq L, Yarosh DB, Saito N: Live imaging analysis of melanosome transfer using lipophilic tracer. *International Investigative Dermatology*. 2013. 5.8-11
 - 2) Yogiarti F, Kunisada M, Ono R, Sakumi K, Nakabeppu Y, Nishigori C: The inhibitory effect of *Spirulina platensis* on UVB-induced skin carcinogenesis: anti-inflammatory and antioxidant mechanisms. *International Investigative Dermatology*. 2013. 5.8-11
 - 3) Makino-Okamura C, Niki Y, Takeuchi S, Declercq L, Yarosh DB, Nishigori C, Saito N: Serine protease inhibitor attenuates PAR-2 triggered inflammatory

- response and keratin 1 expression in human primary keratinocytes. *International Investigative Dermatology*. 2013. 5.8-11
- 4) Nishigori C: Ultraviolet light and oxidative stress response. 3rd annual meeting of Korean Society of Pigment Cell Research. 2013.6.9
- 5) 国定 充、Flandiana Yogiarti、小野竜輔、作見邦彦、岡素雅子、中別府雄作、錦織千佳子： *Spirulina platensis* における抗炎症反応を介しての UVB 長期照射によるマウス皮膚発癌抑制作用の検討. 第 35 回日本光医学・光生物学会. 2013.7.12-13
- 6) 中野英司、小野竜輔、正木太朗、竹内聖二、錦織千佳子：神経症状を伴わない色素性乾皮症 D 群の 6 例. 第 35 回日本光医学・光生物学会. 2013.7.12-13
- 7) 錦織千佳子：光発癌のメカニズムと臨床. 第 29 回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会. 2013.8.9-10
- 8) 藤原 進、黄 欣鋒、永井 宏、西川伸一、錦織千佳子：Genome-wide analysis for methylation status and gene expression of melanomas and melanocytes from the same individual. 第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会. 2013. 8.29-31
- 9) 錦織千佳子：光線過敏症 up to date. 第 14 回光老化研究会. 2013.8.30
- 10) Nishigori C: Current concept in Photobiology. 12th Asia-Pacific Environmental and Occupational Dermatology Symposium, 13th Annual Scientific Meeting of Indonesian Society of Dermatology and Venereology. 2013.10.23-26
- 11) Nishigori C: Photocarcinogenesis and inflammation. The 6th Asia & Oceania Conference on Photobiology. 2013.11.10-13
- 12) 錦織千佳子：The role of ultraviolet light on the development of Melanoma. 第 25 回日本色素細胞学会年次学術大会. 2013. 11.16-17
- 13) 永井 宏、藤原 進、下浦典子、善本隆之、錦織千佳子：メラノーマ組織内 CD4+T 細胞除去による抗腫瘍免疫反応機序の解析. 第 25 回日本色素細胞学会年次学術大会. 2013. 11.16-17

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

A 群色素性乾皮症における神経障害の重症度分類に関する研究

研究分担者 荻田典生 神戸大学大学院特命教授

研究要旨

XPA 患者の神経障害の重症度分類を作成し、その妥当性を XPA 患者 13 名について、他の評価法である頭部 MRI や末梢神経伝導検査結果と比較検討した。この分類により神経障害の進行を半定量的に評価できることから、今後、本疾患の治療法開発において、重要な役割を果たす事が期待される。

A. 研究目的

A 群色素性乾皮症（XPA）の神経障害を定量的に評価することで、病態の自然歴を明らかにし、今後開発される治療法の評価手段の確立を目指す。

B. 研究方法

XPA 患者について定期的な面接と診察を行い神経症状の評価を行うとともに、末梢神経伝導検査と頭部MRI 検査を行い、末梢神経の機能的評価と中枢神経（脳）の形態的評価との比較を行った。

（倫理面への配慮）

MRI 検査や神経伝導検査については、被験者もしくはその保護者に説明と文書による同意を取得し行った。

A 群色素性乾皮症神経障害重症度分類（案）の評価表は、日常生活動作（section 1）12 項目、運動機能（Section 2）6 項目、高次機能（Section 3）2 項目の合計 20 項目とし、各項目を 0（正常）～4（完全喪失）の 5 段階評価とした。結果は Total Score として 0～80 点で評価した。また、これと別に総合障害度（GDS: 6 段階 0-5）を加えた。

XPA 患者 13 名について重症度分類に基づいた評価を行い、総合障害度との関連、年齢との関連、MRI による脳容積の関連、神経伝導検査による末梢神経障害との関連について調査した。

C. 研究結果

[総合障害度との関連] 0 は症例なし、1 は 2 例で

Total Score は 10～25（平均 17.5）、2 は 4 例 24-35（27.75）、3 は 2 例 21-36（28.5）、4 は 1 例 51、5 は 4 例 49～77（67.75）となった。

[年齢との関連]

経時的な観察を加えた評価では、5 歳までは Total Score は低下するが、その後は一貫して上昇し続けた。10 歳～15 歳で歩行困難となる症例が多いが、個人差が顕著であった。20 歳以降は全例 Total Score は 70 以上、GDS5 となった。

[MRI との関連]

脳灰白質容積は、5 歳をピークに年齢とともに低下した。また、Total Score とは負の相関関係が見られた（ $r^2=0.769$ ）。

[末梢神経障害との関連]

下肢優位感覚神経優位の軸索障害がみられ、13 歳以降では腓腹神経の SNAP は誘発されなくなった。Total score では 50 以上、GDS では 4 以上で上下肢の SNAP は誘発されなくなった。

E. 結論

XPA では神経組織の正常な発育が遅れるが、5 歳までは脳容積や運動機能の低下は明らかではない。しかし、その後は進行性に中枢神経機能、末梢神経機能が全般に障害される。この障害の経過を半定量的に評価する上で、今回の障害度分類は有益であると考えられる。今後はこの障害度分類を本研究班の研究者に周知する事で、さらに多くの症例で使用し、評価の妥当性について検証する予定である。

