

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

わが国におけるX連鎖 α サラセミア・精神遅滞(ATR-X)症候群の

診断基準・診療指針の作成および医療・患者間の

情報ネットワークの確立に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 和田敬仁

平成22(2010)年 3月

目 次

I. 総括研究報告

わが国におけるX連鎖 α サラセミア・精神遅滞(ATR-X)症候群の診断基準・診療指針の作成および医療・患者間の情報ネットワークの確立に関する研究	1
和田敬仁	
図1~8	5
資料1 日本人症例におけるATRX遺伝子変異	9
資料2 診断基準・診断のためのフローチャート	10
資料3 診断のための説明文書	13
資料4 遺伝子解析のための説明文書	15
資料5 遺伝子解析のための同意書	19
資料6 ATR-X症候群 Q&A	21
資料7 第1回 ATR-X症候群患者さんに関わる皆さんのための勉強会議事録	25

II. 分担研究報告

1. 大阪府立母子保健総合医療センターにおける ATR-X 症候群に関する研究	63
岡本伸彦	
2. ATR-X 症候群の新しい分子遺伝学的診断方法の開発に関する研究	66
小坂仁	
3. わが国における ATR-X 症候群の発生頻度の推定に関する研究	70
黒澤健司	
4. 臨床情報の収集およびリサーチリソースの運用に関する研究	75
後藤雄一	
5. SLC9A6 遺伝子変異を原因とする X 連鎖精神遅滞に関する研究	77
斉藤伸治	
6. 3D-FISH 法を用いた ATR-X 症候群の病態解明に関する研究	81
田辺秀之	
7. ATR-X 症候群における情報管理, 倫理問題への対応に関する研究	82
福嶋義光	
8. ATR-X の分子病態に関する研究	83
松本直通	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	87
---------------------	----

IV. 班構成員名簿	91
------------	----

[I] 総括研究報告

厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

わが国における X連鎖性 α サラセミア・精神遅滞 (ATR-X) 症候群の診断基準・診療指針の作成および
医療・患者間の情報ネットワークの確立に関する研究

研究代表者 和田敬仁 神奈川県立こども医療センター 医長

研究要旨：X連鎖性 α サラセミア・精神遅滞 (ATR-X) 症候群は、重度精神遅滞や α サラセミアを中心とする多彩な症状を特徴とする X染色体連鎖性精神遅滞症候群の一つでもあり、日本国内では約60名で診断されている稀少疾患である。責任遺伝子 *ATR-X* はクロマチン調節関連蛋白をコードし、エピジェネティクス機構の破綻が病態と考えられるが、詳細は不明である。本研究班は ATR-X 症候群の臨床及び基礎研究推進のため、9人の研究者から構成された。臨床研究として、日本における ATR-X 症候群の頻度の推定、診断基準の作成、患者データベースの作成、患者・ご家族への医療情報提供のためのホームページの作成および勉強会の開催を行った。また、基礎研究としては、ATR-X 症候群の分子遺伝学的診断法の確立と病態解明のためのオリゴ DNA アレーを用いたエピゲノム異常の検索、3D-FISH 法を用いた遺伝子発現と核内配置の検索を行うとともに、基礎研究推進のための基盤整備を行った。

A. 研究目的

精神遅滞 (MR: mental retardation) は、全人口の約1〜3%でみとめる、非常に頻度の高い病態であるが、癌などと異なり、積極的な治療法がないと考えられ、またその原因は非常に多様であるため、研究の対象となりにくく、診療面でも敬遠されている領域である。しかし、自閉症を中心とする発達障害と共に、その療育に対する社会的および経済的な負担は小さくない。よって、科学的な根拠に基づいた治療あるいは療育が求められるため、MRの解明は他の疾患同様必須である。

近年の研究の成果により、MRの原因として、エピジェネティクスが重要な役割を果たしていることが示されつつある。エピジェネティクスとは、ヒトの30億塩基対からなるDNAの遺伝情報以外の遺伝情報で、簡単には、DNAのメチル化を中心とするDNAへの化学的修飾による遺伝子発現の制御機構である。最近、動物実験レベルではあるが、母親の子どもに対する養育態度、あるいは幼少時の栄養が遺伝子の働きを変化させ、一生の行動様式に影響を与えることが明らかにされ、疾患発症における、遺伝的要因と環境的要因を結びつけるものがエピジェネティクスであることが注目されている。

我々の研究の対象としているX連鎖性 α サ

ラセミア・精神遅滞 (ATR-X : X-linked α -thalassemia/Mental Retardation) 症候群は、重度精神遅滞、特異顔貌、 α サラセミア、性分化異常、骨格異常、行動異常など多彩な症状を特徴とする奇形症候群であり、その責任遺伝子 *ATR-X* はX染色体に局在する、X染色体連鎖性精神遅滞症候群の一つでもある [Gibbons et al., 1995]。(図1)

ATR-X 遺伝子は、DNAメチル化とともに、エピジェネティクス機構に関わるクロマチンリモデリング蛋白因子をコードしており、ATR-X 症候群は、Rett症候群、Coffin-Lowry症候群、Rubinstein-Taybi症候群、ICF症候群、Sotos症候群、Angelman症候群、Prader-Willi症候群などとともに、エピジェネティクス機構の破綻が病態と考えられている。(図2) すなわち、ATR-X 症候群においては、*ATR-X* 遺伝子の機能喪失型変異により、複数の遺伝子 (*ATR-X* タンパクの標的遺伝子) 発現調節異常が病態と考えられるが、そのメカニズムはいまだに不明な部分が多い。(図3)

ATR-X 症候群は、日本国内には約60名、世界的にも約200症例程度が診断されていると推測される、「稀少疾患」であるが、本症候群が周知されておらず、診断されていない症例が多数存在することが推測されている。また、症例が少ないために、医療情報が不足し、患者・ご家族が不利益を被っている。

