

<総 説>

分子のレベルで脳の病気を考える
—こどもの脳を守る小児神経学—

鈴木 義之*

要 旨

分子遺伝学という新しい分析手法を取り入れた遺伝子医学は、古典的な小児神経学の考え方を变え、臨床の場における発達障害や神経疾患の診療内容・研究方向に大きな影響を与えている。その方法論はこれまでと全く異なった診断技術を生み出し、多くの未知の病気の病態や原因を解明してきた。ただし、分子レベルでの研究だけでは脳という複雑な情報システムを理解し、患者個体レベルでの病気の全体像をとらえることはできない。分子と個体の間に存在する、いわばブラックボックスを明らかにすることが、神経遺伝病をはじめとする多くの小児神経疾患の治療・予防につながるはずである。そのためにはどうしてもモデル動物による病態解明や治療のこころみが必要である。小児神経学における研究・診療は今後急速に変化し、患者診断や予防・治療に新しい見方や考え方を生み出すであろう。

キーワード：小児神経学、分子遺伝学、遺伝子診断、神経遺伝病、疾患モデル動物

I. 小児神経疾患の原因を求めて

小児神経学があつかう病気の種類は極めて多い。ヒト個体発生の途中におこった脳障害すべてが対象になる。その多くは発達障害と表現することが可能である。一般に患者診断に際し、精神遅滞、脳性まひ、てんかんや筋ジストロフィーなど、臨床症状をそのまま病名あるいは症候群として記載することも多い。病理学的所見を記載すれば、核黄疸、滑脳症、白質ジストロフィーなどの病名となる。現在では画像解析法によりこれらの形態異常を詳細に観察することができる。そして生理学的知見の積みかさねにより、神経リハビリテーションという臨床的アプローチが生まれ、多くの患者の訓練治療がおこなわれている。

しかしこのレベルでの観察だけでは病気の真の原因を知り、それに対処する手段を開発することはできない。20世紀後半になって、生化学的・分子遺伝学的手法のいちじるしい進歩がそのまま医学研究にとり入れられ、全く新しい病因分析法、診断法が開発された。たとえば種々の化合物を分離同定するクロマトグラフィー法をとってみると、アミノ酸カラムクロマトグラフィー自動分析装置として病院・検査室に普及するとともに、フェニルケトン尿症をはじめとするアミノ酸代謝異常症の診断確定に大きな役割を果たした。他方、薄層クロマトグラフィーは脂質・糖質代謝異常症の発見・診

断に重要な検査手段となった。これらは単に診断だけでなく病気の原因究明、治療法開発の研究につながった。そして遺伝病の大部分がなんらかの代謝異常、すなわちある酵素のはたらきが先天的に失われた状態（酵素欠損症）であることが確認された。さらに多くの小児神経疾患には遺伝的素因の関与が大きいことがあきらかにされた。

II. 分子遺伝学とは

生化学的手法とともに、今世紀後半に飛躍的な発展をとげたのが分子遺伝学である。遺伝子は遺伝現象を制御する高分子核酸化合物（DNA）である。19世紀中ごろにメンデルの法則が発表され、いったんは忘れられていたが、20世紀に入ってからいわゆる「再発見」という出来事をきっかけにして、今世紀前半には遺伝現象の解析が多くの生物学者により研究され、遺伝学が確立された。

その経過中、蛋白質をはじめいくつかの遺伝現象をつかさどる物質として考えられたが、1940年代になってDNAが遺伝子であることが肺炎双球菌をもちいた実験で確認された。そして、1953年にワトソンとクリックにより遺伝子の三次元構造の分子モデル（二重らせん）が発表されて以来、われわれの細胞の核に存在する遺伝子を直接分析するための多くの方法が工夫され

所 属： *国際医療福祉大学 臨床医学研究センター（小児神経学）

受 付： 2000年4月14日

NCBI GenBank

OMIM Statistics for February 21, 2000

Total gene map loci: 5923

AM Entries: 11230

Established Gene Locus (#): 7955
Phenotype Descriptions (#): 725
Other Entries (): 2550

Autosomal Entries: 10512

Established Gene Locus (#): 7480
Phenotype Descriptions (#): 652
Other Entries (): 2380

X-Linked Entries: 620

Established Gene Locus (#): 403
Phenotype Descriptions (#): 50
Other Entries (): 167

Y-Linked Entries: 38

Established Gene Locus (#): 35
Phenotype Descriptions (#): 0
Other Entries (): 3

Mitochondrial Entries: 80

Established Gene Locus (#): 37
Phenotype Descriptions (#): 23

chromosome 1: 584
chromosome 2: 362
chromosome 3: 300
chromosome 4: 242
chromosome 5: 245
chromosome 6: 367
chromosome 7: 281
chromosome 8: 201
chromosome 9: 228
chromosome 10: 205
chromosome 11: 380
chromosome 12: 326
chromosome 13: 94
chromosome 14: 181
chromosome 15: 156
chromosome 16: 228
chromosome 17: 356
chromosome 18: 87
chromosome 19: 348
chromosome 20: 130
chromosome 21: 88
chromosome 22: 134
chromosome X: 365
chromosome Y: 24