F. 参考文献

における神経障害の重症度評価について」神戸大学病院神経内科 菊田典生（2013.5.31、東京）

G. 研究発表

第54回日本神経学会学術大会「A 群色素性乾皮症

神経皮膚症候群に関する調査研究

研究分担者 萩 朋男 長崎大学原爆後障害医療研究所准教授

研究要旨

国内外の色素性乾皮症（XP）、コケイン症候群（CS）を中心に、遺伝性皮膚疾患の症例を約 300 例収集した。ヌクレオチド除去修復活性を指標にウイルス相補性試験を実施することで、疾患責任遺伝子/相補性群を決定した。責任遺伝子が未知のケースでは、次世代ゲノム解析等により原因遺伝子の探索を実施した。これらの結果、既知の XP 遺伝子に変異を持つ軽症 XP 症例 5 例と、XP/CS と併せてファンコーニ貧血症（FA）を発症する稀な症例の疾患責任変異を同定した。

A. 研究目的

ヌクレオチド除去修復機構（NER）の修復活性を高速かつ正確に測定評価する手法（EdU/EU Assay）を、NER 欠損性光線過敏疾患の診断に応用する。さらに、レンチウイルス発現系により患者細胞に既知の NER 因子を導入後、修復活性の回復を評価する事で、より迅速な疾患責任変異の確定をおこなう。

B. 研究方法

国内外の DNA 修復研究者/臨床医らと連携し、色素性乾皮症（XP）、コケイン症（CS）の症例を収集する。解析対象の検体は、日光暴露に対する過敏性や皮膚症状、神経症状、発達異常などの病態に応じて分類し、不定期 DNA 合成量（UDS）および RNA 合成回復量（RRS）にて NER の修復活性を評価する。さらに、レンチウイルス相補性試験およびゲノムシーケンスを行うことで責任遺伝子と責任変異の同定を行う。これらにより得られた情報は、臨床診断結果として臨床医にフィードバックする。既知の NER 関連遺伝子に変異が同定されなかった検体については、次世代ゲノム解析を実施することで、新規の NER 関連遺伝子同定を試みる。（倫理面への配慮）

ヒトゲノム研究は、長崎大学の倫理委員会の承認を得て実施されている。

C. 研究結果

XPD に変異を持つ軽症 XP 症例において、共通するアミノ酸置換型の遺伝子変異が確認された。さらに、XP/CS と併せてファンコーニ貧血症（FA）を発症する稀な症例の疾患責任変異を *XPF* 遺伝子に同定した。本患者由来の細胞はクロスリンク剤に高感受性を示し、その原因が ERCC1-XPF エンドヌクレアーゼ複合体の機能異常による事を明らかにした（Kashiyama et al., *American Journal of Human Genetics* (2013)）。

D. 考察

XPD に変異を持つ軽症 XP 症例に関して、共通するアミノ酸置換型の遺伝子変異が原因となり、*XPD* 蛋白質の構造異常あるいは活性異常をもたらすことで軽微な日光過敏を引き起こしている可能性が予想される。今後、この *XPD* 遺伝子変異について、蛋白質構造や蛋白質間相互作用などを詳細に解析する事で、軽微な日光過敏の原因究明が期待される。

ERCC1-XPF エンドヌクレアーゼ複合体の異常によりクロスリンク剤に高感受性を示す事から、本複合体の機能をより詳細に解析することで、抗がん剤耐性ががんの出現メカニズム解明や新規抗がん剤の開発、副作用緩和につながる創薬スクリーニング等の応用研究に貢献すると期待される。

E. 結論

EdU/EU Assay ならびにレンチウイルス相補性試験による臨床診断は、迅速かつ正確な結果が得られる極めて有効な確定診断法である。評価系を拡張することで、より広範な疾患にも対応可能になると期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表 (*equal contribution, § corresponding author)

Kashiyama K*, Nakazawa Y*, Pilz D*, Guo C*, Shimada M, Sasaki K, Fawcett H, Wing J, Lewin S, Carr L, Yoshiura K, Utani A, Hirano A, Yamashita S, Greenblatt D, Nardo T, Stefanini M, McGibbon D, Sarkany R, Fassihi H, Takahashi Y, Nagayama Y, Mitsutake N, Lehmann AR §, and Ogi T §. Malfunction of Nuclease ERCC1-XPF Results in Diverse Clinical Manifestations and Causes Cockayne Syndrome, Xeroderma Pigmentosum,

and Fanconi Anemia. *American Journal of Human Genetics* 92:807-819 (2013)

Woodbine L, Neal JA, Sasi NK, Shimada M, Deem K, Coleman H, Dobyns WB, Ogi T, Meek K §, Davies EG §, Jeggo PA §. PRKDC mutations in a SCID patient with profound neurological abnormalities. *J Clin Invest.* 123: 2969-2980 (2013)

2. 学会発表

第 22 回 DNA 複製・組換えワークショップ、荻 朋男、紫外線 DNA 損傷による RNA polymerase の修飾分子機構、2013 年 11 月

第 31 回日本美容皮膚科学会、荻 朋男、紫外線感受性症候群責任遺伝子の分子機能解析、2013 年 8 月

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

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

本邦において複数例同定されている D 群色素性乾皮症 (XPD) 遺伝子のアミノ酸置換変異 (S541R および R683Q) が、比較的高い DNA 損傷除去活性を維持する一方、その後の DNA 修復合成の欠損を引き起こすことを示した。欧米に広く分布する R683W 変異型 XPD は DNA 修復活性をほぼ完全に欠損しており、本邦の XP-D 群患者の症状が一般に軽度である理由を考える上で重要な意義を持つ可能性がある。

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、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