本研究においては、臨床的研究および基礎的研究を推進するための研究班(図4)を構成した。臨床的研究においては、日本における ATR-X 症候群の頻度の推定(黒澤)、患者データベースの作成および診断基準の作成(岡本、黒澤、斉藤、和田)、患者・ご家族への医療情報提供のためのホームページの作成や勉強会の開催(黒澤、和田)を目的とした。また、基礎的研究として、ATR-X 症候群の分子遺伝学的診断方法の確立(小坂、和田)、病態解明のためのオリゴDNAアレーを用いたエピゲノム異常の検索(松本)、3D-FISH法を用いた遺伝子発現と核内配置の解析(田辺)を行うとともに、臨床および基礎研究推進のための基盤整備(後藤、福嶋)を目的とした。

(各研究に関しては、分担報告書を参照のこと。)

B. 研究成果

本研究においては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」「臨床研究に関する倫理指針」「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取扱いのためのガイドライン」をはじめ、各種指針・規範を遵守し、研究対象者の人権擁護と個人情報保護に十分配慮した上で研究を実施する必要があることを研究者間で再確認した。また、本研究では多数の施設の患者情報を収集するため、個人情報の保護には最大限の配慮を行った。

個人情報管理者は患者を定められた方法によって匿名化し、オフラインの専用コンピュータ内に情報を一括集積したうえ、このコンピュータを施錠可能なロッカーに保管した。

情報管理と倫理問題への配慮については、わが国における多くの倫理指針・ガイドラインの策定に参画した研究分担者(福嶋)が、研究全体における倫理的問題の有無について評価ならびに必要な対応を行なった。

(a) 臨床研究

(1) 日本国内における ATR-X 症例の把握(図5)(和田、岡本、黒澤)

我々は、平成6年以降より ATR-X 症候群に対する臨床および基礎研究に取り組んできた[和田、1998; Wada T, 2000]。現在までに、日本全国の主治医から、臨床的に ATR-X 症候群の診断された、あるいは、臨床的に ATR-X

症候群が疑われる症例に対して、分子遺伝学的解析を行うと同時に、臨床情報を蓄積し、診断基準の作成を試みた。

現在までに、65名が診断されている。日本国内における分布をみると、神奈川県を中心とする首都圏、および、大阪を中心とする地域に症例が偏っていた。

(2) わが国における ATR-X 症候群の発生頻度の推定(黒澤)

神奈川県立こども医療センター遺伝科外来における Down 症候群症例との比較から、ATR-X 症候群の頻度が推定された。ATR-X 症候群の発生頻度は、Down 症候群の約145分の1であり、男児5.8-7.3万人に1人であることが示された。

今回明らかにされた地域差は、ATR-X 症候群の診断が可能な専門病院あるいは医師が少ない、あるいは、ATR-X 症候群が鑑別診断として周知されていないことを反映している可能性がある。

日本の出生数約100万で、年間10人前後の症例が発症していると推測される。よって、診断されていない症例が、多数存在していると推測される。

(3) 日本人症例における ATRX 遺伝子変異(図6、資料1)(和田、岡本、斉藤)

現在までに、日本人患者45家系56名で ATRX 遺伝子変異が明らかにされている。

従来の報告[Gibbons RJ, Wada T, et al. 2008]に一致して、機能的に重要と考えられている ADD ドメイン、およびクロマチンリモデリングドメインに変異が集中していた。

(4) ATR-X 症候群の診断基準の作成(和田、岡本、黒澤)

ATR-X 患者65名の臨床情報をもとに、診断基準および診断のフローチャートの作成を試みた。(資料2)

(4) 「ATR-X 症候群ネットワークジャパン」の立ち上げとホームページの作成(和田)

平成22年2月1日に、ATR-X 症候群の患者さんやご家族および、患者さんに関わる関係者に対する情報を発信・交換を目的として、

「ATR-X 症候群ネットワークジャパン」を設立し、神奈川県立こども医療センターに本部を置くとともに、ホームページを作成した。(図7)

(<http://kcmc.jp/ATR-X/index.html>)

ATR-X 症候群の解説、本研究班の紹介、遺伝子解析に関するお知らせ、勉強会の報告などから構成されている。(資料3-6)

(5) 勉強会の開催 (図8, 資料7)

ATR-X 症候群の患者さんやご家族および、患者さんに関わる関係者を対象とした ATR-X 症候群に関する情報提供および情報交換を目的として、「第1回 ATR-X 症候群 患者さんに関わる皆さんのための勉強会」を平成22年2月20日、神奈川県立こども医療センターで開催した。

神奈川県を中心として、東京都、静岡県、滋賀県、大阪府、長野県、新潟県から患者・ご家族15家族と患者さん関係者、および、全国の認定遺伝カウンセラー6名がボランティアで参加頂いた。神奈川県立こども医療センターの神経内科、遺伝科、看護師、理学療法士がスタッフとして参加し、総勢60名の会となった。

勉強会は、前半は、和田により「ATR-X 症候群ネットワークジャパン」の設立について、遺伝科黒澤医師より「ATR-X 症候群はどんな疾患か」についての講演、後半は、参加による情報交換会から構成された。

(6) ATR-X 症候群研究の推進における、倫理問題への対応 (福嶋)

ATR-X 症候群は X 連鎖劣性遺伝病であり、発端者の診断は、母親の保因者診断とも結びつく可能性が高い。本症候群の診断指針の作成、患者臨床情報の登録、患者・ご家族と医療者間の医療情報ネットワーク構築における、患者・ご家族および主治医とともに臨床研究を進めるための遺伝カウンセリング体制の整備について検討した。