Number of Entries in *Mendelian Inheritance in Man*

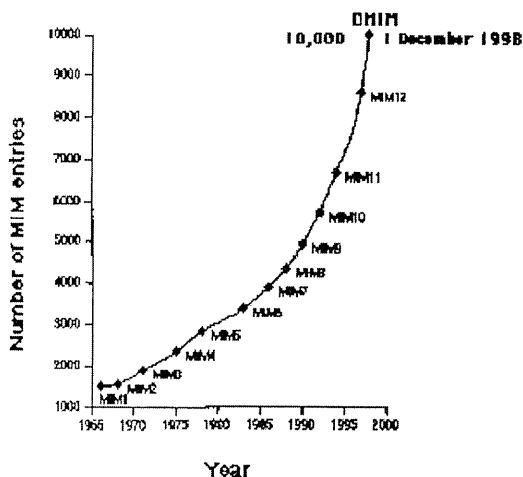


図1 遺伝子病の数とその変遷

遺伝子バンクホームページより、2000年2月23日にダウンロードした。1998年12月1日に登録疾患数が10,000となり、以後更に急速に疾患数が増加している。このデータは遺伝病カタログ(文献1)として定期的に印刷発行されている。

た。

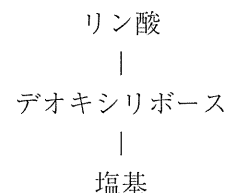
20世紀後半には2つの大きな情報革命が起こり、我々の生活やものの考え方を大きく変えつつある。そのひとつがコンピュータによる情報処理システムの革命であり、もうひとつが生命体における遺伝子情報システムの分析と応用面での革命である。いまやともに生命現象を扱い分析するには不可欠な知識・手段・材料である。実際、遺伝子生物学の急速な発展は臨床医学の考え方、分析方法に革命的な変化をもたらした。そし

てわが国でも過去15年ほどの間に、遺伝子医学が実際に診療上の手技として広く採用され、ある種の疾患には診断上欠くことのできない検査法として確立された。

このように、遺伝子の理解は比較的最近になって急速に進んできた関係上、医師にとってもその進歩の最先端を理解しながらついて行くことは容易でない。発達障害という現象は看護、リハビリテーション、心理、福祉、行政など、患者を個体としあつかい、あるいは医学の周囲から観察しアプローチを行っている専門家にとっては、まったく違った世界のできごとと感ぜられるかもしれない。専門家に要求される詳細な技術や知識がすべての関係者に必須ではないが、その基本原理を理解することは、小児神経疾患患児が表現している臨床像や発生病理の理解につながるし、運動障害や知能障害に対して積極的なアプローチを考えるのにいまや不可欠の概念である。2000年2月現在、すでに11,000以上の遺伝病のカタログがあり、常に更新されてインターネット上でその動きを知ることができる(図1)。参考のためにこの分野の書物をいくつかあげておく¹⁻⁴⁾。

Ⅲ. 遺伝子の構造と機能

DNAは以下の構造単位からなる。



その塩基部分には、アデニン(A)やグアニン(G)というプリン塩基、チミン(T)やシトシン(C)というピリミジン塩基のひとつがそれぞれの単位として存在する。この高分子核酸化合物は、われわれが日常観察する遺伝現象の基本的な物質である。DNAの二重らせんの一方は蛋白質のアミノ酸配列をきめるための鋳型情報を内在しており、他方はそれに相補的な構造をもつ。この鋳型構造がRNAという類似の構造をもつ別の核酸に「転写」される。RNAはデオキシリボースのかわりにリボースが、チミンのかわりにウリジン(U)が入った構造をもち、この情報が分子構造がまったく異なる蛋白質に「翻訳」される(図2)。

ただしDNAの構造がすべて蛋白質に翻訳されるわけではない。DNAの塩基配列はそのまま対応するRNAの塩基配列に文字どおり転写されるが、このRNAはその構造の一部(イントロン)が切り取られ、蛋白質に翻訳される塩基構造配列(エキソン)のみがメッ

