

機関番号：22501

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2009～2010

課題番号：21800041

研究課題名（和文） DNA 損傷修復能力からみた脳性麻痺児の運動に関する研究

研究課題名（英文） The evaluation of oxidative DNA damage in children and adolescence with cerebral palsy using 8-hydroxydeoxyguanosine levels

研究代表者

堀本 佳誉 (HORIMOTO YOSHITAKA)

千葉県立保健医療大学・健康科学部・助教

研究者番号：40555546

研究成果の概要（和文）：

本研究は学齢期の健常児と脳性麻痺児の安静時8-OHdG濃度を比較し、安静時のDNA損傷修復能力に差があるかどうかを明らかにすることとした。

対象は、学齢期の歩行可能な脳性麻痺児12名（13.8±4.3歳）とした。脳性麻痺児と年齢、性別が一致する健常児を対照群とした。DNA損傷修復能力の指標として、尿中8-OHdG濃度の測定を行った。8OHdG濃度をクレアチニン濃度で割り返し、クレアチニン補正を行った。

結果は脳性麻痺群は11.4±2.0 ng/mg CRE、健常群は8.2±0.9 ng/mg CREであった。群間の比較のためにMann-Whitney検定を行ったが、有意な差は認められなかった。

研究成果の概要（英文）：

Urinary levels of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) were examined to estimate the relevance of oxidative stress in children and adolescence with cerebral palsy (CP). Urinary 8-OHdG levels were measured in 12 children and adolescence with CP and these levels were compared with those in 12 healthy children and adolescence (without CP). There was no significant difference of the mean level of urinary 8-OHdG between children and adolescence with and without CP (11.4 ± 2.0 ng/mg CRE and 8.2 ± 0.9 ng/mg CRE, respectively).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,070,000	321,000	1,391,000
2010年度	970,000	291,000	1,261,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,040,000	612,000	2,652,000

研究分野：理学療法学

科研費の分科・細目：人間医工学・リハビリテーション科学

キーワード：脳性麻痺、DNA 損傷修復能力、運動

1. 研究開始当初の背景

CP児は乳児期に、健常児と比較してより多くのDNA損傷が引き起こされている (Fukuda et. al Brain Dev 2008)。DNA損傷の指標としては、一般的に尿中 8-ヒドロキシデオキシグアニン (8-OHdG) 値が用いられる。8-OHdG は、核酸の一つであるデオキシグアニン (dG) が酸化されてしまうことにより形成されるもので、酸化ストレスにより引き起こされるDNA損傷を示す最も有用な指標である (図1、2)。

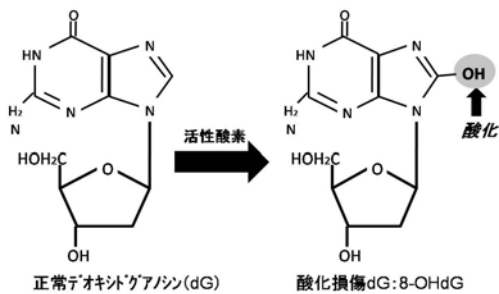


図1

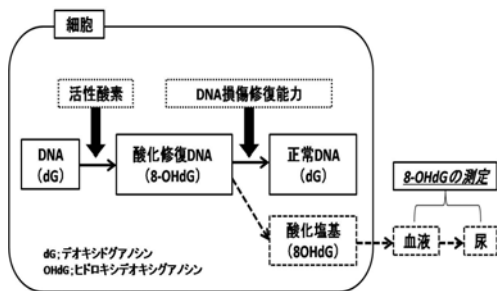


図2

8-OHdG 値が高値になるのは、①強い酸化ストレス下にあるためにより多くのDNA損傷が引き起こされているとき、②DNA損傷修復能力が低いとき、である。(図3)

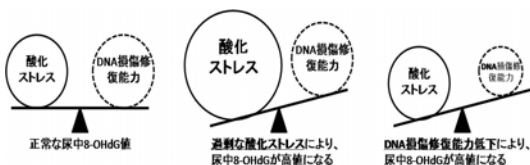


図3

乳児期のCP児で、尿中8-OHdG値が高値になるのは、①一時的に強い酸化ストレス下にあるのか、②何らかの原因でDNA損傷修復能力が低いのか、③それとも両方が原因であるのかは不明である。もし①が原因であるなら、尿中8-OHdG値は発達とともに正常値に近づき、②や③が原因であるなら高値のままであると考えられるが、幼児期以降のCP児に対する研究は行われていない。

一般的に健常成人では、過負荷な運動量が過剰なDNA損傷を引き起こす (Ji Free Radic Boil Med 1995)。CP児の運動はエネルギー効率が悪く (Duffy et. al Dev Med Child Neurol 1996)、一見すると軽い運動を行っているように見えても過負荷な運動となっているため、DNA損傷が過剰に引き起こされている可能性がある。