変異遺伝子解析は、神戸大学・錦織千佳子教授、長崎大学・荻朋男准教授、オランダ・エラスムス大学・P.J. van der Spek 教授らとの共同研究により行った。既知の XP 責任遺伝子の発現による紫外線感受性と不定期 DNA 合成能を指標とした相補実験、および次世代シーケンサー解析により変異遺伝子を同定した。また、*ERCC2* (*XPD*) 遺伝子の各エキソンを PCR により増幅し、塩基配列を調べることで

突然変異の存在を別途確認した。

損傷除去活性の評価は、細胞に紫外線 (10 J/m^2) 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。損傷除去後の一本鎖 DNA ギャップの残存については、細胞に紫外線 (10 J/m^2) を照射し、12 時間培養を行った後にアルカリ変性条件でコメットアッセイを行うことで評価した。

形質転換細胞株の作成では、XP-D 群患者由来皮膚線維芽細胞 (XP6BESV) を親株とし、N 末端に FLAG タグを融合した変異 *ERCC2* 遺伝子を pIREShyg ベクターに組み込んだものを細胞に導入した。200 $\mu\text{g/ml}$ hygromycin B を含む培地で安定形質転換細胞のクローンを単離した。
(倫理面への配慮)

患者とその両親の全ゲノム解析については、神戸大学の研究倫理委員会の承認と、本人の書面での同意を得た上で実施した。

C.D. 研究結果と考察

皮膚の光線過敏症状を呈し、XP が疑われた患者 (Kobe990605) とその両親から提供された血液サンプルからゲノム DNA を単離・精製し、次世代シーケンサーにより変異遺伝子の同定を試みた。その結果、この患者のゲノムにおいて *ERCC2* (*XPD*) 遺

伝子の複合ヘテロ接合体変異（アミノ酸置換変異 S541R、および4塩基欠失によるナンセンス変異）が見出された（図1）。

一方、日本人の XP-C 群患者由来細胞として細胞バンクに登録されていた XP40OS 細胞が、実際には XP-D 群に属することが遺伝子相補実験により示唆された（実際、この細胞の *XPC* 遺伝子には変異は見出されず、ウエスタンブロットにより全長 XPC タンパク質の発現も確認されている）。この細胞からゲノム DNA を単離し、*ERCC2* 遺伝子の各エキソンを PCR 増幅して塩基配列を解析したところ、アミノ酸置換変異（R683Q）と23塩基の欠失変異が同定された（図1）。

これら二種類の XP-D 群細胞について紫外線照射後の生存率を調べたところ、代表的な XP-D 群細胞 XP6BESV と比較していずれの細胞も有意に低い紫外線感受性を示した。また紫外線により生じる(6-4)光産物の修復が XP6BESV 細胞ではほとんど見られないのに対して、新たに同定された二種類の XP-D 群細胞では、正常細胞よりは速度が遅いものの、比較的高い損傷除去活性を示すことがわかった（図2）。それに対して、これらの細胞における紫外線照射後の不定期DNA合成のレベルは、損傷除去活性と比較して不当に低いものであった。このことから紫外線照射後にDNA損傷は除去されるものの、

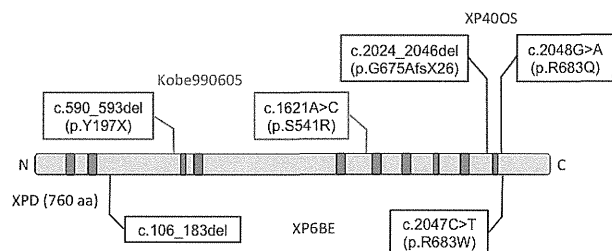


図1 同定された *ERCC2* 遺伝子の変異

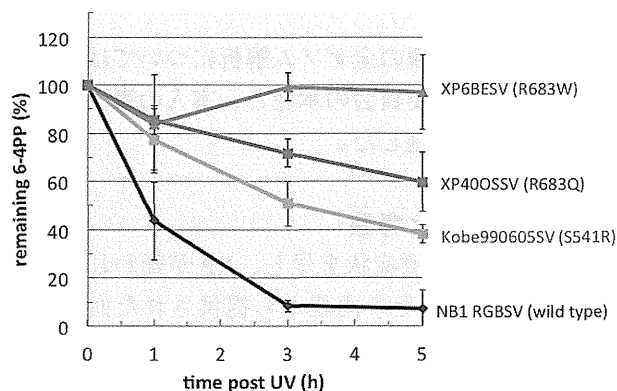


図2 XP-D 群細胞の DNA 修復活性の比較

その後の DNA 修復合成が何らかの理由で妨げられて一本鎖DNAギャップが蓄積していることが予想された。実際、アルカリ変性条件下でのコメットアッセイにより、紫外線照射依存的な一本鎖DNA領域の蓄積を支持する結果を得た（図3）。

Kobe990605、および XP40OS 細胞において欠失変異はタンパク質翻訳のフレームシフトを引き起こすため、このアリル由来の XPD タンパク質の発現レベルは非常に低いと予想される（実際、いずれの細胞においてもウエスタンブロットレベルで短縮型 XPD タンパク質は検出されていない）。従って、上記のような細胞の表現型は、主にアミノ酸置換変異アリル由来の XPD タンパク質の性質を反映していると考えられる。XP6BESV 細胞では欧米において高頻度で見られる R683W 変異型 XPD タンパク質が発現しているが、この細胞で S541R、または R683Q 変異を持つ XPD タンパク質を異所的に発現し、かつ内在性の XPD R683W の発現を抑制することで、細胞の紫外線感受性の低下と、DNA 損傷除去活性の部分的回復が再現された。

E. 結論

ERCC2 遺伝子の病理性変異の中でも S541R と R683Q は、従前より本邦の XP-D 群患者でしばしば同定されてきたものである。欧米でよく見られる R683W 変異を持つ XP-D 群患者は一般に重篤な精神神経症状を合併し、細胞レベルでは非常に高い紫外線感受性を示し、DNA 修復活性もきわめて低い。それに対して上記の二種類の変異 XPD を発現する細胞で DNA 修復活性が部分的に見られることは、本邦の XP-D 群患者の臨床症状が軽度である理由を考える上で重要な意味を持つ可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