(b) 基礎研究

(1) ATR-X 症候群の新しい分子遺伝学的診断方法の検討 (小坂、和田)

ATR-X 遺伝子は 36 エクソン、300kb のゲノム DNA からなり、10.5kb の mRNA の転写産物をコードしている。診断精度や経済的な効率をあ

げるため、患者末梢血から RNA を抽出し、cDNA を合成、PCR およびダイレクトシーケンシング法により診断する方法を確立し、解析時間は1-2週間、解析費用は5万円以下と従来方法に比べて、それぞれ、1/5-10, 1/2-3 と大幅に改善された。

(2) 3D-FISH 法を用いた ATR-X 症候群の病態解明 (田辺)

ATR-X 患者および健常者血液より樹立したリンパ芽球様細胞株を用いて 3 次元構造を維持した細胞核の固定を行い、ATR-X 遺伝子が局在する X 染色体長腕および α グロビンが局在する 16 番染色体短腕の特異的ペインティングプローブでハイブリダイズし、共焦点レーザー स्क्यान顕微鏡を用いた 3D-FISH 法により、当該領域の核内配置と遺伝子発現異常との関連を解析するための、適切な実験条件を見出した。

(3) エピゲノム異常の検索による ATR-X 症候群の病態解明 (松本)

分子遺伝学的診断がされている ATR-X 患者 12 名を対象にオリゴ DNA アレーを用いて、ゲノムワイドにエピゲノム異常を検索した。正常対照とは異なる複数のメチル化異常候補領域を同定し、そのうち *HOXA1* 遺伝子を含む領域のメチル化不安定領域と ATR-X 症候群における精神遅滞との関連性が示された。

(4) *SLC9A6* 遺伝子変異の解析 (斉藤)

ATR-X 症候群の鑑別診断として重要な、X 連鎖精神遅滞の責任遺伝子の一つである *SLC9A6* 遺伝子の変異解析を X 連鎖精神遅滞患者 103 名および Angelman 症候群(AS)様患者 22 名に行った。AS 様患者 1 名で変異が同定され、頻度は高くないが、精神遅滞における *SLC9A6* 遺伝子の重要性が示された。

(5) リサーチリソースの運用による ATR-X 研究の推進 (後藤)

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」事業のバイオリソースを利用して、ATR-X 症候群の分子遺伝学的解析が行われ、平成21年度に新たに1家系で同定され、現在までに200検体中4家系で ATR-X

症候群と診断された。わが国における精神遅滯研究推進において、バイオリソースが有用であることが示された。

D. 考察

ATR-X 症候群をはじめとする稀少疾患においては、絶対的に医療情報が不足するため、患者・およびご家族は医療的にも、精神的にも孤立する可能性がある。また、医療者も、診断する機会に乏しく、結果的に診断に至らない症例が多数存在することになる。

ATR-X 症候群の臨床研究および病態解明のための基礎研究の推進には、まず、臨床医における ATR-X 症候群の周知により、確実に患者さんを診断し、臨床情報を集積していくことは必須である。

本研究においては、臨床及び基礎研究の推進のための班員構成を行ったが、特に平成 21 年度においては、研究推進のための基盤づくりとしての基盤づくりに重点を置いた。

臨床研究として、平成 6 年より蓄積してきた患者データをもとに、日本人における ATR-X 患者の疫学的調査を行い、診断基準を作成した。現状では、稀少疾患ゆえに、日本における ATR-X 患者の診断に地域差があるが、新たな診断基準により、診断される症例が増加し、更なる知見の集積が期待される。

また、患者・ご家族および医療者への情報発信・交換の場を提供すること、および ATR-X 症候群の周知を目的としたホームページの作成や勉強会の開催を行った。特に、勉強会においては、同じ不安を抱えるご家族同士が情報を交換し、またお互いに共感することにより、孤立感から解放され、疾患に対して不安感が軽減され、疾患に対して前向きに取り組む姿勢がうかがわれた。

基礎研究においては、経済的にも医療的にも、より精度が高く、かつ安価で効率の良い診断方法が確立されたことにより、より、医療現場で患者・ご家族に役立つ診断法の提供が可能となり、今後増加することが期待される ATR-X 症候群の鑑別としての診断に有用である。

また、治療方法の開発には、病態解明は必須であり、エピゲノム異常を指標としたゲノムワイドの網羅的な検索（松本）や 3D-FISH を用いた遺伝子発現異常と核内配置の研究は平成 22 年度以降も進めていくことが期待される。

今日では、誰でも遺伝子解析を行うことが可

能となってきているため、各施設での稀少疾患に対しての遺伝子診断は、「希な疾患の症例報告」で終わることが多い。ATR-X 症候群を代表とする稀少疾患における分子遺伝学的診断および患者の臨床情報は、小児専門病院や大学などに集約・登録し、分子遺伝学的診断精度を高めるとともに、患者情報を集積し、患者・ご家族、医療者に還元していくことは必須であり、神奈川県立こども医療センターを中心とした本研究は、小児専門病院における稀少疾患に対する取り組みを示すものである。

E. 結論

本研究において、ATR-X 症候群の臨床および基礎研究の基盤整備が行われた。稀少疾患において、小児専門病院を中心とした分子遺伝学的診断の集約、および患者臨床情報の登録は重要であり、継続的に行われる必要がある。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Tokutomi T, Wada T, Nakagawa E, Saitoh S, Sasaki M. A de novo direct duplication of 16q22.1 --> q23.1 in a boy with midface hypoplasia and mental retardation. *Am J Med Genet* 149A: 2560-3, 2009

