

コケイン症候群モデル動物における腎臓の解析

鳥取大学医学部 形態医学分野 中根裕信

平成25年度 CS研究報告会

2013年2月2日, 国立成育医療研究センター

「Xpg null マウスにおけるコケイン様臨床症状の検討」

1) 各日令のXPG nullマウス(～3週令)の組織検索を行う。検索には、各日令マウスを灌流固定した標本を作成し(固定条件を一定にするため)、光学顕微鏡(場合によってはTEMを用いて)で検索する。当然、ヒトとマウスの種の違いには、細心の注意を払って検索する。

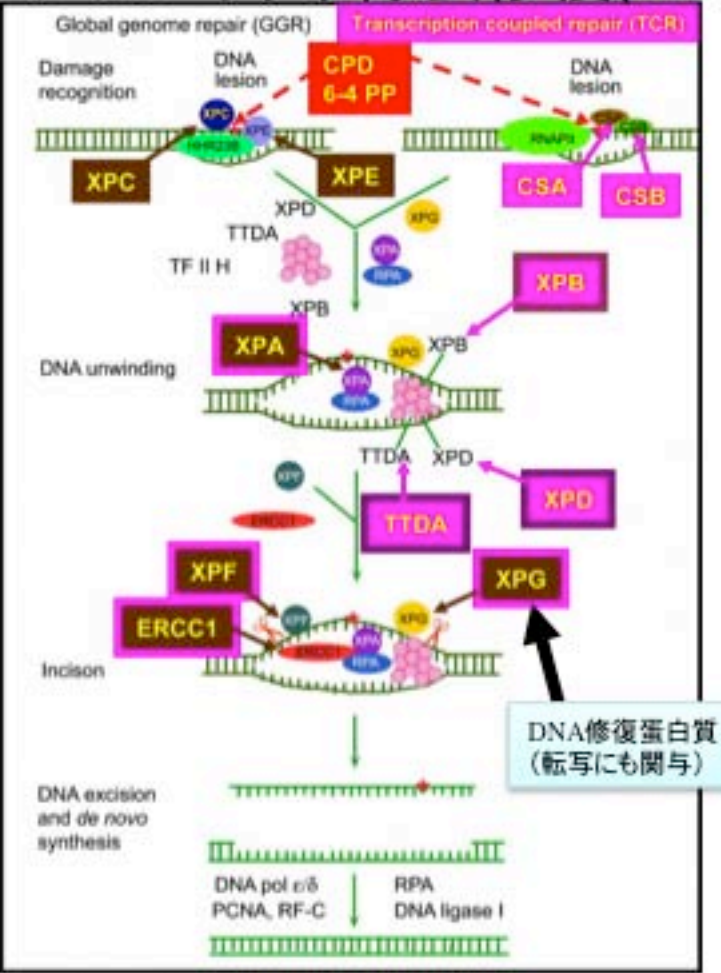
ヒトのコケイン患者さんの剖検症例の所見を参考にして、以下の点に留意する。

皮下組織[異栄養性小人症]、性腺[性腺機能低下]、網膜[網膜色素変性症、視神経萎縮]、聴覚器[感音性難聴]、小脳[小脳失調]、**関節[関節拘縮、亀背]**、**尖足(歩行異常)**、脳の髄鞘化[髄鞘障害]、**歯・唾液腺[齲歯、唾液分泌]**等を検索する。[]: コケインの臨床症状。

2) 顕著な病理変化が見られない場合でも、蛋白質の発現レベルの違いがある可能性もあるので、各日令XPG null マウスの各臓器(**腎臓**)のmRNAを採取して、免疫組織学的手法やISH、Real-time PCR等でも検討する。

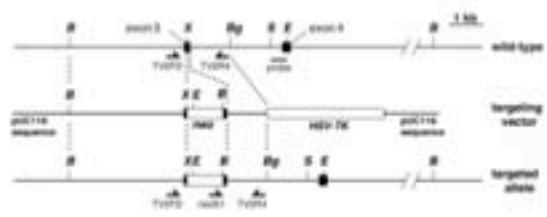
Xpg null マウス----成長障害、小脳失調、短寿命(約3週間)

