

資料6 ホームページ: <http://fragile-x.med.tottori-u.ac.jp/>

日本人脆弱X症候群 実態調査研究班
平成21年度厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

トップ | サイトマップ | お問い合わせ

CONTENTS

- 脆弱X症候群とは
- 本研究の計画
- 医療関係者向け情報
- 患者様向け情報
- 研究班について
- シンポジウム
- リンク

鳥取大学生命機能研究支援センター
遺伝子探索分野

〒683-8503
鳥取県米子市西町86

TEL:0859-38-6472
FAX:0859-38-6470
E-mail:
idencour@med.tottori-u.ac.jp

Topics

2009.11.14 シンポジウム「脆弱X症候群」の現状と進歩を開催いたします

Copyright(C) 2009 idencour. All Rights Reserved.

資料7 倫理への対応 (ホームページ上)

CONTENTS

- 脆弱X症候群とは
- 本研究の計画
- 医療関係者向け情報
 - ① 倫理的な対応に関して
 - ② 倫理委員会を設置していない場合
 - ③ 倫理委員会を設置している場合
- 患者様向け情報
- 研究班について
- シンポジウム
- リンク

倫理的な対応に関して

本研究には、研究に協力いただく前に倫理審査委員会の承認が必要となります。
倫理審査委員会への申請の書類等は下記に整えております。できるだけ協力させていただきます。

<p>倫理委員会を設置していない 施設や開業医などの方へ (申請から承認まで約2週間程度です)</p> <p>倫理委員会を設置していない こちらをクリック</p>	<p>倫理審査委員会を設置している 施設の方へ</p> <p>倫理委員会を設置している こちらをクリック</p>
---	--

脆弱 X 症候群の治療に関する研究

研究分担者 有波 忠雄 筑波大学教授

研究要旨

脆弱 X 症候群の治療の可能性の探索として、FMR1 遺伝子の full mutation において FMR1 遺伝子の発現抑制を解除し、かつ、脆弱 X 症候群の神経可塑性に影響を与え、治療の可能性が示されている mGluR5 のシグナル伝達に影響を与える Brm のノックアウトマウスの解析を行い、その発現を低下させることが脆弱 X 症候群の治療や認知機能の低下に効果がある可能性を示した。

A. 研究目的

脆弱 X 症候群は単一の遺伝子の機能異常で起こる精神遅滞としては最も頻度が高い。脆弱 X 症候群の原因遺伝子は FMR1 で、脆弱 X 症候群は FMR1 の 5' 非翻訳領域の CGG トリプレットの伸長とそれを含む領域でメチル化が起こり、FMR1 遺伝子が発現しなくなることによる病態である。よって脆弱 X 症候群において FMR1 遺伝子の発現抑制にはエピジェネティックな機構が関わっている。関係するエピジェネティックな機能に関わる分子として MeCP2 と SWI/SNF 複合体が知られている。とくに SWI/SNF 複合体の中の Brahma (Brm) が関係していることが示されており、FMR1 遺伝子の CGG が伸長した細胞において Brm の発現を低下させると FMR1 遺伝子の発現は回復する。

一方、FMR1 遺伝子がコードしているタンパク質 FMRP は mRNA 結合タンパク質で神経細

胞の樹状突起において遺伝子のタンパク質への翻訳を抑制する機能を持っている。この遺伝子の翻訳の抑制機能はグループ 1 の代謝型グルタミン酸受容体により調節されており、脆弱 X 症候群ではグループ 1 代謝型グルタミン酸受容体に誘導される翻訳が亢進していることが示されている。ここから、グループ 1 代謝型グルタミン酸受容体である mGluR5 のアンタゴニストが脆弱 X 症候群モデルマウスに試され、有効であったと報告されている。このことは mGluR5 のシグナル伝達が脆弱 X 症候群に関与していることを示している。

B. 研究方法

これらの背景から、もし Brm がグループ 1 代謝型グルタミン酸受容体シグナル伝達系にも影響を与えることがあれば、それはタン

パク質翻訳段階とシグナル伝達段階の2重に脆弱X症候群に関わっていることになり、この両段階により方向の方向が見られれば、それは脆弱X症候群の治療に非常に有効であると考えられる。上記の文脈から、BrmをコードしているSmarca2遺伝子のノックアウトマウスを対象にmGluR5遺伝子のシグナル伝達に関係する分子を中心に解析した。

C. 研究結果

Smarca2ホモノックアウトマウスのみならずヘテロノックアウトにおいても、NMDA型グルタミン酸受容体のアンタゴニストであるMK-801誘発の行動量の増加が乏しく、また、MK-801による音に対する驚愕反応の低減も見られなかった。これら所見はSmarca2ノックアウトではヘテロであってもNMDA型グルタミン酸シグナル伝達系の機能不全が起こっていることを示唆していた。その機序を解明するために、ChIPアッセイによりSMARCA2が直接関わっている遺伝子をスクリーニングしたところ、その1つにHOMER1があった。マウス脳におけるHomer1をウエスタンブロットで調べたところ、Smarca2ヘテロノックアウトおよびホモノックアウトマウスにおいては、恒常的に発現しているHomer 1b/cの他に、dominant-negative活性を示すimmediate early gene isoformであるHomer 1aが高発現しており、これがグルタミン酸シグナル伝達障害の一部に関わっている可能性が考えられた。