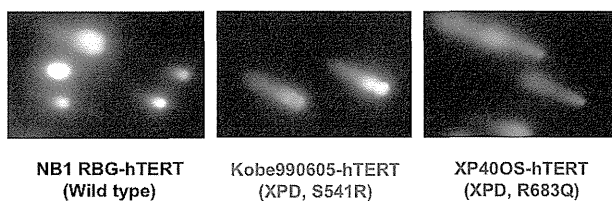


図3 紫外線処理した XP-D 群細胞のアルカリ性コメットアッセイ

G. 研究発表

1. 論文発表

Krasikova, Y.S., Rechkunova, N.I., Maltseva, E.A., Pestryakov, P.E., Petruseva, I.O., Sugasawa, K., Chen, X., Min, J.H., and Lavrik, O.I.: Comparative analysis of interaction of human and yeast DNA damage recognition complexes with damaged DNA in nucleotide excision repair. *J. Biol. Chem.* 288: 10936-10947 (2013).

Nishi, R., Sakai, W., Tone, D., Hanaoka, F., and Sugasawa, K.: Structure-function analysis of the EF-hand protein centrin-2 for its intracellular localization and nucleotide excision repair. *Nucleic Acids Res.* 41: 6917-6929 (2013).

Krasikova, Y.S., Rechkunova, N.I., Maltseva, E.A., Anarbaev, R.O., Pestryakov, P.E., Sugasawa, K., Min, J.H., and Lavrik, O.I.: Human and yeast DNA damage recognition complexes bind with high affinity DNA structures mimicking in size transcription bubble. *J. Mol. Recognit.* 26: 653-661 (2013).

2. 学会発表

菅澤 薫：ゲノム DNA 損傷の修復と細胞応答を制御するタンパク質翻訳後修飾の役割 第 86 回日本生化学会大会 横浜 9 月 (2013).

秋田眞季、酒井 恒、菅澤 薫：紫外線誘発 DNA 損傷の修復機構における SUMO 化修飾の役割 日本放射線影響学会第 56 回大会 青森 10 月

(2013).

秋田眞季、松本翔太、菅澤 薫：ヌクレオチド除去修復における損傷認識機構と SUMO 化修飾の意義 第 22 回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ 仙台 11 月 (2013).

松本翔太、Eric S. Fischer、Nicolas H. Thomä、菅澤 薫：DNA 損傷応答における XPC と DDB2 のユビキチン化を介した機能連関 第 22 回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ 仙台 11 月 (2013).

菅澤 薫：哺乳類ヌクレオチド除去修復における DNA 損傷認識過程の制御 第 36 回日本分子生物学会年会 神戸 12 月 (2013).

横田浩章、戸根大輔、韓 龍雲、原田慶恵、菅澤 薫：哺乳類ヌクレオチド除去修復タンパク質 XPC の一分子イメージング：DNA 上での 1 次元自由拡散運動の観察 第 36 回日本分子生物学会年会 神戸 12 月 (2013).

松本翔太、Eric S. Fischer、Nicolas H. Thomä、菅澤 薫：DNA 損傷応答における XPC と DDB2 のユビキチン化を介した機能連関 第 36 回日本分子生物学会年会 神戸 12 月 (2013).

中西正哉、酒井 恒、白鳥広海、木村 宏、菅澤 薫：ヌクレオチド除去修復の損傷認識に関わるクロマチン構造制御 第 36 回日本分子生物学会年会 神戸 12 月 (2013).

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 公益財団法人東京都医学総合研究所 脳発達・神経再生参事研究員

研究要旨

A 群色素性乾皮症（XP-A）と Cockayne 症候群（CS）の剖検脳でグリア細胞病変と神経変性の関連を明らかにしてきた。中枢神経系の免疫担当細胞でシナプス監査・除去に関与するミクログリア病変を確認するため、6 剖検例ずつの XP-A・CS 大脳・小脳白質でミクログリアマーカーに対する免疫組織化学的解析を行った。CD68 陽性ミクログリアの形態変化（amoeboid > ramified）、CD68 陽性ミクログリアと HLA-DR α 細胞の小脳白質での増加がみられ、小脳変性でのミクログリア活性化が示唆された。

A. 研究目的

ミクログリアは他のグリア細胞（外胚葉由来）とは異なり中胚葉由来で、マクロファージと同様な食作用を有し、神経組織が炎症・変性などの障害を受けると活性化し、病変の修復に関与する。Fc レセプター、補体受容体、MHC 抗原を発現し、IL-1 などの炎症性サイトカインを分泌し、中枢神経系における免疫担当細胞の役割を担っていると推定されている。近年、非炎症時においてもシナプスの監査・除去に関与することが明らかになった。さらにミクログリア機能に関連した分子の遺伝子変異により Nasu-Hakola 病、hereiditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids（HDLS）が惹起されることが見出され「ミクログリア病」なる疾患概念も提唱されている。

我々は本研究班で、A 群色素性乾皮症（XP-A）と Cockayne 症候群（CS）の剖検例の大脳・小脳において、アストロサイト（線維性グリオシス）、オリゴデンドロサイト（有髄線維の減少・脱落）の異常を明らかにしてきた。今回、ミクログリアマーカーである CD68、HLA-DR α 、CD163 に関する免疫組織化学染色を行い、XP・CS の神経変性におけるミクログリアの役割を検討した。

B. 研究方法

XP-A 剖検例 6 例（19～26 歳）、CS 剖検例 6 例

（7～35 歳）、6 対照（5～36 歳）の大脳・小脳の連続切片において、CD68（マクロファージと単球に発現する LAMP ファミリー糖蛋白）、HLA-DR α （MHC クラス II 分子）、CD163（ヘモグロビン・ハプトグロビン複合体に対する高親和性スカベンジャーレセプター、炎症性サイトカイン産生のシグナル伝達にも関与）に対する免疫組織化学染色を行い、陽性ミクログリア密度を定量した。