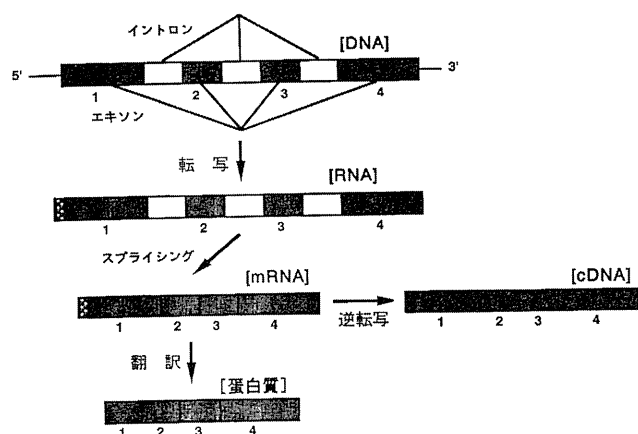


図2 遺伝子の転写と翻訳

遺伝子DNAは転写によりRNAに変換され、その一部はイントロン（白い部分）として切り取られて（スプライシング）メッセンジャーRNA（mRNA）となる。細胞内ではそのまま蛋白質合成に使われるが、試験管内で逆転写酵素を用いてイントロン部分を欠くDNA（cDNA：相補的遺伝子）を合成できる。

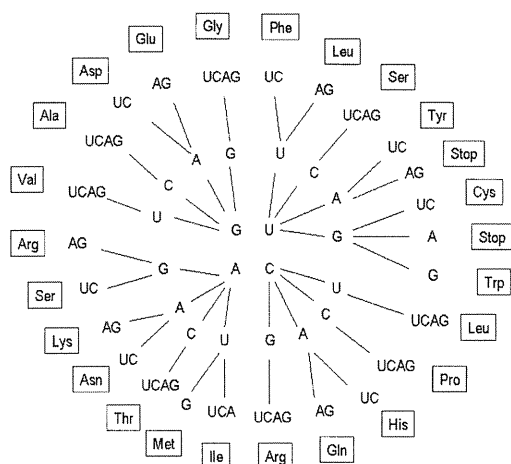


図3 遺伝子コード表

コドンは中心から外側に向かって1番、2番、3番の順に並ぶ。その外側に対応するアミノ酸を示す。Ala：アラニン、Arg：アルギニン、Asn：アスパラギン、Asp：アスパラギン酸、Cys：システイン、Gln：グルタミン、Glu：グルタミン酸、Gly：グリシン、His：ヒスチジン、Ile：イソロイシン、Leu：ロイシン、Lys：リジン、Met：メチオニン、Phe：フェニルアラニン、Pro：プロリン、Ser：セリン、Stop：終止コドン、Thr：スレオニン、Trp：トリプトファン、Tyr：チロシン、Val：バリン

センジャーRNA（mRNA）として最終的に蛋白質の鋳型となる（図2）。

RNAの3つの塩基の組み合わせ（コドン）がひとつのアミノ酸を決定する（図3）。生体にある20種のアミノ酸を決定する塩基の組み合わせは複数存在する。つまりアミノ酸配列の決定は特異性をもつが柔軟性があり、例えば1つの塩基が異なっても同じアミノ酸を

決定することができる。メチオニンをコードするAUGというシグナルが読みとり開始のコドンとなり、UAAなどのコドンで終了する（終止コドン）。

遺伝子は染色体として高度に折りたたまれた長い核酸の糸の一部として存在する。いわゆる機能を持った遺伝子の間には、存在意義が現在不明の塩基配列が多数存在する。それらが全く無意味な存在なのか、それとも予想外の機能発現や機能制御にかかわりのある配列があるのかわかってない。近い将来ゲノムプロジェクトの成果が明らかにしてくれるであろう。

遺伝子とよばれるDNAの機能単位は特異的な塩基配列を持つ。4種の塩基がその特異性を決定する。二重らせんの一对の塩基対の組み合わせは、AとT、CとGが厳密に対応している。たとえば分子としては比較的小さな100アミノ酸を持つ蛋白質を作るためには、エキソンが300塩基対（base pair; bp）でなければならない。その配列は、計算上4の300乗という膨大な組み合わせが可能である。つまり遺伝子の塩基配列はきわめて特異的であり、5万あるいは10万とも予想されるヒトの遺伝子はそれぞれ異なった塩基配列をもつ。おなじ機能の遺伝子でも、生物種ごとに塩基配列が異なる。ただし重要な機能発現の領域（機能ドメイン）には共通な構造（塩基配列の相同性）がみられる。

蛋白質はわれわれの身体の細胞内、あるいは細胞間や体液の中で多くの機能分子として、細胞の機能つまり生命の維持のためにはたらいている。つまり遺伝子の構造は、最終的には蛋白質の機能発現の制御にかかわる。その意味で、分子遺伝学は遺伝子だけでなく蛋白質分子をも対象とする研究分野ということである。

IV. 遺伝子分析の臨床的意義

これらの特異的な構造の分析法の開発のために、過去30年あまりの間、いくつかの重要な発見・工夫がなされた（表1）。これらをまとめると、DNAの切り貼り、微量試料の増幅、そして塩基配列の分析ということになる。また一般にはDNA→RNAという方向への変換が行われるが、mRNAから逆に遺伝子のエキソンのみの配列を持った人工的なDNA（相補的DNA；cDNA）を合成する酵素が発見され、分析に使うことができるようになった。臨床医学、特に小児医学領域では微量の臨床検体処理が要求されることが多いので、PCR（ポリメラーゼ連鎖反応；polymerase chain reaction）による増幅法の開発は特に意味のある出来事であった。現在はすでに多くの試薬がキット化され、自動分析器も販売されており、これらを組み合わせることによって、一般病院や検査室でも分析ができる。