D. 考察

Fmr1ノックアウトマウスはHomer1aの調節が

効かないことが推測されており、Homer1aはてんかん、不安などを抑える機能がある。脆弱X症候群の治療や認知機能の低下の予防にSmarca2を低発現にすることが有効である可能性が推測された。今後、Fmr1ノックアウトマウスとSmarca2ノックアウトマウスを交配させて、実際に症状軽減効果があるかを検討する必要がある。

E. 結論

Brmは脆弱X症候群の治療の鍵となる可能性がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Koga M, Ishiguro H, Yazaki S, Horiuchi Y, Arai M, Niizato K, Iritani S, Itokawa M, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Kunugi H, Sasaki T, Takahashi M, Watanabe Y, Someya T, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Muchardt C, Yaniv M, Arinami T, Involvement of SMARCA2/BRM in the SWI/SNF chromatin-remodeling complex in schizophrenia. *Human molecular genetics* 18, 2483-94 (2009)
2. Ishiguro H, Koga M, Horiuchi Y, Noguchi E, Morikawa M, Suzuki Y, Arai M, Niizato K, Iritani S, Itokawa M, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Kunugi H, Sasaki T, Takahashi M, Watanabe Y, Someya T, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Arinami T, Supportive evidence for reduced expression of GNB1L in schizophrenia.

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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

「日本人脆弱X症候群の実態調査研究

——日本小児神経学会での調査、診療フィールドでの検討——」

研究分担者 杉江 秀夫 自治医科大学小児科学教授

研究協力者 福田 冬季子 自治医科大学小児科 講師

杉江 陽子 浜松医科大学小児科 臨床教授

研究要旨

日本人脆弱X症候群の実態調査の取り組みとして、日本小児神経学会における、共同研究支援の仕組みの利用し小児神経学会員を中心とした協力依頼、および広報を開始した。本疾患は幼児期に発達の遅れなどで小児科を受診する機会が多いと考えられるが、成人期に未診断の例については恐らく神経内科、精神神経科を受診している可能性がある。従ってオールジャパンとして取り組むには他学会を含んだ連携の構築が今後必要である。またpremutationの成人期の症候として、FXTAS、POFが注目されているが、本症候群の実態とともに、調査が必要である。

A. 研究目的

脆弱X症候群（以下FXS）は乳幼児期の発達障害の原因の一つで、遺伝子レベルでの病因解明が最も進んでいる疾患である。また約30%に広汎性発達障害の症候が見られることもあり、一つの発達障害の疾患モデルとして興味深い疾患である。日本人における頻度が欧米より少ないと考えられるものの、実際の現況については十分な調査ができていないのが現状である。おそらく診断されていない症例が多く存在している可能性が考えられる。本研究の分担として、杉江、大野は「日

本小児神経学会での調査および診療フィールドでの検討」を分担している。

効率のよい調査研究として本年度は本疾患に最も遭遇するであろう小児神経科医に対して、実態の調査を行うための共同研究の協力体制の構築に関して検討した。

B. 研究方法

1. 日本小児神経学会には「共同研究支援委員会」が設置されており、分担の杉江秀夫はその委員長であることから、本研究の調査、診断への国内小児神経科医への

共同研究コンソーシアムの確立を検討。

2. 日本神経学会、日本精神医学会、日本産科学会への小児神経学会共同研究支援委員会からの調査研究依頼の検討について

C. 研究結果

小児神経学会共同研究支援委員会は本年5月から課題の受付を開始し、現在までに5件の支援を決定している。当該研究事業については11月16日付で主任研究者の難波から本研究調査の申請を小児神経学会として受け付け、2010年2月18日付で受理され、学会としての支援が開始された。

現在行われている具体的な支援は、小児神経学会員への周知方法として機関紙「脳と発達」への定期的な掲載、小児神経学会総会での広報、小児神経学会ホームページへの掲載、小児神経学会員へのメイリングリストを通じた協力の呼びかけがおこなわれている。

他学会特に日本神経学会へはFXTASについての共同研究を学会として協力の呼びかけ、また日本におけるPOFについては全く調査がないこともあり、日本産科学会へも同様な協力依頼が可能かどうかを今後検討してゆく必要がある。

D. 考察

本疾患の診断は米国の「National Fragile X foundation」の2009年の調査によると、診断時期は男児で35.9か月、女児で41.6か月であり、恐らく小児科医、小児神経科医が最初の受診に関わっていると考えられる。従って本疾患及び診断のアクセスについて周知するためにはまず発達障害を幼児期から見

るような小児神経科医を中心に共同研究のシステムを構築するのが効率的であると考えられる。また脆弱X症候群は完全変異と前変異で発症症状、発症時期が異なっており、前変異では成人期での発症であるため、小児神経科医を中心とした調査では実態の把握が不完全であることが予想される。従って脆弱X症候群完全変異では小児神経科医、児童精神科医などを対象に、前変異ではFXTASについては神経内科医、精神神経科医、POFについては産科医への共同研究調査の必要性がある。これによって本症候群の実態が我が国でかなり明らかにされると考えられる。