（倫理面への配慮）

本研究計画は実施前に（公財）東京都医学研の倫理委員会から承認を受けている。さらに剖検脳での解析にあたっては、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（表 1）

(1) CD68 陽性ミクログリアは XP-A > CS 例で増加傾向と形態変化（amoeboid > ramified）を示し、小脳白質では XP-A・CS 例での密度が対照に比し有意に増加していた（図 1）。(2) HLA-DR α 細胞（大部分がミクログリアと想定）の密度は、XP-A 例の大脳白質（図 2）、XP-A・CS 例の小脳白質において対照に比し有意の増加を示した。(3) CD163 陽性ミクログリアは対照では極少数しかみられなかった。XP-A・CS の一部の例では部位とは無関係に amoeboid ミクログリアで陽性所見を認めたが、平均値の検定では有意の増加を確認できなかった。

表1 大脳・小脳白質の免疫組織化学染色のまとめ

	Temporal lobe		Cerebellum	
	Cortex	White matter	Cortex	White matter
CD68				
Control	19.2 (11.3)	32.8 (19.1)	16.6 (8.8)	32.8 (21.2)
Xeroderma pigmentosum- group A	30.2 (25.8)	67.6 (35.6)	21.4 (9.9)	65 (26.4)
Cockayne syndrome	19.1 (15.2)	51.1 (20.5)	15.9 (8.5)	80.1 (27.6)
Kruskal-Wallis	(NS)	(NS)	(NS)	<0.05
Mann-Whitney (<0.05)				Ct vs. CS
HLA-DRα				
Control	13.1 (14.3)	21.4 (7)	15.1 (18.2)	21.1 (6.1)
Xeroderma pigmentosum- group A	21.4 (28)	51.6 (35.7)	12.2 (15.5)	48.6 (31.4)
Cockayne syndrome	9 (4)	41.9 (23.2)	17.9 (8.3)	55 (23.8)
Kruskal-Wallis	(NS)	(NS)	(NS)	<0.05
Mann-Whitney (<0.05)		Ct vs. XP-A		Ct vs. CS, XP-A
CD163				
Control	0.8 (2)	2.7 (4.3)	1.3 (1.3)	3.2 (2.2)
Xeroderma pigmentosum- group A	16.4 (23.8)	24.3 (31.4)	13.3 (19.9)	28.4 (35.2)
Cockayne syndrome	7.4 (9.7)	14 (12.4)	6.7 (9.1)	10 (13.1)
Kruskal-Wallis	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)

Each data is denoted as mean (SD). Abbreviations: NS, not significant; Ct, control; CS, Cockayne syndrome; XP-A, xeroderma pigmentosum-group A.

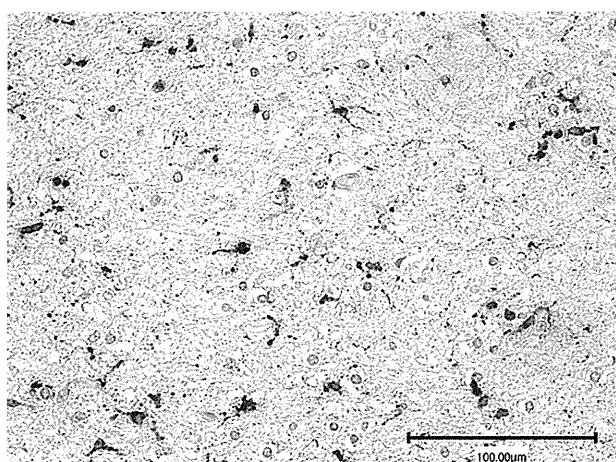


図1 CD68免疫組織化学染色、xeroderma pigmentosum group A 小脳白質

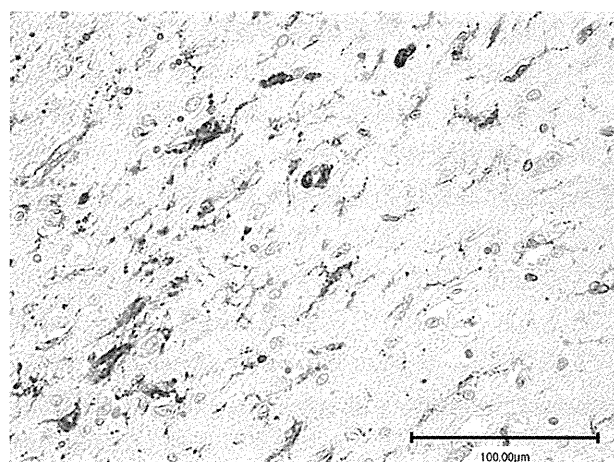


図2 HLA-DR α 免疫組織化学染色、xeroderma pigmentosum group A 大脳白質

D. 考察

XP-A・CS脳において、CD68ならびにHLA-DR α を表出した amoeboid microglia が対照に比し増加し、ミクログリアの活性化が疑われた。さらにXP-A・CS脳でのCD68・HLA-DR α 陽性ミクログリアの増加は大脳・小脳皮質では顕著でなく、小脳白質で目立っており、部位特異性の活性化の可能性が示唆された。一方、XP-A・CS脳でのCD163陽性ミクログリアの出現は、CD68・HLA-DR α 陽性ミクログリ

アよりも症例によるばらつきが大きく、対照との間に有意の差を認めなかった。

今後、ミクログリア特異的なIba1、glucose transporter 5に関する解析を行うとともに、Nasu-Hakola病、HDLSの原因遺伝子産物であるDAP12、TREM12、CSF1Rの表出を検討する予定である。さらにアストロサイト病変で血液脳関門機能、興奮性アミノ酸毒性などを解析し、ミクログリア活性化との関係を考察するとともに、市販ELISAキットを