表1 遺伝子分析の技術的発展

- 1) 制限酵素による遺伝子の特異的切断
Smith and Wilcox (1970)
- 2) DNAリガーゼによる遺伝子組換え
Jackson et al (1972); Cohen et al (1973)
- 3) 逆転写酵素によるcDNAの合成
Baltimore (1970); Temin and Sizutani (1970)
- 4) DNA塩基配列の直接分析
Maxam and Gilbert (1977); Sanger et al (1977)
- 5) PCR増幅法の開発
Mullis et al (1986)

ある個体の細胞をつかって遺伝子分析をおこなうことにはいくつかの異なる意味がある。

第1に、親子関係とか、犯人の同定というような、本来その個人がもっている遺伝子の構造を確認し、個体を識別することである。法医学や犯罪学などで特定の個人の同定のために、指紋や血液型と同じレベルで使われる。

第2に、ある個人の身体の一部の組織や細胞で遺伝子構造が変化し病気をおこした原因をしらべることである。腫瘍細胞（特に悪性腫瘍）の性質を知り、その発生原因を追及する目的に使われる。特定の遺伝子の変化が、そのまま診断に利用されることもある。

第3に、その個人のすべての体細胞で1つの遺伝子が増殖をおこし、遺伝病として表現される場合である。この場合原則として、その個体の遺伝子情報のセットはどの細胞でもおなじである。したがって脳の病気でも血液細胞やほかの組織の細胞に同じ変化が存在する。

第4に、本来ヒトの個体に存在しないDNAの存在を確認し、外来性の生物体の感染を診断することである。例えばこれまでは結核菌の感染を証明するには、喀痰や胃液などの培養により数週間かけて病原菌を培養する必要があったが、最近では患者の組織や体液に存在する結核菌の遺伝子を高感度PCR法で確認することにより、検査時間が大幅に短縮された。

これらのアプローチは我々の日常診療にもすでにとり入れられ、白血病や遺伝病の診断、細菌やウイルス感染症の診断や治療効果のモニタリングにつかわれる。すでに基礎医学の研究室でおこなう特殊な研究の片手間の分析・検査の時期をすぎて、病院検査室や検査センターでのルーチン検査として利用される。

筆者はこれらの中でおもに第3の側面からいくつかの遺伝病を扱ってきた。特に β -ガラクトシダーゼ欠損を示す遺伝性疾患（ β -ガラクトシドーシス）の発生病理、酵素活性発現の制御機構の解析を蛋白質と遺伝子のレベルで順に解析を進めた。これは特殊な糖脂質ガングリオシド G_{M1} が脳を中心に異常に蓄積し乳児期に発症する G_{M1} -ガングリオシドーシスに代表され

る疾患群である⁵⁾。しかし稀には幼児期、成人にやや異なった脳の病気としてあらわれ、さらには骨格系のみに発現する病型もある。まずこの酵素の遺伝子cDNAのクローニングを行い⁶⁾、その変異解析により遺伝子と表現型発現の関係を明らかにすることができた^{7, 8)}。以下にこの経験例をひとつのモデルとして解説をすすめる。

V. 遺伝病の遺伝子診断

最近、遺伝子診断や遺伝子治療という言葉がマスコミでもよくとりあげられる。感染症の診断原理は、本来ヒトとしてその個体がもっていないDNA構造を検出することである。しかしこの場合は、いわゆる遺伝子診断という言葉の響きとは少し異なっていると筆者は感じている。腫瘍細胞のDNA分析もむしろ診断された細胞の病態を知る目的が大きく、診断を確定するには他のこれまでに確立された方法によっておこなわれているようである。

小児神経疾患には感染症もある。実際、胎児期ウイルス感染症をPCR法により診断することもある。しかし一般にはいわゆる遺伝病を考慮することが多い。そこで遺伝病の遺伝子診断という意味ですこし考えてみる。これには2つの意味がある。ある原因不明の病気をもった患者自身の診断を目的に分析する場合と、すでに診断が確定している患者の家族におなじ病気の遺伝子（変異遺伝子）が存在する可能性をしらべる場合である。