和田敬仁 ATR-X 症候群とクロマチン構造変化 *実験医学* 27: 2902-9, 2009

和田敬仁 X連鎖精神遅滯症候群 *小児内科* 41増刊: 281-4, 2009

2. 学会発表

和田敬仁 小児神経疾患の最近の話題-エピジェネティクスを中心に- 第 301 回日本小児科学会神奈川地方会, 横浜、平成 21 年 11 月 14 日

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

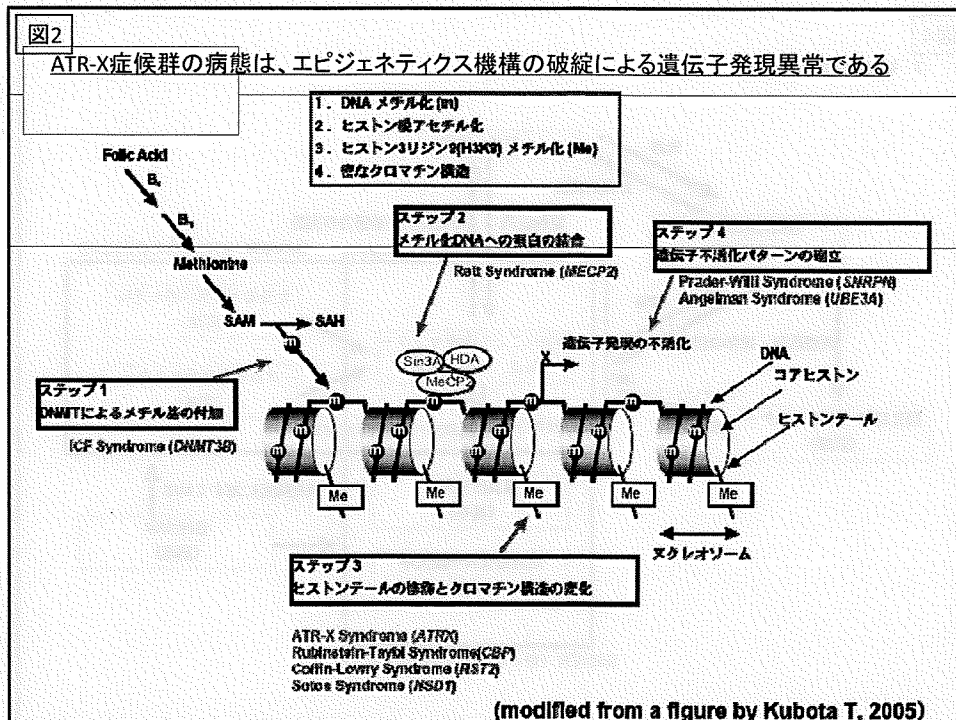
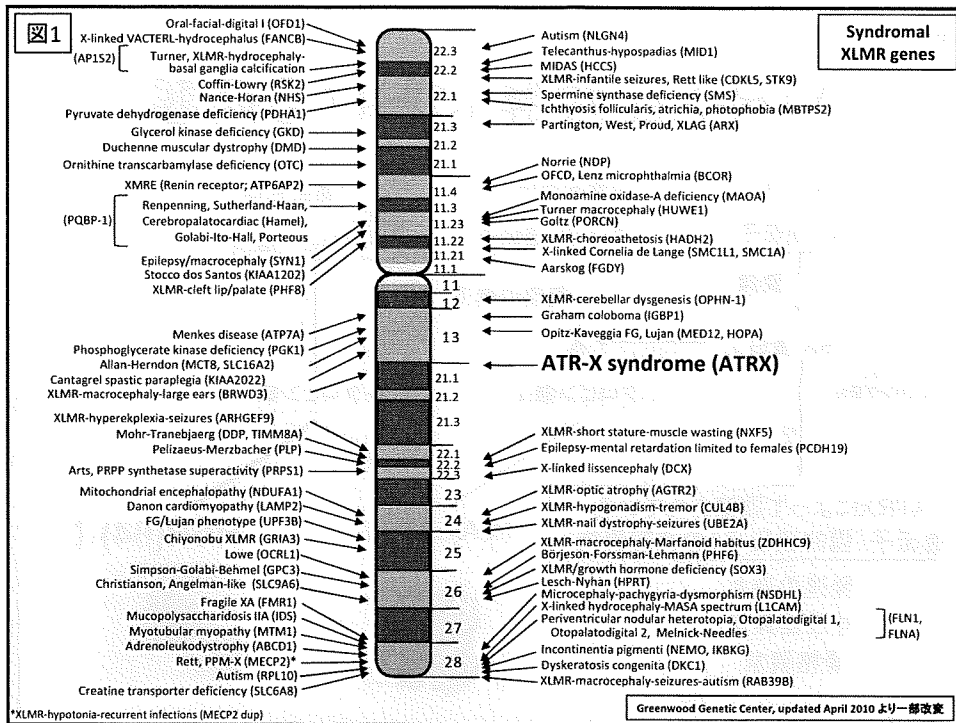