ヌクレオチド除去修復(NER)

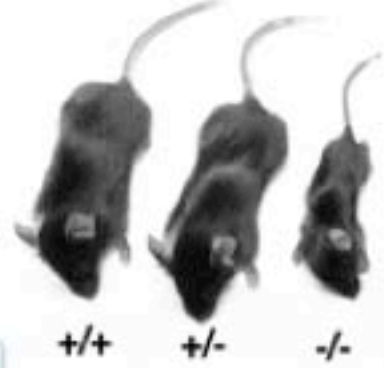


Ref. Kraemer KH, et al., Neuroscience, vol.145 (4),p1388-96, 2007

Targeting construct



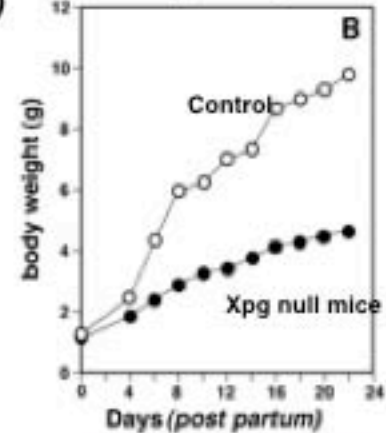
Gross Appearance (P16)



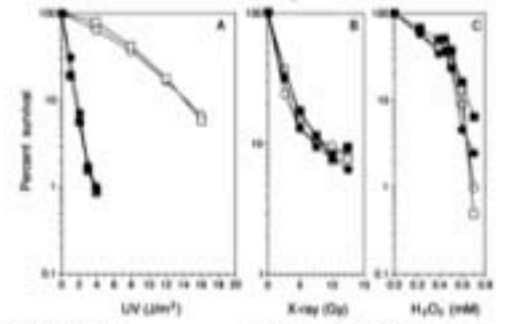
Gastrointestinal tract



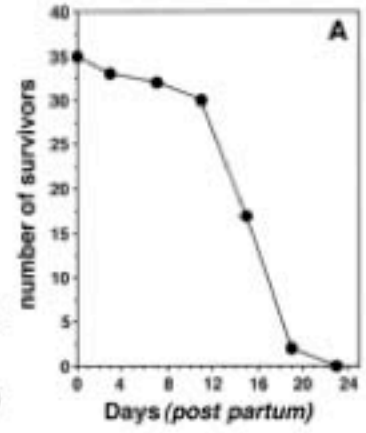
Body Weight



UV sensitivity (紫外線高感受性)



Survival Curve



Spleen



(Harada YN et al. Mol. Cell. Biol. 19, 2366-2372, 1999から引用)

Xpg nullマウス組織で、小脳発育不全、皮下脂肪の消失を観察した。

ヌクレオチド除去修復症候群の主な臨床症状

疾患 臨床症状	色素性乾皮症/ コケイン症候群 (XP-CS)	コケイン症候群 (Cockayne syndrome: CS)	Xpg nullマウス
日光過敏	++	++ *	++
色素沈着の異常	++	-	N. D.
皮膚癌	++	-	N. D.
悪液質性小人症 (皮下脂肪消失)	++	++	?
神経細胞の髄鞘化異常	++	++	?
性腺機能低下	++	++	?
失調 (歩行異常)	++	++	+
感音性難聴	++	++	?
眼球異常	++	++	?
当てはまる疾患の 相補性群	XP-B/CS XP-D/CS XP-G/CS 転写異常	CS-A, CS-B 遺伝性早老症 [寿命約12才] 転写異常	重篤な成長障害 寿命短縮 (約 3週令)

コケイン症候群の各脂肪組織

コケイン症候群の診断基準には、著しい体重の増加不良があるので、各脂肪組織に注目し臨床文献を検討した。

脂肪組織の部位	脂肪組織の種類	CSの臨床症状
皮下脂肪	脂肪組織 (短期の栄養状態で変化)	ろい瘦
眼窩脂肪体	線維性脂肪組織 (長期の栄養状態で変化し、構造の支持に関与。)	眼球陥凹
頬脂肪体	線維性脂肪組織	頬の落ち込み
鼻翼の脂肪体	線維性脂肪組織	鳥の嘴様の鼻
関節内の脂肪(膝・足関節内脂肪体) および関節周囲の脂肪(肩峰下脂肪、アキレス腱の前の脂肪)	線維性脂肪組織	関節拘縮 (股関節、膝関節、足関節)