その中で実態調査とともに、主任研究者の施設における、本症候群の診断提供についても広報し、従来診断がされなかった本症候群についても、臨床医が診断へのアクセスについて明瞭になるようにし、主任研究者の施設を本症診断の中核として機能できるように、国内のネットワークを構築することを今後計画してゆく必要がある。

E. 結論

本症候群の日本における実態調査については、オールジャパンでの取り組みが必要であり、小児神経学会における共同研究支援をベースに、他学会への働きかけが必要である。また主任研究者の施設における、本症候群の診断提供について全国に周知する必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表
著書

1. 杉江秀夫。糖代謝異常症1(肝型糖原病)症例から学ぶ先天代謝異常症、日本先天代謝異常学会編集。診断と治療社、東京 pp2-4、2009

論文

1. Sugie Y, Sugie H, Fukuda T, Osawa J. Study of HOXD genes in autism particularly regarding the ratio of second to fourth digit length. Brain Dev. 2010 May;32(5):356-61.
2. 杉江陽子、杉江秀夫。「広汎性発達障害の神経生物学的機序と治療」自閉症スペクトラム障害におけるSSRIの臨床効果およびSLC6A4と5-HTR2A遺伝子多型との関係。脳と精神の医学20(2) :119-132, 2009.
3. 杉江秀夫。糖原病II型(Pompe病) 診断から治療へ：糖原病II型(Pompe病)の診断へのアプローチ 生化学診断。神経内科70(5) :431-433, 2009.
4. 福田冬季子、杉江秀夫。中毒・代謝疾患 Pompe病の酵素補充療法(Myozyme)

Annual Review神経pp197-202 , 200

9

2. 学会発表

1. 杉江陽子、大澤純子、福田冬季子、杉江秀夫。自閉症スペクトラムの臨床表現型とセロトニントランスポーター遺伝子多型の検討。第51回日本小児神経学会総会、米子、2009. 5. 28-30
2. 杉江秀夫、難波栄二。シンポジウム「遺伝性神経・筋疾患—診断と治療の最前線」第51回日本小児神経学会総会、米子、2009. 5. 28-30

H. 知的財産権の出願・登録状況

2. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

精神遅滞バイオリソースでの検討、遺伝ガイドライン

研究分担者 後藤 雄一 国立精神・神経センター神経研究所 部長

研究要旨

本研究では、日本人脆弱X症候群患者の集積をめざし、国立精神・神経センターにて行われている「精神遅滞バイオリソース」事業のDNAリソースを用いて遺伝子検査を行っている。本年度は、同バイオリソースから、95症例のDNAを解析施設である鳥取大学に送付した。解析の結果、FMR1もしくはFMR2遺伝子の変異を持つ例は見いだせなかった。

A. 研究目的

脆弱X症候群（以下本症候群）は、精神遅滞や自閉症などの症状をもち、欧米では4,000から6,000人に1人の頻度と報告されている。原因遺伝子FMR1およびFMR2が解明され、欧米では遺伝子診断システムが確立し大規模な保因者スクリーニングが行われている。最近、モデルマウスに対し代謝型グルタミン酸受容体拮抗剤が有効との報告がなされ、治療への期待が高まっており、学会レベルではヒト患者への初期段階の治験も報告された。

我が国においては症例の蓄積が極端に少ないために、本研究ではより効率的な遺伝子診断システムを構築し、日本人症例を50例以上見だし、その特徴を明らかにするとともに遺伝子診断システムそのものを普及させることを目的としている。

B. 研究方法

国立精神・神経センターでは、平成15年度から精神・神経疾患研究委託費を充当して、日本人「精神遅滞バイオリソース」を構築するために、患者及びその家族の血液及びリンパ芽球を収集し、同時に臨床情報を登録してきている。その中で、精神遅滞の病因の中で染色体異常に次いで多いとされる本症候群の遺伝子検査を行ってきた。本年度も同様にこのバイオリソースに登録されたDNA試料をFMR1及びFMR2の遺伝子検査に供した。

（倫理面への配慮）

国立精神・神経センター倫理委員会に申請し、承認を得ている。

C. 研究結果

平成22年度は、「精神遅滞バイオリソース」に56家系の新たな登録があった。今年度は、

昨年度に未提供であった試料と合わせて、95症例のDNAを解析担当の主任研究者難波先生に送付した。

解析の結果、FMR1もしくはFMR2遺伝子の変異を持つ例は見いだせなかった。

D. 考察

過去において、この「精神遅滞バイオリソース」から提供した200検体において、3家系にFMR1遺伝子のトリプレット延長が認められている。その頻度から、小児神経科医が精神遅滞症例と診断した症例でも約1.5%程度の頻度でしか見いだせていない。

欧米との頻度の差があるかないかの結論を得るにはさらに症例を増やす必要がある。「精神遅滞レポジトリ」の登録を飛躍的に増加させてその結論を得たい。

E. 結論

本年度検索した95症例には、新たな脆弱X症候群の患者は見いださなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

後藤雄一：精神遅滞・てんかんの臨床遺伝学. 小児科診療 72, 109-112, 2009

2. 学会発表

(国際学会)

Goto Y, Nakagawa E, Takano K, Honda S, Inazawa J, Okazawa H, Kato M, Kubota T, Kurosawa K, Wada T, Saitoh S, Nanba E, Matsumoto N, Kohda M, Okazaki Y. Molecular genetic Analysis of mental retarda

tion in Japanese cohort.