図3

ATR-X症候群における病態

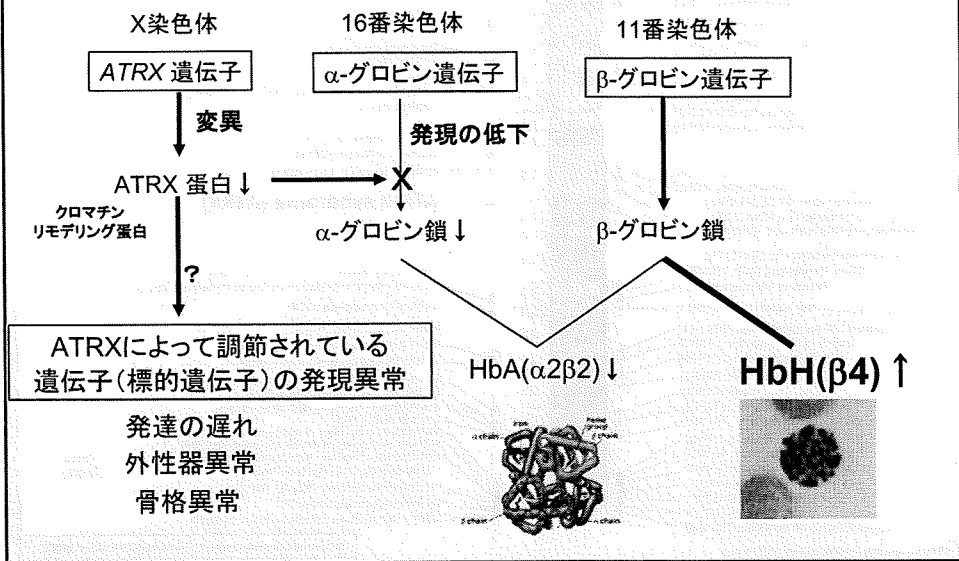
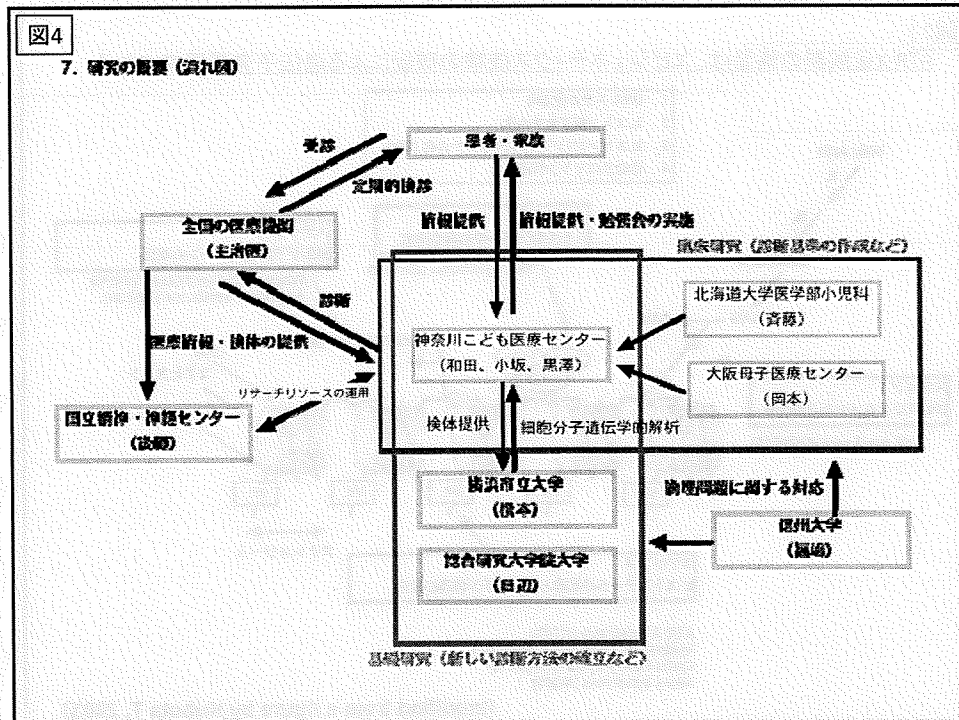