用いて、XP-A・CS患者の生体試料（血清、髄液）でのCD163定量を試みる。

E. 結論

XP-A・CS患者脳で小脳白質優位にミクログリアの形態変化と増加がみられ、ミクログリア活性化の小脳変性への関与が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

Cullup T, Kho AL, Dionisi-Vici C, Brandmeier B, Smith F, Urry Z, Simpson MA, Yau S, Bertini E, McClelland V, Al-Owain M, Koelker S, Koerner C, Hoffmann GF, Wijburg FA, Hoedt AE, Rogers RC, Manchester D, Miyata R, Hayashi M, Said E, Soler D, Kroisel PM, Windpassinger C, Filloux FM, Al-Kaabi S, Hertecant J, Del Campo M, Buk S, Bodi I, Goebel HH, Sewry CA, Abbs S, Mohammed S, Josifova D, Gautel M, Jungbluth H. Recessive mutations in EPG5 cause Vici syndrome,

a multisystem disorder with defective autophagy. Nat Genet 2013;45(1):83-87.

2. 学会発表

- 1) 林 雅晴、宮田理英、田沼直之、久保田雅也. Cockayne 症候群の腎障害に関する検討. 第116回日本小児科学会学術集会、広島（2013.4.20）
- 2) 林 雅晴、大越優美、塩田 敬、望月葉子、伊藤雅之. 色素性乾皮症と Cockayne 症候群の白質病変に関する免疫組織化学的検討. 第54回日本神経病理学会、東京（2013.4.25）
- 3) 林 雅晴. 色素性乾皮症とコケイン症候群：神経変性の病態解明. 第55回日本小児神経学会学術総会シンポジウム「DNA修復障害と神経変性」、大分（2013.5.30）
- 4) 林 雅晴. コケイン症候群の基本情報. コケイン症候群（CS）の集い2013、横浜（2013.9.22）

H. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）
なし

色素性乾皮症、コケイン症候群における多様な表現型・遺伝型関連 ～放射線照射後の DNA 損傷に着目して～

研究分担者 森脇真一 大阪医科大学皮膚科教授

研究要旨

紫外線性 DNA 損傷のメインの修復系であるヌクレオチド除去修復（NER）に遺伝的な欠損をもつ色素性乾皮症（XP）、コケイン症候群（CS）細胞は、紫外線にきわめて高い感受性を示す。一方、放射線感受性に関しては両疾患由来細胞ともほぼ正常細胞レベルであるとされてきたが、CS 細胞では患者により放射線感受性が多様であるとの報告も散見される。

今回、放射線照射後の二本鎖切断（double strand breaks: DSBs）の指標である γ -H2AX の検出という鋭敏な系を用いることにより、XP、CS、XP/CS 細胞において放射線照射で誘発した DSBs の経時的変化を検討した。細胞に放射線を 1Gy 照射後に固定し、抗 γ -H2AX 抗体（Ser139）（05-636: Millipore）を用いて免疫染色を行い、レーザー顕微鏡（Zeiss LSM500 META）にて γ -H2AX として細胞核内に形成される foci を観察した。その結果、XP 細胞では正常細胞と差がなく、放射線照射後の修復応答は正常と考えられたが、CS では多くの細胞で、正常細胞に比べ γ -H2AX 形成の経過に異常が見られた。XP/CS 細胞では XP 細胞類似の動態を示した。

臨床の場合において XP、CS 患者に対しては CT など定期的に放射線等を用いた各種検査が実施されている。今後 DSBs を誘発する他の実験システムを用いたさらなる検討が必要であるが、今回の結果は CS 患者における放射線の安全性の是非に関して再考する必要性を示唆する。

A. 研究目的

研究分担者は 15 年以上にわたり紫外線性 DNA 修復の先天性欠損で発症する色素性乾皮症（XP）、その類縁疾患であるコケイン症候群（CS）などの疾患の分子細胞診断を行っている。XP は臨床的には（1）XPF 群、XP バリエーションなど皮膚のみに症状を有する XP cutaneous type、（2）XPA 群を代表とする進行性、重篤な神経症状を併発する XP neurological type、（3）コケイン症候群（Cockayne syndrome; CS）を合併する XP/CS complex の 3 型に分類される。XP/CS complex は XPB、XPD、XPG 遺伝子変異で発症し、臨床的には CS、細胞学的には XP の表現型を呈し、6 歳までに死亡する予後不良できわめて稀な疾患群である。

研究分担者がこれまで解析した症例数は平成 25 年 12 月までで計 448 例、XP、CS の新規確定診断症例はそれぞれ 136 例、6 例、XP/CS の新規確定診断症例は 3 例となった。また XP、CS では多くの場合表現型・遺伝型関連がみられる。

本邦では XP neurological disease である XPA 群患者が多く、最近では CS 患者も増加している。これらの患者に対しては、神経症状の定期的評価のために CT など放射線を用いた検査を頻用するが、これまでの多くの報告、研究では、XP、CS 患者細胞では放射線感受性は正常レベルであるとされてきた。

電離放射線照射により細胞内に DNA 二重鎖切断（DSBs）が生じた場合、その周辺の DNA 領域では活性化 ATM を介してヒストン H2AX の 139 番目のセ

リンがリン酸化 (γ -H2AX) されることはよく知られている。そこで今回、放射線照射で形成される2本鎖切断後の修復応答を γ -H2AX を指標として、XP あるいは CS 細胞を用いて検討し、紫外線感受性に加えて、放射線感受性も同時に検討した。

B. 研究方法

研究分担者が自ら確定診断して保持している患者由来線維芽細胞を材料とした。XP 細胞3系統 (すべて XPA 群)、CS 細胞6系統、XP/CS complex 細胞2系統 (XPD/CS、XPG/CS 各1系統)、正常細胞3系統、AT 細胞1系統 (放射線高感受性のコントロール) を実験に使用した。チャンバーに播種後、放射線を照射し (超軟X線検査装置、SOFTEX)、0~4時間に各細胞を抗 γ -H2AX抗体 (05-636: millipore) で蛍光染色し、レーザー顕微鏡 (Zeiss LSM500 META) により γ -H2AX 陽性の foci をカウントした。