いわゆるメンデルの法則にしたがう優性遺伝病では、病気の遺伝子が1つあれば発症する。しかし劣性遺伝病では、病気の遺伝子が1つだけ存在しても、みかけ上は正常である。ただしその子孫に変異遺伝子をつたえることにより、次の世代に病気の患者を作りだす危険性がある。いわゆる常染色体劣性遺伝病では、すでに発症した患者の両親は、原則として1つの変異遺伝子をもっているはずである。この状態をヘテロ接合体（あるいは保因者）という。1対の遺伝子がともに変異をおこし、その情報によってつくられる蛋白質の機能が失われると病気になる。この状態をホモ接合体という。ただしX染色体にある遺伝子については状況は異なる。男性は1本、女性は2本の染色体を持つ関係上、男性のX染色体遺伝子に変異が生ずると、それがそのまま病気としてでてしまう（ヘミ接合体）。女性については優性または劣性遺伝という考え方があてはまるが、この関係がはっきりしない病気も少なくない。

患者の遺伝子診断とはある特定の遺伝子に疾患特異的な構造の変化（遺伝子変異）を見つけることであり、その遺伝子のどこに異常があるかわからないので、

遺伝子の全構造を丁寧にしらべなければならない。自動分析装置や検査キットが開発され、10年前にくらべると分析が楽になった現在でも、この種の分析を多数の患者について実行するには、かなりの時間、労力と費用が必要である。つまり患者自身の遺伝子診断は、現在でもけっして容易でなく、検体採取から一定の短期間内に結果を期待することはできない。

変異遺伝子が患者で同定されている家系での保因者診断については事情が異なる。みかけは健康なそれぞれの個体について、おなじ異常が存在するかどうかを調べればよい。詳細は述べないが、いくつか簡便な方法が工夫されている。

VI. 遺伝子診断と生化学的診断

最近では遺伝子診断がもてはやされているが、従来おこなわれてきた生化学的診断法の存在も忘れてはならない。両者にはそれぞれの得失があり、よく考えて選択する必要がある(表2)。

まず生化学的分析の大部分が現象の観察(機能分析)であるのに対し、遺伝子分析は構造分析であることを強調したい。酵素欠損症における酵素活性の低下や欠損、あるいはウィルソン病における銅代謝の変化などはそれ自体、患者の診断につながる。ところが遺伝子を分析して診断しようとする、ある家系の発端者に特有のDNA構造の変化が病気の直接の原因であることの確認が必要である。

ある遺伝子にこれまでの記載と異なった塩基配列が発見されたとしても、表1に示したように、それがアミノ酸のちがいとして表現されるとはかぎらない。また、異なったアミノ酸に置換されたとしても、蛋白質分子の機能には影響がない「中性多型」の可能性もある。ある生物種(例えばヒト)の個体遺伝子の塩基配列がすべて同じとはかぎらない。蛋白質の機能に影響のない個体差が存在するということである。この個体差が、上述の法医学的あるいはそれ以外の目的の個体の識別につかわれる。そして病気の遺伝子分析にあたっては、家系ごとに変異が異なることを前提として診断操作をすすめる。そこに構造分析としての遺伝子分析の限界がある。

従来の生化学的分析では、もし適当な材料さえ入手できれば、すべての患者をほぼ確実に診断することができた。患者は、正常人集団とはかけ離れた検査値を示すため、異常を容易に認識することができた。しかしながら生化学的な保因者診断はかならずしも確実でない。正常人集団のデータとのかさなりが避けられないからである。つまり個体差によるばらつきと、変異遺伝子の存在による部分的機能障害との境が明確でな

表2 生化学的診断法と遺伝子診断法の比較

	生化学的診断法	遺伝子診断法
診断対象	患者・保因者	保因者(患者)
診断の精度	時に不明確	明確
分析方法	一般的	個別的
検体の安定性	時に不安定	安定
試料の選択	必要(疾患特異的)	有核細胞

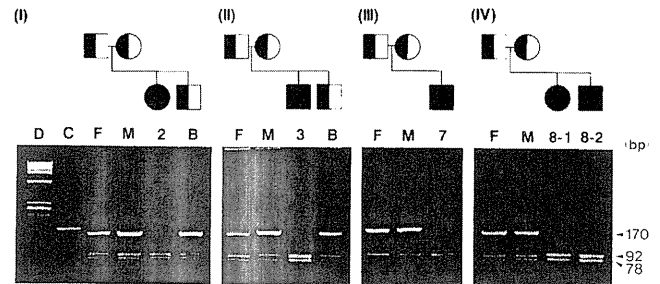


図4 制限酵素解析による成人型GM1-ガングリオシドーシスの患者診断と家族検索

家系図の下図が遺伝子の一部を増幅・制限酵素処理したあと、消化産物を電気泳動で分離した結果を示す。患者(黒: 2, 3, 7, 8)は92+78のバンドのみを、ヘテロ接合体(白黒: F, M)は170と92+78のバンドの両方を持っていることが示された。正常人は泳動パターン左端から2番目(C)のように、170のバンドのみを示した。4家系とも両親が保因者であり、家系I、IIにおいて発端者の弟(B)は保因者であることが確認された。家系IVは同胞発症例。文献9より引用。