図4

7. 研究の概要 (流れ図)



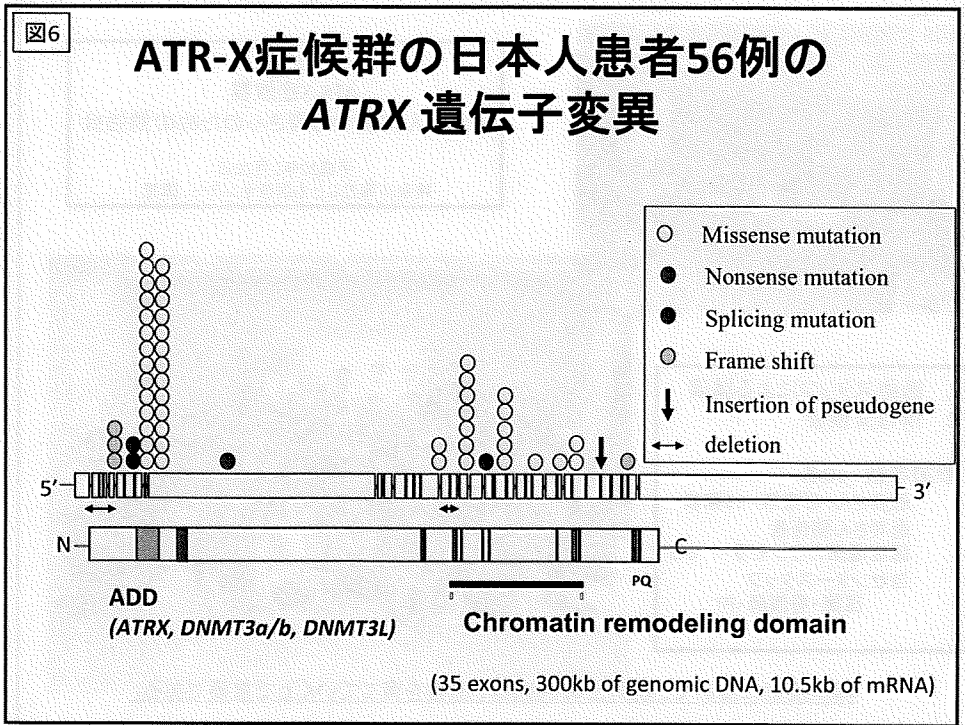
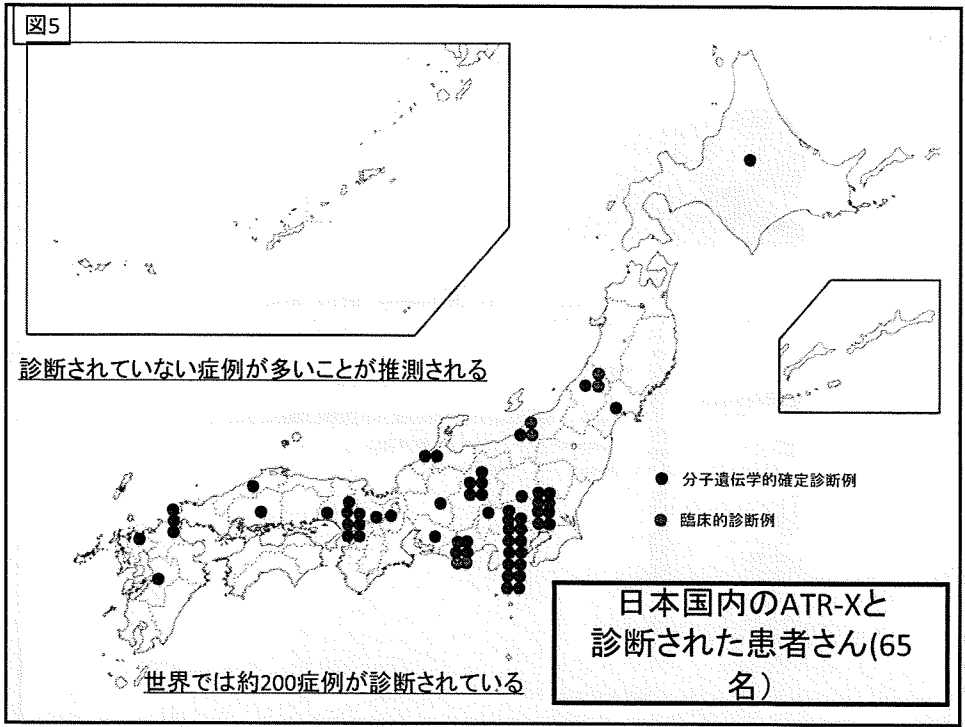