また、学齢期以降のCP児は、運動量の不足により機能低下がみられ、両親を中心とした介助者に大きな負担を強いる (山口ら 臨床リハビリテーション 2002) ことになる。この運動量の不足は、DNA損傷修復能力を低下させる (Nakatani et. al Free Radic Res 2005) ことから、CP児に対し適切な運動量と頻度の処方を行うことは、本人のみでなく介助者にとっても重要となる。

加齢とDNA損傷修復能力には関連性があり (Nakatani et. al Free Radic Res 2005)、修復できないDNAの蓄積が老化を促進する (香川 老化のバイオサイエンス 1996)。CP児は、臨床的に見て加齢が早いと言われてきた (松葉佐ら 重症心身障害医学 最近の進歩 1999) が、「生涯にわたる非効率で過負荷な運動による過剰なDNA損傷」と「運動量の不足によるDNA修復能力の低下」が悪循環し、修復できないDNAの蓄積速度が健常者より早くなるために、早老となっている可能性が高い。

DNA損傷修復能力を高めるためには、定期的で適度の運動量が (Radak 運動とタンパク質・遺伝子 2004) 重要であるとされている。このためCP児のDNA損傷修復能力を高めるためには、過負荷な運動量にならないように、慎重に運動量の決定を行う必要がある。

2. 研究の目的

脳性麻痺児 (Cerebral Palsy 以下 CP 児) は、早老であることが知られている。本研究では、DNA 損傷修復能力という新たな視点から、CP 児の最適な運動量・頻度を判断し、早老を予防するための研究基盤を確立することが目的である。(1) 安静時の CP 児の DNA 損傷修復能力の解明、(2) 運動時の CP 児の DNA 損傷修復能力の解明、(3) CP 児に対する DNA 損傷修復能力の向上のための適切な運動量・頻度の解明といった、研究が必要となる。今回の研究では (1)、(2) に焦点を絞ることとした。

3. 研究の方法

(1) 安静時の CP 児の DNA 損傷修復能力の解明

対象は、学齢期の歩行可能な脳性麻痺児12名 (13.8±4.3歳、6歳～18歳、男性6名、女性6名) とした。脳性麻痺児の運動機能はGross Motor Function Classification Level I が4名、II が2名、III が6名であった。脳性麻痺児と年齢、性別が一致する健常児を対照群とした。DNA損傷修復能力の指標として、尿中8-OHdG濃度の測定を行った。測定には早朝尿を用いた。尿中8-OHdG濃度の測定にはELISA法による測定キット (日本老化制御研究所) を用いた。また、尿中クレアチニン濃度を測定した。8OHdG濃度をクレアチニン濃度で割り返し、クレアチニン補正を行った。

(2) 運動時の CP 児の DNA 損傷修復能力の解明

予備実験として学齢期の児童3名に対して、運動前後の採尿を実際に行った。採尿を行った後、15分間の運動を行い、その後再び採尿を行った。その結果、拘束時間が最も長い児で5時間近くとなり、被検者にかかる負担が大きすぎるため運動前後の採尿以外の方法の検討の必要性が生じた。

文献による調査を行い、加速度計による運動量の計測が本研究の目的に合致する指標として考えた。そこで、加速度計による運動量の計測の予備実験を学齢期の児童1名に対して行った。加速度計を1週間装着し、1週間の運動量を計測した。これを2回行い、信頼性の検討を行った。結果としてデータのバラツキが大きく、信頼性は低いものとなった

。このため、今回の研究では運動量の影響を計測することができなかった。

そこで、本研究は (1) 安静時の CP 児の DNA 損傷修復能力の解明のみを行うこととした。

4. 研究成果

結果は脳性麻痺群は11.4±2.0 ng/mg CRE、健常群は8.2±0.9 ng/mg CREであった。群間の比較のためにMann-Whitney検定を行ったが、有意な差は認められなかった。Fukudaらは、本研究と同様に DNA 損傷修復能力の指標として、尿中8-OHdG濃度の測定を行い、脳性麻痺児は乳児期に、健常児と比較してより多くのDNA損傷が引き起こされていると報告している。Tamuraらは健常児の尿中8OHdG濃度の測定を行い、発達に伴い尿中8OHdG濃度が低下することを示している。このことより、脳性麻痺児は乳幼児期にはDNA損傷修復能力が低いため、尿中8OHdG濃度が高値を示すものの、健常児同様発達に伴いDNA損傷修復能力が高まることにより尿中8OHdG濃度が低値となり、健常児と有意な差を認めなくなったと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計0件)

〔学会発表〕 (計0件)

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：

取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀本 佳誉 (HORIMOTO YOSHITAKA)

研究者番号：40555546

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：