The 14th International Workshop on Fragile X and X-linked Mental Retardation. Bahia, Brazil, September 16, 2009.

Nanba E, Adachi K, Nakayama Y, Kohno Y, Yano M, Sato C, Arinami T, Sugie H, Goto Y, Sasaki T, Ohno K. Fragile X testing and carrier screening in Japan.

The 14th International Workshop on Fragile X and X-linked Mental Retardation. Bahia, Brazil, September 18, 2009.

(国内学会)

後藤雄一. 精神遅滞リサーチ・リソース・レポジトリの構築と遺伝学的解析. 第51回日本小児神経学会総会、シンポジウムII遺伝性神経・筋疾患-診断と治療の最前線. 米子、5.28、2009

H. 知的所有権の出願・登録状況

3. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

大学病院小児精神科外来における
脆弱X症候群の診断頻度の調査

研究分担者 佐々木 司 東京大学学生相談ネットワーク精神保健支援室教授
研究協力者 島田 隆史 東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻
金生 由紀子 東京大学医学部附属病院こころの発達診療部特任准教授

研究要旨

自閉症などの広汎性発達障害(PDD)の一部では、脆弱X症候群が原因となっていることは疫学研究から良く知られた事実である。しかし実際にPDDの診断・治療を行っている臨床の現場で、脆弱X症候群の診断に対してどの程度の注意が向けられ、診断が行われているかについては十分な検討が行われていない。本分担研究では、東京大学医学部附属病院の小児精神医学（こころの発達診療部）の外来に、2006年4月から2009年3月の間に受診してPDDと診断された552人の中で、脆弱X諸侯群と診断された者がどの程度あるかをカルテから調査した。対照疾患群として、同時期に同外来を受診し注意欠如多動性障害（ADHD）87人、トゥレット障害123人についても同様の検討を行った。これらの対象のうちIQ（またはDQ）< 70の精神遅滞を伴うと認められた者は、PDDで146人、ADHDで1人、TSで5人認められた。しかし脆弱X症候群と診断されている者は一人もいなかった。海外のデータでは、自閉症のうち2-5%が脆弱X症候群によるとされているのに比べると、今回の調査での結果は予想外のものであった。これは大学病院の外来受診者という対象の偏りと関連する可能性はあるが、我が国の児童精神科現場における脆弱X症候群の診断の難しさを反映している可能性もある。ちなみに、東大病院の小児精神科外来では、脆弱X症候群の染色体検査はルーチンでは行われていなかった。本研究事業を通じた同症候群に対する啓発活動が、児童精神医学の臨床現場でも意義の大きいことが示唆される。

A. 研究目的

脆弱X症候群では数割の高頻度で自閉症症状の合併することが知られている。同様に、自閉症等の広汎性発達障害の一部では、脆弱X症候群が原因として認められることも疫学研究では良く知られた事実である。しかし実際の臨床場面において、特に我が国で広汎性発達障害の診療が行われている臨床現場で、脆弱X症候群の診断にどれくらい注意が向けられ、実際にどの程度診断が行われているのかについては、あまり情報がなく十分明らかでない。通常の臨床現場においては見逃されている例も少なくない可能性も考えられる。

本分担研究では、我が国では比較的数少ない大学病院の小児精神科外来において、受診するケースの中で脆弱X症候群と診断される例がどの程度あるかについて、診療録をもとにした調査を行った。

B. 研究方法

東京大学医学部附属病院こころの発達診療部の外来を2006年4月から2009年3月までの間に初診した日本人（両親とも日本人）で、1975年以後生まれの者をのうち米国精神医学会の診断基準DSM-IVに基づいて広汎性発達障害（pervasive developmental disorder: PDD）と診断された552例（男性427例、女性125例、初診時年齢 9.8 ± 6.6 歳（平均 \pm SD））を対象とした。また対照疾患群として、注意欠如多動性障害（attention deficit hyperactive disorder: ADHD）87例（男性74例、女性13例、初診時年齢 11.4 ± 6.4 歳（平均 \pm SD））、トゥレット障害（Tourette Di-

sorder: TD）123例（男性82例、女性41例、初診時年齢 15.4 ± 6.3 歳（平均 \pm SD））についても調べた。これらの対象について後ろ向きに診療録の調査を行い、精神遅滞（IQ（またはDQ） < 70 ）の有無、脆弱X症候群の（合併）診断の有無を調べた。

（倫理面への配慮）

こころの発達診療部のカルテ調査については、東京大学医学系研究科の倫理委員会の承認を得ている。調査・集計の実施は匿名にて行った。

C. 研究結果

精神遅滞（IQ（またはDQ） < 70 ）の合併有無のデータは、PDD 552例中456例、ADHD 87例中70例で得られたが、TD 123例では36例でのみ得られた。精神遅滞の合併割合はPDDで146/456（32%）、ADHDで1/70（1.4%）、TDで5/36（14%）であった。