いということである。

それに対して遺伝子診断の結果は明確である。無症状の保因者も確実に診断できる。一例として、我々が実際に行った成人型GM1-ガングリオシドーシス家系⁹⁾について示す(図4)。日本人に多い成人型症例にはI 5 1 Tという共通な変異がすべての家系の患者に同定された。そこでこの構造異常が存在する遺伝子領域のDNA断片をPCR法により増幅したあと、Bsu36Iという制限酵素で消化し、電気泳動によりDNAサイズを測定した。この変異があると酵素により切断され、正常人とはちがった小さなサイズのDNAが2つのバンドとして出現する。図4では4家系の保因者を確実に診断できた。この操作はDNAの塩基配列を直接分析するよりもずっと簡単で、臨床診断に応用することができた。

分析にもちいる材料にもちがいがある。フェニルケトン尿症の欠損酵素は事実上肝臓のみに発現しており、血液細胞など臨床材料をもちいた診断はできないが、遺伝子分析はどんな有核細胞でも可能である。つまり

脳や内臓など、特定の組織のみの病気であっても白血球などの血液細胞で診断が可能である。ただし成熟赤血球には核がないので使うことができない。

また蛋白質を分析するには、検体の保存や測定条件など、変性や失活などデータに影響を与える因子を考慮する必要があるのに対し、DNAは安定な化合物であり、このような配慮の必要性は少ない。DNAの抽出の最初のステップですでにクロロホルムやフェノールなど、細胞や蛋白質を変性させる有機溶媒を使っており、いったん抽出精製したあとは安定である。

このように、それぞれの測定にともなういくつかの条件を勘案しながら分析法をえらぶべきである。遺伝子分析はたしかに新しいよい方法ではあるが、限界もあることを理解しておかねばならない。

VII. 神経遺伝病における遺伝子分析

一般に遺伝病の診療には臨床症状の観察とともに、臨床経過を考慮する。奇形症候群や重度の脳障害をもった症例では、病気の進行性がかならずしも明らかでないこともあるが、遺伝病の機能障害は多くの場合進行性である。

乳児期のように神経系の機能の発達がいちじるしい時期には、本来進行性の病気であっても進行がめだたないこともある。しかしこの進行性という現象は、極端な場合には脳変性疾患と表現されるように、乳児期でも、それまでに獲得した機能をすみやかに失うことも珍しくない。この時間的なパラメータを見逃すと、脳性まひ、てんかんなど、よく経験する病気として処理されてしまうおそれがある。小児神経疾患の遺伝性要因に対する分子遺伝学的アプローチに際しては、絶対的な条件ではないにしても、この点を1つの重要なポイントとして考慮すべきである。

逆に遺伝病という集団から眺めた場合、現在記載されている11,000あまりの病気のなかで、少なくとも3分の2以上の症例になんらかの脳障害をおこすという事実がある。また遺伝病のみならず、胎生期の感染症の後遺症にしても、微量のウイルスDNAを検出するには分子遺伝学的手法に頼るほかない。

このように既知の疾患の検索に分子遺伝学的方法是威力を発揮する。また原因不明の遺伝性疾患には別の遺伝学的分析法がある。ある病気が多発する家系で感染症その他の一般的な病気が除外されれば、遺伝性疾患の可能性を第一に考えるであろう。そこで、その病気の個体と染色体上のいろいろな位置にあることが分っているDNA多型との連鎖をしらべ、病気の遺伝子が存在する位置を決定することができる(連鎖解析)。

VIII. 神経遺伝病の予防・治療

医療の最終目標は正確な診断をもとにした病気の治療・予防である。遺伝子医療の領域での診断技術には急速な進展があった。数は限られているが、病気の患者を診断することができるし、その情報をもとに新しい患者の発生予防や治療がこころみられている。ただしそれぞれの病気の原因を個別的に確定し、診断法を確立する必要がある。

遺伝子治療は難治性の病気に対する新しいアプローチとして、現在注目されているトピックの1つである。アメリカ合衆国を中心に多くの実験的研究がなされている。しかしヒトに対する治療の実験の成果は血液細胞、がん細胞、肝細胞などであり、中枢神経系や筋・骨格系に対しては、まだ大きな成果が得られていない。それぞれの臓器や組織に対する治療も、抗生物質療法とは異なり、個別的な治療実験がなされねばならない。

さらに医療の立場からみて重要なのが、病気の原因や病態の解析である。遺伝病の病態解析は発症予防や治療につながる可能性がある。遺伝性 β -ガラクトシダーゼ欠損症(β -ガラクトシドーシス)は多彩な臨床像を示す疾患群である。上述のように、乳児期に中枢神経系を含む全身病として発病する症例と、脳障害がない小児・成人の全身骨系統疾患とは、臨床的には全く異なる病気である⁵⁾。これらが同じ遺伝子のちがった変異によって発生するとすれば、変異遺伝子が組織特異的に発現する蛋白質の機能をくわしく調べる必要がある。たとえば、ある遺伝子変異にともなってなぜ脳の症状がでてくるのか、言いかえれば、他の変異ではなぜ脳に障害がおこらないのかという疑問を解決する手がかりをあたえるであろう。その成果は発達障害の予防につながる。