(倫理面への配慮)

今回の研究の内容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、各細胞はすべてコード化され、連結可能匿名化して取り扱った。個人患者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、もしくは細胞バンクで購入したものである。

C. 研究結果

XP 細胞 (図2) では放射線照射後0~4時間後のタイムコースにおいて、細胞内 γ -H2AX形成能は正常細胞 (図1) と差がなく、放射線曝露後の修復応答能力は初期段階では正常レベルだと考えられた。一方、CS では多くて多くの細胞で (図4)、正常細胞に比べ γ -H2AX 形成能に異常 (低下) が見られた。XP/CS complex 細胞 (図3) ではXP細胞類似の正常な動態を示した。CS細胞での修復応答はCSA、CSBで差異はなく、表現型・遺伝型のパラドックス相関に compatible に異常が強くみられた。

図1~4: 縦軸は細胞核内の focus 数、横軸は放射線照射後の時間を示す)

D. 考察

臨床の場においてXP、CS患者に対してはCTな

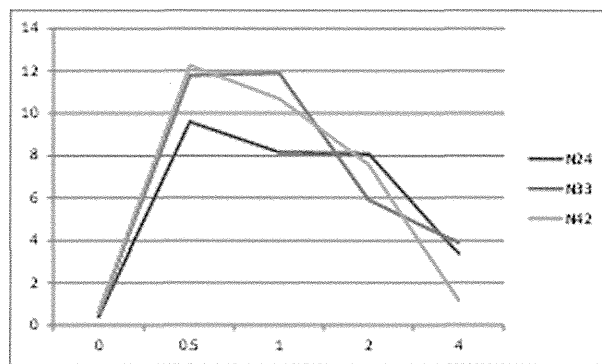


図1 正常細胞

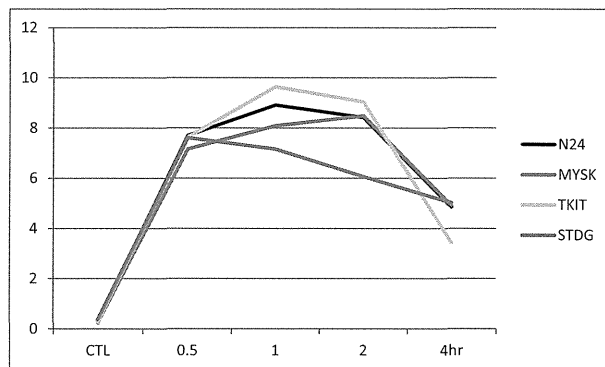


図2 XP細胞

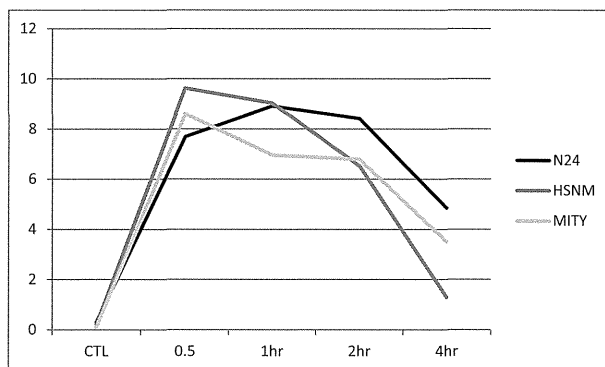


図3 XP/CS complex細胞

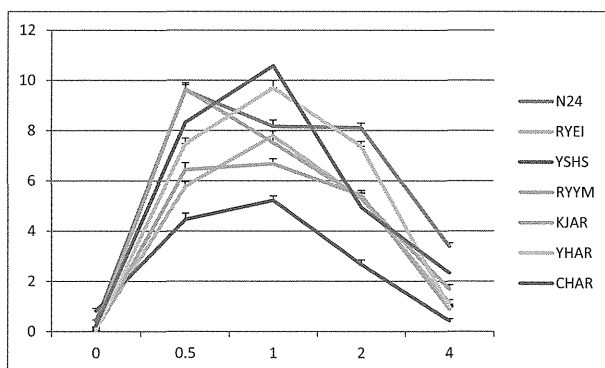


図4 CS細胞

ど定期的に放射線等を用いた各種検査が実施されている。今後DSBsを誘発する他の各種変異源を用いたさらなる検討が必要であるが、今回の結果は、XP、XP/CS complex 患者では放射線を用いた検査や合併した腫瘍に対する放射線療法は問題ないと考えられるが、CS患者における放射線の安全性に関しては、その是非は慎重に判断すべきかと考える。

また、CSにおける放射線感受性という表現型と遺伝型の関連から、CS患者の遺伝子解析の結果で放射線照射後の修復応答を予測できる可能性を示唆する。ただ、なぜCS細胞でこのような結果が得られたか、ATM活性化の違いなど機序の解明は今後の重要な課題である。

E. 結論

放射線を用いた検査や治療は、XP遺伝子に変異のある患者では問題ないと考えられるが、CSAあるいはCSBに変異のあるCS患者では、遺伝型によってはリスクがある可能性がある。今後のさらなる詳細な解析が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(英文)