脆弱X症候群の診断を受けている例は、PDD、ADHD、TDのいずれにおいても、精神遅滞の合併の有無（あるいは不明）に関わらず1例もなかった。

D. 考察

脆弱X症候群の診断がどの程度の割合でなされているかを、東大病院こころの発達診療部の外来に2006年から3年間の間に初診した広汎性発達障害（PDD）552例（うち精神遅滞合併146例）で検討し、また注意欠如多動性障害（ADHD）87例（うち精神遅滞合併1例）、トゥレット障害（TD）123例（うち精神遅滞合併の確認5例）を対照疾患群として比較を試みた。欧米のreviewでは自閉症の2-5%が脆弱X症候群で説明されるとされており、少なくともPDDで精神遅滞合併

した146例の2%、約3名程度は脆弱X症候群の診断がなされていると考えたが、予想に反し、脆弱X症候群の診断を受けている患者は全く認められなかった。これは対照疾患群としたADHD、TDでも同様であった。

この結果の解釈であるが、これらの対象内に実際に脆弱X症候群の症例が全くいなかったという可能性もある。以前、日本の自閉症患者では脆弱X症候群の頻度が低いとの報告もあり (Hashimoto et al. J Autism Dev Disord. 1993;23:201-9)、今回の結果はそれと共通しているのかも知れない。一方で東大病院心の発達診療部では、自閉症などのPDD患者で脆弱X症候群の診断のための染色体検査を外来初診のルーチンとして行っていないことから考えると、診断を見逃している例がないとは言い切れないのも事実である。

東大病院こころの発達診療部は、その前身である東大病院精神神経科小児部以来、40年以上にわたる自閉症、広汎性発達障害の治療経験をもち、多くの臨床研究、臨床教育の実績を有している。このような歴史と経験を有する臨床現場でも脆弱X症候群の診断を見逃している可能性があることは、我が国の脆弱X症候群の臨床を考える上で重要な問題点を示唆しているように思われる。脆弱X症候群は、自閉症の原因として確立されている数少ない症候群の一つであり、その十分な診断は、当事者の治療のみならず、病気に対する家族の理解にとってきわめて重要である。名前は良く知られた症候群であっても見逃す可能性のあること、したがって注意深い観察

と必要に応じた検査を躊躇せず実施することが大切であることを小児精神医学の臨床現場に立つ医師に今以上に理解してもらう必要があるかもしれない。また、より安価で簡便な検査方法が実用化されることも今後の課題かと思われる。

E. 結論

小児精神医学の外来における精神遅滞合併例約150を含むPDD 552例と、ADHD 87例、TD 123例でカルテ調査を行い、脆弱X症候群の診断例がどの程度含まれるかを検討したが、診断例は1例も認められなかった。偶然の結果、あるいは日本人のPDDでは脆弱X症候群の合併割合が低いことを示しているのかも知れないが、診断の見逃しの可能性もあると考えられた。脆弱X症候群に対するより深い注意、そのための啓発活動の必要性が示唆された。また、より安価で簡便な診断検査の実用化が今後の課題の一つと考えられた。

G. 研究発表

とくになし

H. 知的所有権の出願・登録状況

4. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

精神遅滞と自閉症を示す患者と脆弱X症候群に関する調査研究

研究分担者 大野 耕策 鳥取大学・医学部・教授

研究協力者 杉浦 千登勢 鳥取大学医学部・脳神経小児科

山本 俊至 東京女子医科大学・IREIIMS

研究要旨

我々の診療圏（背景人口30万）で、過去に脆弱X症候群は3家系5人を捕捉している。日本小児神経学会で捕捉されている全国の患者数が20名に満たないことを考えると、この診療圏での捕捉率は低くない。精神遅滞、てんかん、自閉症などをきたす患者のさらなる原因を明らかにする目的で、マイクロアレイCGH法を行い、2p15-16.1欠失症候群、14q13.1-13.3欠失症候群、17p13.3領域の遺伝子コピー数の異常が、精神遅滞、自閉症障害、転換の原因になることを明らかにした。

A. 研究目的

精神遅滞、自閉症障害、てんかんをきたす原因は多彩である。欧米では、脆弱X症候群の頻度が高く、男児の知的障害として重要な原因の1つであるが、日本人ではその頻度は決して高くはない。脆弱X症候群について知識を増加させ、日本人患者での実態調査を行うとともに、日本人の精神遅滞、自閉症、てんかんを起こす原因について調査研究を行って行く必要がある。

我々の診療圏では、背景人口約30万人の中で、3家系5人の脆弱X症候群（1例は女児）の患者を捕捉し、経過を観察している。こ

の頻度は日本人集団の中では、高い方であり、この背景には精神遅滞、自閉症障害、てんかんなどをきたす例での脆弱X症候群のスクリーニングを行って来ているからである。

精神遅滞、自閉症障害、てんかんをきたすグループから新たな疾患群を捜すためには、別のスクリーニングを行うことも必要である。この目的のために、精神遅滞、自閉症障害、てんかんに加え、成長障害、小奇形を示す例について、マイクロアレイCGH法でのスクリーニングを行ってきた。