DWARFISM WITH RETINAL ATROPHY AND DEAFNESS
By E.A. COCKAYNE, D.M., FR.C.P. Arch. Dis. Child. (1936) 11: 1-8 から引用



アキレス腱の前の脂肪 (Kager's fat pad:KFP)



引用文献: 組織学(11版, 広川書店), ネット解剖学図譜(2版, 丸善), プロメテウス解剖学アトラス(1版, 医学書院), Ultrasound of the Musculoskeletal System, Bianchi S. et al, 2007, Springer

コケイン症候群のいくつかの臨床症状は、何らかの理由で生じる各脂肪組織の消失によって生じる可能性がある。

Xpg nullマウスの歩行異常

Xpg nullマウスは、早い時期から四肢を突っ張るように歩行し、よくひっくり返っていた。また、生後3週令では後肢の足底はしっかりと接地しないで、つま先で不安定に歩くことも観察していた。

Xpg nullマウスの関節内および関節周囲の脂肪組織の検索

関節内脂肪組織の状態を光顕標本で観察したところ、対照群マウスに比べ生後3週令Xpg nullマウスの膝関節内の脂肪組織の減少が見られた。また、同様に足関節内および足底の脂肪組織も減少していた。このことから、関節内の脂肪組織の減少が、関節の動きの制限にもなりうることから固い動き(四肢を突っ張るようなぎこちない動き)となる可能性を見いだした。今後さらに末梢神経の詳細な検索により、固い動きとの関係も解明する必要がある。

以上より、Xpg nullマウスの歩行異常は、小脳失調によるだけでなく、関節内の脂肪組織の減少による関節の動きの異常により生じている可能性があると考えられた。

今後の解析から、Xpg nullマウスがCSの関節拘縮の病態を解析するためのモデルとなる可能性がある。

Xpg nullマウスの腎臓の解析

コケイン症候群の患者さんでは腎障害が生命予後に深く関わるため、その病態解明が急務である。CSの腎障害の病態解明のために、Xpg nullマウスの腎臓の解析を行った。

ヌクレオチド除去修復(NER)の欠損状態と腎臓との関係

1) NER欠損状態(Xpa遺伝子欠損マウス)で、腎臓での遺伝子の突然変異頻度が上昇するとの報告がある。

[Dollé ME et al., Mutation Research, vol.596 :p22-35, 2006, Increased genomic instability is not a prerequisite for shortened lifespan in DNA repair deficient mice.]

2) NERの欠損状態(Xpa遺伝子欠損マウス)に、フェナセチン(薬剤)を投与すると、同マウスの腎皮質の近位尿管上皮細胞の細胞核が**Karyomegaly**を示し、遺伝子の突然変異頻度が上昇するとの報告がある。[Luijten

M et al., Mutation Research, vol.596:p143-50, 2006, Phenacetin acts as a weak genotoxic compound preferentially in the kidney of DNA repair deficient Xpa mice]

上記より、NER欠損状態では、腎臓に何らかの異常が生じる可能性が考えられた。

当初、短寿命のため、Xpg nullマウス腎臓では病変が生じないので尿糖・尿蛋白質を検出しないと考えていた。念のため、血液を調べたところ、生後16日令Xpg nullマウスですでに血中の腎機能マーカーが上昇し異常であった。尿検査と血液検査の乖離に悩んだが、Xpg nullマウスの発育不全からくる低形成腎と考え、腎臓で検討したところ、腎臓表層に小さな直径の機能的に低いと思われる糸球体が多くみられ、Xpg nullマウスの腎臓機能の低下の可能性が考えられた。今後、この構造異常(未熟性、低形成?)が腎機能へ与える影響を解析していく。

Xpg nullマウス腎臓について、検索の仕方でコケイン症候群の患者さんの腎障害の病態解明の糸口が見いだせる可能性があると考えている。