現在国際的な規模で進められているヒトゲノムプロジェクトにより、遺伝子情報についての知見が蓄積され、近い将来、より効率のよい分析法とデータ処理法が開発されて、多くの試料の広範かつ包括的な情報が容易に得られる時代が来るであろう。その時期には個体遺伝学のみならず集団遺伝学や疫学的なアプローチも可能になり、現在では予想し得ない新しい視点がでてくるかもしれない。

IX. モデル動物の開発治療実験

ヒトの遺伝病、特に神経遺伝病の分析は詳細におこなわれ、分子レベルでの異常がかなりわかってきた。しかしながら、遺伝子や蛋白質分子をいくら分析しても、上述の β -ガラクトシドーシスという病気において、なぜある特定の遺伝子変異が脳の病気をおこし、他の変異が骨の病気に結びつくのかという基本的な疑

問に対する答は得られない。この疑問に答えるためには臓器・個体での分析をすすめるしかない。そうなるヒト患者を対象にして分析することには限界がある。いわゆる疾患モデル動物は有用な材料であるが、特に自然に発生した遺伝病を見つけるのは容易でない。これまでのところ偶然に発見された病気の動物が多い。そこで我々はこの遺伝子標的破壊(遺伝子組替え)という技術を使いノックアウトマウスという人工的な疾患モデル動物の作製をおこない、分析をすすめている^{10, 11)}。

疾患マウスの出生がはじめて確認されたとき、この個体がいづ発病するかに興味があった。詳細ははぶくが、ヒトとマウスとではかなり生物学的時間がちがうことがわかった。ここでヒトの時間とネズミの時間は、単に受胎から個体死までの寿命の長さだけでなく、個体発生、器官形成、機能発現などさまざまな側面でまったく異なった時間をもつことを経験した。この点についてはいつか「ヒトの時間・マウスの時間」としてなんらかのエッセイあるいは小論文にまとめたいと思っている。

我々も新しい分子治療法の開発を目指した研究をはじめている。遺伝性全身血管病であるファブリー病(α -ガラクトシダーゼ欠損症)の患者の中には、活性を持った酵素分子を発現する変異遺伝子のあること¹²⁾、そして細胞レベルでは基質類似の物質を投与することにより活性が回復することをあきらかにした¹³⁾。特にガラクトースそのものがある程度の効果をもつことがわかったが、培養系ではかなりの濃度が必要であり、その相当量をヒト個体に投与するとガラクトース中毒、つまり遺伝病として知られるガラクトース血症をつくってしまうおそれがあり、個体実験までにはいかなかった。

しかしその後、ガラクトース類似の物質の効果のスクリーニングにより、1-デオキシガラクトノジリマイシンという化合物がいくつもの α -ガラクトシダーゼ変異蛋白質に対して細胞内での活性化効果のあること、そして変異遺伝子をもつトランスジェニックマウス個体にも有効であることがわかった¹⁴⁾。ただしこの病気は中年以後に脳血管障害をおこすものの、神経系病変は存在しないので、いわゆる神経遺伝病のモデルとしては適当でない。

これに対し、遺伝性 β -ガラクトシダーゼ欠損症のある種の遺伝子変異は重篤な脳障害をおこすが、別の変異では脳ではなく骨の病気として発現する病型もある。そこで我々はこれまでに詳細に分析をおこなったいくつかの変異遺伝子⁵⁾のトランスジェニックマウスを作成し、すでに確立したノックアウトマウスとの交

配により、ノックアウト・トランスジェニック個体を作って、 β -ガラクトシダーゼ活性化による新しい治療法の開発をめざしている。これらの特殊な変異酵素蛋白質は、少なくとも培養細胞レベルでは、ガラクトース類似の低分子化合物による活性化効果が確認されており、しかもその分子サイズからみて、血液脳関門の存在は問題にならないと予想される。まず β -ガラクトシダーゼを対象とした開発を試みるが、他の類似疾患、そしてさらに他の神経遺伝病にも対象を広げることにより、一般化できる可能性がある。

X. おわりに

小児神経疾患、とくに小児期に発生する神経遺伝病をどう考えるか、どう対応するかという問題を考え、まとめてみた。「脳の世紀」における小児神経医の役割は、こどもの脳を知り、守ることである。その意味で、21世紀にはこれまでとは違ったさまざまなアプローチが必要になる。障害児に対するケアは必要であるし、欠くことができないが、更に先を考えようとなると、分子から積み上げてきた研究成果を発展させるために、「分子から患者へ」という視点が必要になる。その手段、材料としてさまざまな遺伝子組替え動物が必須の材料となる。ただしこの過程で、特にヒト個体を対象とする場合には、倫理的側面を十分に配慮した研究計画が必要である。本稿ではこの点についてはふれる余裕がないので別の機会にゆずる。