- 1) Moriwaki S Hereditary disorders with deficient repair of UV-induced DNA damage Jpn Clin Med, 4:29-35, 2013
- 2) Kokunai Y, Tsuji M, Yuko Ito Y, Kurokawa T, Otsuki K, Moriwaki S Immunohistochemical analysis of O6-methylguanine-DNA methyltransferase in human skin tumor, Medical Molecular Morphology, in press
- 3) Brooks BP, Thompson AH, Bishop RJ, Clayton JA, Chan CC, Tsilou ET, Zein WM, Tamura D, Khan SG, Ueda T, Boyle J, Oh KS, moto K, Inui H, Moriwaki SI, Emmert S, Iliff NT, Bradford P, Digiovanna JJ, Kraemer KH. Ocular Manifestations of Xeroderma Pigmentosum: Long-Term Follow-up Highlights the Role of DNA Repair in Protection from Sun Damage. Ophthalmology. 120:1324-1336, 2013
- 4) Imoto K, Nadem C, Moriwaki S, Nishigori C, Oh KS, Sikandar G, Khan SG, Goldstein AM,

K Kraemer KH Ancient origin of a Japanese xeroderma pigmentosum founder mutation J Derm Sci 69:175-176, 2013

(邦文著書)

- 1) 森脇真一 光線力学療法 光と生命の事典(朝倉書店) 印刷中
- 2) 森脇真一 こどもの異常な日焼け診断の決め手:色素性乾皮症を疑うべきかの解決法は? 苦手な外来皮膚疾患100の解決法~そのとき達人はどのように苦手皮膚疾患を克服したか?~(メディカルレビュー社)印刷中
- 3) 森脇真一 光線力学治療(PDT)の皮膚科への応用 一冊でわかる最新皮膚科治療 皮膚科サブスペシャリティシリーズ第7巻(文光堂) pp211-pp214, 2013
- 4) 森脇真一 コケイン症候群 忘れてはならない皮膚科症候群 p102-105 皮膚科臨床アセット20(中山書店), 2013
- 5) 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 p304-307, 2013 (メディカルレビュー社)

(邦文論文)

- 1) 森脇真一 総説 光線過敏症~確定診断へのアプローチ~ 皮膚科の臨床 印刷中
- 2) 森脇真一 総説 光線過敏を疑う皮膚症状 Visual Dermatology 12:424-427, 2013
- 3) 森脇真一 皮膚老化~「DNA修復」からみた考察 日本美容皮膚科学会雑誌 23:117-123, 2013
- 4) 吉森千夏、落合豊子、松浦大輔、桑原京介、森脇真一 レーザー治療を希望して来院した色素性乾皮症バリエーション 皮膚臨床 55:777-781, 2013
- 5) 森脇真一 宿主因子(遺伝性疾患、移植患者)皮膚悪性腫瘍—基礎と臨床の最新研究動向— p441-445, 2013(日本臨床)
- 6) 森脇真一 サンスクリーンと子供の肌 小児皮膚科学会雑誌 32:181-182, 2013
- 7) 森脇真一 光線過敏症~分類と確定診断へのアプローチ~ 日本皮膚科学会雑誌 123:2938-2939, 2013

2. 学会発表

- 1) 森脇真一 太陽紫外線環境に生きる~色素性乾

- 皮膚から学んだこと～第4回生駒山皮膚疾患研究会 平成25年3月14日(大阪)
- 2) 森脇真一 QOLを考慮した皮膚科診療～光線過敏症を中心に～ 平成25年3月28日(熊本)
 - 3) Moriwaki S, Makinodan E, Nakazawa Y, Ogi T Adult onset Cockayne syndrome appears in two cases of UV sensitive syndrome with C229T CSB mutation IID2013 May 2013 (Edinburgh, Scotland)
 - 4) 森脇真一 QOLを考慮した皮膚科診療～光線過敏症を中心に 第4回栃木皮膚疾患セミナー 平成25年5月23日(宇都宮)
 - 5) 森脇真一 皮膚科領域の遺伝医療 Part 1 平成25年第4回京大遺伝合同カンファレンス、ミニレクチャー 平成25年5月23日(京都)
 - 6) 森脇真一 分子からみた色素性乾皮症、コケイン症候群の病態 シンポジウム「DNA修復障害と神経変性」第55回日本小児神経学会学術集会 平成25年5月30日(大分)
 - 7) 森脇真一 QOLを考慮した皮膚科診療～光線療法を中心に～ 東海皮膚科治療勉強会2013 平成25年6月8日(名古屋)
 - 8) 兪明寿、穀内康人、黒川晃夫、森脇真一 日光角化症患者における臨床・病理組織学的特徴とイミキモド外用治療効果の関連性に関する検討」第112回日本皮膚科学会総会 平成25年6月15日(横浜)
 - 9) 森脇真一 教育講演「光線過敏症UPDATE」光線過敏症～分類と確定診断へのアプローチ～ 第112回日本皮膚科学会総会 平成25年6月16日(横浜)
 - 10) 森脇真一 太陽紫外線と皮膚がん；最近の話題 スイーツセミナー 第35回日本光医学・光生物学会 平成25年7月12日(浜松)
 - 11) 牧之段恵里、森脇真一、近藤大喜、中沢由華、萩朋男 色素性乾皮症の極めて稀な病型；XP/CS complex の本邦3症例 第35回日本光医学・光生物学会 平成25年7月12日(浜松)
 - 12) 森脇真一 ヒトは太陽紫外線でどうして老化するのか？～分子、細胞からの考察～ モーニングセミナー 第14回光老化研究会 平成25年8月30日(前橋)
 - 13) 桑原晶子、津川尚子、田中清、岡野登志夫、森脇真一 日照機会の乏しい対象者におけるビタミンD必要量の検討—色素性乾皮症(XP)患者を対象とした検討— 第15回骨粗鬆症学会 平成25年10月11日(大阪)
 - 14) 森脇真一 症例から学ぶ光皮膚科学：最近の知見 第2回南大阪DERMA懇話会 平成25年10月26日(大阪)
 - 15) 森脇真一 教育講演 小児光線過敏症のQuality Indicator 第64回日本皮膚科学会中部支部学術大会 平成25年11月3日(名古屋)
 - 16) 森脇真一 日光角化症 update：病態から治療まで 北摂ベセルナ講演会 平成25年12月19日(吹田)

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

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表