B. 研究方法

精神遅滞、自閉症障害、てんかん、成長障害、小奇形を示す例について、マイクロアレイCGH法によるスクリーニングを行った。

C. 研究結果

①2p15-16.1微小欠失

自閉傾向、子宮内発育不全、低身長、小頭傾向、内眼角解離、内眼角贅皮、鼻根部扁平、耳介低位、筋緊張低下を示す例で、染色体2番の短腕（2p15-16.1）の約3.2Mbの欠失を認めた。この領域の微小欠失による精神遅滞症候群が過去に4例報告されており、この領域の微小欠失が精神遅滞と自閉症障害の原因になると考えた。

②14q13.1-13.3の微小欠失

精神遅滞とてんかんを示す例で、14q13.1q13.3の微小欠失を見だした。この領域には15遺伝子が存在し、これらの遺伝子の中で、*TULIP1* 遺伝子のみが脳で発現していることから、知的障害と難治性けいれんを示す140症例について、*TULIP1* 遺伝子の41エクソンの塩基配列の決定を行い、新たに4例の患者で、*TULIP1* のミスセンス変異を見だした。1例は、重度な精神遅滞、両側シルビウス溝多少脳回を伴う重度な精神遅滞と難治性てんかんを伴い、1例は乳児期の點頭てんかんとその後の難治性てんかん、中等度の精神遅滞を示した。2例は中等度の精神遅滞であったが、てんかんの合併はなかった。これらの例で奇形が少なく、日本人の難治性てんかんや精神遅滞を示す例の中で、頻度の高い原因ではないかと考えた。

③17p13.3領域のコピー数の異常

17pの末端部の欠失は、滑脳症、難治性てんかん、低身長、特有な顔貌を示すミラー・ディーカー症候群の原因となる。精神遅滞、てんかんを示す3例でマイクロアレイCGH法で、17p13.3領域の遺伝子コピー数の異常を認めた。

LIS1領域を含む微小欠失を示した22歳の女性は、滑脳症、重度の知的障害、てんかんを示したが、ミラー・ディーカー症候群に特有な顔貌は示さなかった。

LIS1領域を含む遺伝子領域が1.5倍に増加していた11ヶ月の女兒は、點頭てんかん、重度な発達遅滞を示し、大脳皮質および白質の容量低下を認めた。身長、頭囲は正常範囲内で、顔貌異常、明らかな奇形は認めなかった。

17p13.3のLIS1領域の末端側の *YWHAE* と *CRK* 遺伝子を含む領域の欠失があった23歳の男性は乳児期から発達の遅れがあり、6歳からてんかんを発症し、難治性のてんかんとなった。低身長、小頭傾向を示し、特有な顔貌を示していたが、脳MRIでは明らかな異常を認めなかった。

D. 考察

精神遅滞、自閉症障害、てんかんをきたす例でマイクロアレイCGH法でのスクリーニングを行い、いくつかの領域の微小欠失、遺伝子コピー数の異常が比較的高頻度で見つかることを明らかにした。

精神遅滞の原因として、ダウン症候群などの染色体の倍数性の異常、脆弱X症候群の様なtriplet repeatの延長による染色体の脆弱性以外に、染色体の微小欠失が知的障害の原因として重要であることが明らかになった。

E. 結論

精神遅滞、自閉症、てんかんをきたす例では、成長障害、特有の顔貌、奇形がなくても、染色体検査、脆弱X検査に異常がない場合には、マイクロアレイCGH法によるスクリーニングを行い、診断確定を行うことが望まれる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Liang J-S, Shimojima K, Sugiura C, Une Y, Ohno K, Yamamoto T. A newly recognised microdeletion syndrome of 2p15-16.1 manifesting moderate developmental delay, autistic behaviour, short stature, microcephaly, and dysmorphic features: a new patient with 3.2 Mb deletion. *J med Genet* 46:646-647, 2009
- 2) Shimojima K, Komoike Y, Tohyama

J, Takahashi S, Páez MT, Nakagawa E, Goto Y, Ohno K, Ohtsu M, Oguni H, Osawa M, Higashinakagawa T, Yamamoto T. TULIP1 (RALGAPA1) haploinsufficiency with brain development delay. *Genomics*. 94:414-422, 2009.

- 3) Shimojima K, Sugiura C, Takahashi H, Ikegami M, Takahashi Y, Ohno K, Matsuo M, Saito K, Yamamoto T. Genomic copy number variations at 17p13.3 and epileptogenesis. *Epilepsy Res.* 89(2-3):303-309, 2010.