図7

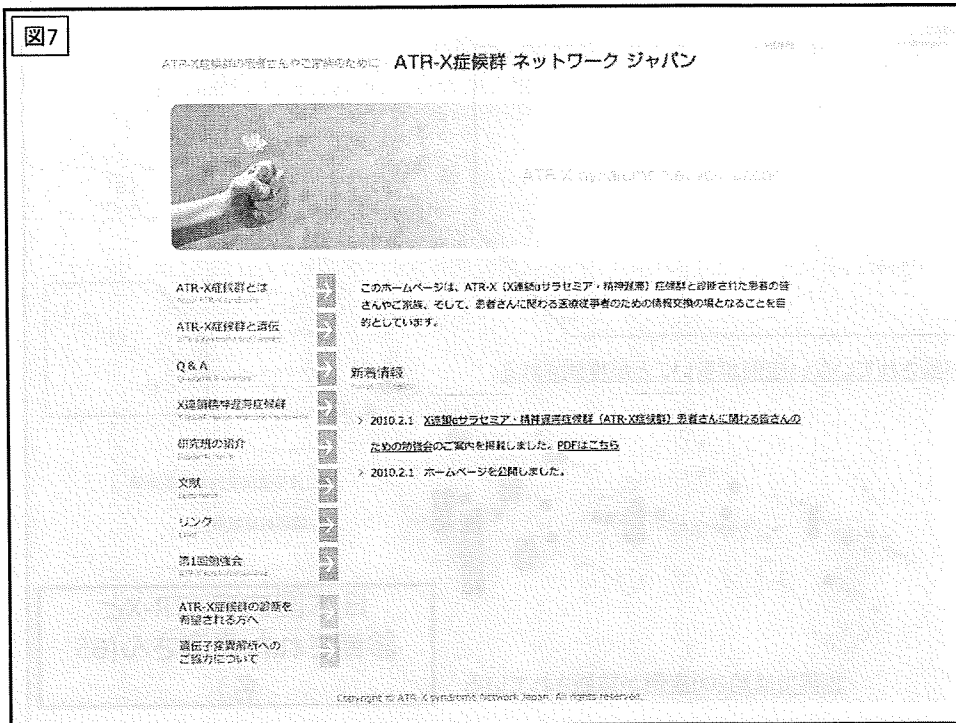


図8



資料1. ATR-X症候群の日本人症例におけるATRX遺伝子変異

Patient #	Family #	Exon/intron	Nucleotide change	Amino acid change	HbH
1	1	2	Ex2_5		+
2	2	5	c. 370G>T;r[243_484del]	p. R81fs	-
3		5	c. 370G>T;r[243_484del]	p. R81fs	-
4	3	6	c. 390_391 ins A	p. E131fs	
5	4	8	N179S	p. N179S	+
6	5	8	c. 536A>G; r[532_594del]	p. V178_K198del	+
7	6	8	c. 536A>G; r[532_594del]	p. V178_K198del	
8	7	8	c. 568C>G	p. P190A	+
9	8	8		p. P190L	+
10	9	8	c. 580G>A	p. V194I	+
11	10	8	c. 581T>C	p. V194A	-
12	11	10	c. 667T>C	p. C223R	-
13	12	10	c. 668G>T	p. C223F	+
14	13	10	c. 687G>C	p. L229F	+
15	14	10	c. 695G>A	p. C232Y	
16	15	10	c. 727T>C	p. C243R	
17	16	10	c. 734T>C	p. L245P	-
18		10	c. 734T>C	p. L245P	+
19	17	10	c. 736C>T	p. R246C	-
20	18	10	c. 736C>T	p. R246C	+
21	19	10	c. 736C>T	p. R246C	+
22	20	10	c. 736C>T	p. R246C	+
23		10	c. 736C>T	p. R246C	+
24		10	c. 736C>T	p. R246C	-
25	21	10	c. 736C>T	p. R246C	+
26	22	10	c. 736C>T	p. R246C	+
27	23	10	c. 736C>T	p. R246C	+
28	24	10	c. 736C>T	p. R246C	
29	25	10	c. 736C>T	p. R246C	+
30	26	10	c. 736C>T	p. R246C	-
31	27	10	c. 736C>T	p. R246C	+
32	28	10	c. 794G>A	p. C265Y	+
33	29	10	c. 797A>G	p. Y266C	
34	30	10	c. 1727C>A	p. S576X	+
35	31	17	c. 4654G>T	p. V1552F	+
36		17	c. 4654G>T	p. V1552F	+
37	32	18	c. 4744_4746 del.	p. T1582del	
38	33	19	c. 4865C>T	p. A1622V	
39		19	c. 4865C>T	p. A1622V	
40		19	c. 4865C>T	p. A1622V	
41	34	19	c. 4870G>A	p. V1624M	
42		19	c. 4870G>A	p. V1624M	
43		19	c. 4870G>A	p. V1624M	
44	35	19	c. 4934T>C	p. L1645S	+
45	36	int21	c. 5273-5C>G; r[5273-5448del]	p. Y1758X	+
46	37	23	C. 5498A>G	p. Y1833C	
47		23	C. 5498A>G	p. Y1833C	
48	38	23	c. 5540A>G	p. Y1847C	+
49	39	23	c. 5540A>G	p. Y1847C	
50		23	c. 5540A>G	p. Y1847C	
51	40	27	c. 6052G>A	p. G2018R	
52	41	29	c. 6253C>T	p. R2085C	
53	42	30	c. 6392G>A	p. R2131Q	+
54	43	30	c. 6406G>A	p. D2136N	-
55	44	int31	insertion of 2kb from chr. 2; splicing abnormality		-
56	45	int35	c. 7200+4A>G, fs		-

資料 2

ATR-X 症候群 診断基準 (平成 21 年度版:試案)

【診断基準】

必発症状・所見 (>90%) (5 つ揃えば、ATR-X 症候群を強く疑う所見)

1. 男性患者

2. 重度精神運動発達

3. 特徴的顔貌

顔面中心部の低形成 (鼻孔が上向き、厚い下口唇、鼻根部が平低、三角口、すき間の空いた門歯)、小頭、耳介低位

4. 消化器系の異常

空気嚥下症、嘔吐、胃食道逆流、便秘、イレウス、流涎過多

5. 特異的症状・行動

手を口に突っ込み嘔吐を誘発

突然の笑い発作、感情の高ぶり

自閉症様：視線を合わそうとしない、常同運動 (指をこする、など)

姿勢：斜め上を見上げる、手のひらを上に向けて、顎を突き上げる、あるいは首をしめる仕草

自傷行為

高頻度に認める症状・所見(50%以上)

新生児期

哺乳障害(経管栄養を必要とする)、筋緊張低下

外性器の異常

小精巣、停留精巣、小陰茎、女性外性器様

消化器系の異常

空気嚥下症、嘔吐、胃食道逆流、便秘、イレウス、流涎過多

骨格の異常

先細りの指、第 5 指短指症、指関節の屈曲拘縮

発育 低身長

姿勢・運動の異常

自閉症様：視線を合わそうとしない

常同運動：指をこする(pill-rolling),

姿勢：斜め上を見上げる、顎を手のひらを返して突き上げる、あるいは首をしめるような仕草

自傷行為

検査

Brilliant Cresyl Blue 染色による HbH の封入体をもつ赤血球の存在
(☞陽性率は約 20%)

しばしば認める症状・所見(50%以下)

中枢神経 てんかん

心臓 心奇形

腎臓 奇形

眼科 白内障、斜視

その他

原因不明の脳症、

全く食事を受け付けなくなる発作を周期的に繰り返す

無呼吸、チアノーゼ発作

膝をまげた小刻み歩行、脊柱を前彎した独特の歩き方（歩行獲得例）

その他の参考所見

家族歴 X連鎖性遺伝を疑わせる家族歴

(男性同胞、あるいは母方を介した家系に罹患した患者が存在)

(☞約 1/3 は患者の新規突然変異；2/3 は母親が変異の保因者)

検査

頭部 MRI；脳の構造異常(脳萎縮、脳梁欠損症)、白質の信号異常

ATRX 遺伝子変異の存在

(☞現時点で、*ATRX* 遺伝子変異が確定された場合のみ確定診断される)

【除外診断】

染色体異常症(微細構造異常)

先天性代謝疾患(アミノ酸、有機酸、乳酸・ピルビン酸、血液ガス、生化学検査など)