小児神経学は神経科学の「脳を守る」という立場の中では最も複雑でダイナミックな現象を扱う学問領域であり臨床医学である。病気の種類は多く、病因・病態も多様である。21世紀には我々小児科医、小児神経科医がこの最も重要でおもしろい「こどもの脳を守る」研究を多角的にすすめ、大きな成果をあげて医学生物学に貢献する義務があると筆者は考えている。もちろんそのためにはこの方向への組織・体制の整備や研究費の投入が必要であることはいうまでもない。

【文献】

- 1) McKusick, V.A. Mendelian Inheritance in Man. A Catalog of Human Genes and Genetic Disorders, 12th ed. Johns Hopkins Univ Press, Baltimore (1998).
- 2) Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S., et al., ed. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th ed, McGraw-Hill, New York (2001).
- 3) 垂井清一郎、多田啓也(編). 遺伝子病マニュアル. Molecular Medicine, 32(臨時増刊)、中山

- 書店 (1995) .
- 4) 古庄敏行、井村裕夫 (編). 臨床DNA診断法. 金原出版 (1995) .
 - 5) Suzuki, Y., Oshima, A., Nanba E. β -Galactosidase deficiency (β -galactosidosis): G_{M1} -Gangliosidosis and Morquio B disease. Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S., et al., eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th ed, McGraw-Hill, New York, 3775-3809 (2001).
 - 6) Oshima, A., Tsuji, A., Nagao, Y., et al. Cloning, sequencing, and expression of cDNA for human β -galactosidase. Biochem. Biophys. Res. Commun. 157, 238-244 (1988).
 - 7) Yoshida, K., Oshima, A., Shimmoto, M., et al. Human β -galactosidase gene mutations in G_{M1} -gangliosidosis: A common mutation among Japanese adult/chronic cases. Am. J. Hum. Genet. 49, 435-442 (1991).
 - 8) Oshima, A., Yoshida, K., Shimmoto, M., et al. Human β -galactosidase gene mutations in Morquio B disease. Am. J. Hum. Genet. 49, 1091-1093 (1991).
 - 9) Yoshida, K., Oshima, A., Sakuraba, H., et al. G_{M1} -gangliosidosis in adults: Clinical and molecular analysis of sixteen Japanese patients. Ann. Neurol., 31, 328-332 (1992).
 - 10) Matsuda, J., Suzuki, O., Oshima, A., et al. Neurological manifestations of knockout mice with β -galactosidase deficiency. Brain Dev. 19, 19-20 (1997).
 - 11) Matsuda, J., Suzuki, O., Oshima, A., et al. β -Galactosidase-deficient mouse as an animal model for G_{M1} -gangliosidosis. Glycoconjugate J. 14, 729-736 (1997).
 - 12) Ishii, S., Kase, R., Sakuraba, H., et al. Characterization of a mutant α -galactosidase gene product for the late-onset cardiac form of Fabry disease. Biochem. Biophys. Res. Commun. 197, 1585-1589 (1993).
 - 13) Okumiya, T., Ishii, S., Takenaka, T., et al. Galactose stabilizes various missense mutants of α -galactosidase in Fabry disease. Biochem. Biophys. Res. Commun. 214, 1219-1224 (1995).
 - 14) Fan, J.Q., Ishii, S., Asano, N., et al.

Accelerating transport and maturation of lysosomal α -galactosidase A in Fabry lymphoblasts by an enzyme inhibitor. Nature Med. 5, 112-115 (1999).

〈後記〉

2001年7月1日校正時の遺伝病の登録数は12,756となっていた。

Molecular Approaches to the Genetic Diseases Affecting the Developing Brain

Yoshiyuki Suzuki, M.D.*

*Nasu Institute for Developmental Disabilities, Clinical Research Center,
International University of Health and Welfare

ABSTRACT

Recent progress of molecular genetic techniques has changed drastically clinical practice and scientific research in child neurology. This new methodology has developed a completely new concept in the diagnosis of developmental disabilities and various neurogenetic diseases in children. However, molecular analysis alone cannot disclose an extremely complex network system of the human central nervous system under physiological or pathological conditions. There is a kind of huge black box between the levels of the molecule and patient. Detailed analysis of this missing link is expected to result in development of novel diagnostic and preventive measures toward understanding of phenotypic expressions of these diseases. We are currently trying a new approach in this regard, using model animals generated by gene manipulation in an experimental laboratory: knockout, transgenic, and knockout-transgenic mice as a murine counterpart of human β -galactosidase deficiency disorders. Scientific research in this direction will produce a new concept for the pathogenesis and treatment of genetic diseases affecting the child's brain.

Key Words : child neurology, molecular genetics, gene diagnosis, neurogenetic disease, model animal