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の出願・登録状況

5. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
杉江秀夫	糖代謝異常症1 (肝型糖原病)	遠藤文夫ら	症例から学ぶ 先天代謝異常 症	診断と治 療社	東京	2009	pp2-4
福田冬季 子、杉江 秀夫	Pompe病の酵素 補充療法 (Myoz yme)	柳沢信夫ら	Annual Rev iew神経200 9.	中外医 学社	東京	2009	Pp197-2 02

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Otsuka S, Sakamoto Y, Siomi H, Itakura M, Yameamoto K, Matumoto H, Sasaki T, Kato N, Nanba E.	Fragile X carrier screening and FMR1 allele distribution in the Japanese population.	Brain Dev	32	110-14	2010
Ishii K, Hosoya A, Adachi K, Nanba E, Taamaoka A.	A Japanese case of Fragile-X associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS).	Internal Medicine			In press
Koga M, Ishiguro H, Yazaki S, Horiuchi Y, Arimai M, Niizato K, Iritani S, Ito-kawa M, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Kunugi H, Sasaki T, Takahashi M, Watanabe Y, Someya T, Kakita A, Takahashi H,	Involvement of SMARCA2/BRM in the SWI/SNF chromatin-remodeling complex in schizophrenia.	Human molecular genetics	18	2483-94	2009

Ishiguro H, Koga M, Horiuchi Y, Noguchi E, Morikawa M, Suzuki Y, Arai M, Niizato K, Iritani S, Itokawa M, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Kunugi H, Sasaki T, Takahashi M, Watanabe Y, Someya T,	Supportive evidence for reduced expression of GNB1L in schizophrenia.	Schizophr Bulletin				in Press
Sugie Y, Sugie H, Fukuda T, Osawa J.	Study of HOXD genes in autism particularly regarding the ratio of second to fourth digit length.	Brain & Development	32(5)	356-61		2010
杉江陽子、杉江秀夫	自閉症スペクトラム障害におけるSSRIの臨床効果およびSLC6A4と5-HT2A遺伝子多型との関係	脳と精神の医学	20(2)	119-132		2009
杉江陽子、杉江秀夫	自閉症スペクトラム障害における周生期および新生児期関連要因	精神神経学雑誌	111(11)	1397-1403		2009
後藤雄一	精神遅滞・てんかんの臨床遺伝学	小児科診療	72	109-112		2009
Liang J-S, Shimojima K, Sugiura C, Une Y, Ohno K, Yamamoto T.	A newly recognised microdeletion syndrome of 2p15-16.1 manifesting moderate developmental delay, autistic behaviour, short stature, microcephaly, and dysmorphic features: a new patient with 3.2 Mb del	Journal of Medical Genetics	46	645-647		2009
Shimojima K, Komoiike Y, Tohyama J, Takahashi S, Páez MT, Nakagawa E, Goto Y, Ohno K, Ohtsu M, Oguni H, Osawa M, Higashinakagawa T, Yamamoto T.	TULIP1 (RALGAP1) haploinsufficiency with brain developmental delay.	Genomics	94	414-422		2009

Shimajima K, Sugiyama C, Takahashi H, Ikegami M, Takahashi Y, Ohno K, Matsuo M, Saito K, Yamamoto T.	Genomic copy number variations at 17p13.3 and epileptogenesis	Epilepsy Research	89	303-309	2010
--	---	-------------------	----	---------	------

Original article

Fragile X carrier screening and *FMRI* allele distribution in the Japanese population

Susumu Otsuka^{a,h}, Yumiko Sakamoto^a, Haruhiko Siomi^b, Mituo Itakura^c, Kenji Yamamoto^d, Hideo Matumoto^e, Tsukasa Sasaki^f, Nobumasa Kato^g, Eiji Nanba^{a,*}

^a Division of Functional Genomics, Research Center for Bioscience and Technology, Tottori University, 86 Nishicho, Yonago, Tottori 683-8503, Japan

^b Department of Molecular Biology, Keio University School of Medicine, 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan

^c Division of Genetic Information, Institute for Genome Research, The University of Tokushima, 3-18-15 Kuramoto, Tokushima, Tokushima 770-8503, Japan

^d Department of Psychiatry, Kitasato University School of Medicine, 1-15-1 Kitasato, Sagami-hara, Kanagawa, Japan

^e Department of Psychiatry, Course of Specialized Clinical Science, Tokai University School of Medicine, Bohseidai, Isehara, Kanagawa 259-1193, Japan

^f Health Service Center, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-Ku, Tokyo, Japan

^g Department of Psychiatry, School of Medicine, Showa University, 6-11-1 Kitakarasuyama, Setagaya-Ku, Tokyo, Japan

^h Department of Biomedical Science, Institute of Regenerative Medicine and Biofunction, Graduate School of Medical Science, Tottori University, 86 Nishicho, Yonago, Tottori 683-8503, Japan

Received 27 October 2008; received in revised form 1 December 2008; accepted 19 December 2008

Abstract

Fragile X syndrome (FXS), which is the most common form of familial mental retardation, is caused by the expansion of the CGG repeat in the *FMRI* gene on the X chromosome. Previous studies have suggested that as compared to other populations, Japanese have a lower prevalence of FXS. In addition, in the normal population, there are no carriers who have the premutation allele. We analyzed a total of 946 normal Japanese (576 males and 370 females) and attempted to estimate the frequency of the *FMRI* allele. Within this population, we found that 1,155 alleles were in the normal range (less than 40 CGG repeats) and had a modal number of 27 repeats (35.75%). No carriers with premutations (55–200 CGG repeats) were observed in this normal population. We also identified six intermediate-sized alleles (40–54 CGG repeats), with a reported incidence of 1 in 103 males and 1 in 324 females. However, this allele frequency was different from that previously reported for the Japanese population. Since data from previous studies has suggested that FXS might possibly be associated with the genetic mechanism of autism, we also analyzed the length of the CGG repeats in 109 autistic patients. In all cases the CGG repeat numbers were within the normal range (16–36 repeats) and no individuals presented with expanded premutation or intermediate alleles. This finding indicates that the length of the CGG repeat within the *FMRI* is unlikely to be responsible for autism in Japanese.

© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Fragile X syndrome; *FMRI*; CGG repeat; Premutation allele; Autism

1. Introduction

Fragile X syndrome (FXS) has been reported to be the common cause of inherited mental retardation [1]. Clinically, these patients exhibit mental retardation, macroorchidism, large ears and long faces. In most

* Corresponding author. Tel.: +81 859 38 6472; fax: +81 859 38 6470.
E-mail address: enanba@med.tottori-u.ac.jp (E. Nanba).

cases, the mental retardation is moderate-to-severe, with frequent occurrences of autistic-like behaviors. Approximately 30% of the individuals with FXS are classified as being within the autistic spectrum [2]. While several reports have suggested there is an association between the FXS and autism, as of yet, no strong evidence has been found that confirms a link to autism [3].

FXS is caused by an expansion of the CGG repeat, which is located in the 5'-untranslated region (5'-UTR) of the first exon of the fragile X mental retardation 1 gene (*FMR1*) at the chromosomal locus Xq27.3 [4]. The number of CGG repeats is highly polymorphic, ranging from 6 to 50 triplets in normal individuals. The expansions with more than 200 repeats, are observed in fragile X syndrome and are named the full mutation. Full mutation results in hypermethylation of the CpG island within the *FMR1* promoter region along with transcriptional silence of the gene. When a premutation (55–200 repeats) is maternally transmitted it can expand to a full mutation. It has been reported that the larger repeats carry greater risks of expansion than the smaller repeats [5]. The intermediate allele (between 40 and 54 repeats) have been shown to be slightly unstable upon transmission [5,6]. A full mutation in a proband were expanded from an intermediate allele over a span of two generations [7]. The intermediate alleles have been termed 'gray zone' alleles [8] and the larger the size the greater the increase in the instability. The American College of Medical Genetics has recommended that intermediate alleles be considered as a possible risk factor for repeat expansion [9]. At the present time, the frequency of the intermediate alleles in the Japanese population remains unknown.

To determine the prevalence of FXS, a previous study examined patients with mental retardation for the full mutation and initially estimated the rate to be 1 for every 4000–6000 males, although this appeared to vary from group to group [10]. More recently, in order to determine more accurate estimations, several studies were performed in the general population and results indicated that 1 out of 113–441 females and 1 out of 813–1674 males were carriers with the premutation alleles [11–14].

In another study that screened for the full mutation, it was found that there was a lower prevalence of the mutation in Japanese than in other populations [15]. In previous screenings among the normal Japanese population, no premutation allele were found in two different studies, one that examined 824 X chromosomes [16] and one that examined 826 X chromosomes [17]. These results were lower than that observed in Caucasians. Based on these findings, it appears that the prevalence of FXS and allele distribution in Japanese is different from other populations.

In this study, we focused on the CGG repeat length for use in both detecting the intermediate and premutation alleles among the general population. Furthermore, we also analyzed the length of the CGG repeats and their potential involvement for autism in Japanese.

2. Materials and methods

2.1. Samples

A total of 946 normal Japanese samples (576 males and 370 females) collected by the Pharma SNP consortium (PSC) were analyzed [18–20]. PSC control population represents those who voluntarily took part in the project in response to public internet invitation for collecting healthy control population against major illness such as diabetes, hypertension, dementia, cancer, or allergic diseases. Although the socioeconomical and educational condition cannot be specified, they represent self-declaring Japanese control population in Tokyo area with the absence of major illness confirmed by the physician.

Samples from 109 autistic Japanese patients were collected at Tokai University and The University of Tokyo. All autistic patients were diagnosed using the DSM-IV and ICD-10 criteria by two child psychiatrist. IQ score was evaluated and each 13, 13, 12 and 17 patients were more than 70, 69–50, 49–35 and below 34, respectively. The score were not evaluated in 54 patients. Total DNA was extracted from peripheral blood or lymphoblasts, as has been previously reported [15]. The Ethical Committees of the Faculties of Medicine at Tottori University, Tokushima University, Tokai University and Tokyo University approved the study protocol.

2.2. CGG repeat analysis

Analysis of the CGG repeat of the *FMR1* gene was performed using a previously reported method [15] with minor modification. For relatively short size repeats, we amplified the repeat using the Cy5-labeled forward primer, with the amplicons analyzed using an ALFred DNA automated sequencer (Amersham Biosciences). PCR method 2 (hybridization method) was used to detect the expanded repeats [15]. We already confirmed PCR method 2 (hybridization method) enough to detect the expanded allele compared with a Southern blotting for the limited amount of the DNA. By the hybridization method, we could detect the normal to full mutation allele. All PCR products were analyzed using an ALFred DNA automated sequencer and PCR method 2 (hybridization method).

2.3. Statistical analysis

To statistically compare the distribution of the CGG repeat length between our current study and other previously published reports, we analyzed the data on a clumped 2 × 2 table using the CLUMP software [21].