【鑑別診断】

重度精神遅滞や自閉症を呈する全ての疾患

Fragile X 症候群

Angelman 症候群

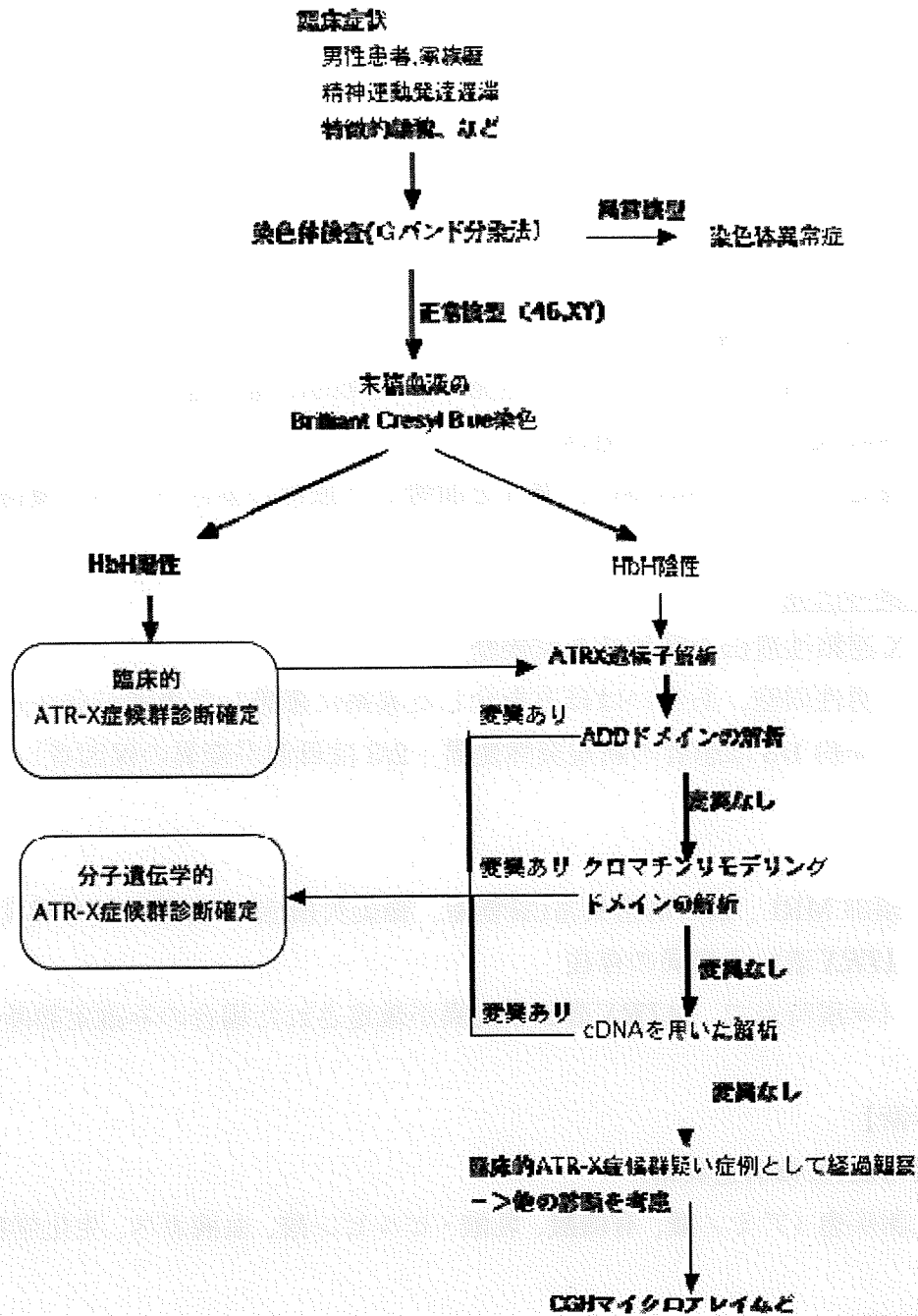
Coffin-Lowry 症候群

Smith-Lemli-Opitz 症候群

FG 症候群

ATR-16 症候群

ATR-X症候群診断のためのフローチャート



資料 3

ATRX 症候群の診断をご希望のご家族、主治医の先生へ

ATR-X 症候群は、症状の組み合わせから、臨床的に診断されます。

男性の患者さん、発達の遅れ、特徴的な顔立ちがあり、末梢血液の Brilliant Cresyl Blue 染色でゴルフボール状(HbH 陽性)の赤血球が確認出来て、染色体検査で異常を認めない場合、ATR-X 症候群と診断して間違いないと考えられます。

遺伝学的な診断を希望される場合、当センターで診断のお手伝いをさせていただきます。研究にご協力頂いている形であるので、検査にかかる費用は無料です。

【当センターにおける一般的な診断方法】

1. 末梢血液の Brilliant Cresyl Blue 染色で HbH 陽性の赤血球の有無を確認します。(HbH 陰性でも、次に進みます。)
2. 血液から抽出した DNA を用いて、最初に、6 割の患者さんで変異が検出されるエクソン 8, 9, 10 の一部を解析します。変異が見つからなければ、他のエクソン全領域 (エクソン 1-36) をカバーしてシーケンスを行います。
3. 以上で変異が見つからない場合、ATR-X 症候群で特殊な遺伝子変異か、あるいは、ATR-X 症候群ではない別の診断の可能性があります。前者の可能性に対して、RNA を用いた解析を進めます。

【診断に必要なもの】

1. 検体：患者さんの血液
ヘパリン採血 (通常緑色の採血管) で 最低 5cc を常温でお送り下さい。
☞ご本人以外の血液 (ご両親、ご兄弟) は必須ではありませんが、変異が検出された場合、確認のため必要になることがあります。
2. 同意書 (コピー)
添付ファイル (atrx1, atrx2) をダウンロードしてお使い下さい。
3. 患者さんの臨床情報 (臨床経過、顔写真など)

【遺伝学的診断をご希望される際に、ご注意頂きたいこと】

1. 検体の送り先

〒232-8555 神奈川県横浜市南区六ツ川 2-138-4

神奈川県立こども医療センター 神経内科

和田敬仁

E-mail: twada@kcmc.jp

Tel. 045-711-2351 Fax. 045-721-3324

2. 事前に上記連絡先まで御連絡下さい。
3. 検体が土・日に到着することを避けて頂ければ助かりますが、可能な限り対応いたしますので、御連絡下さい。
4. 変異の場所によっては、1ヶ月以内に結果が出ることもありますが、数ヶ月以上かかることもあります。ご迷惑をおかけしますが、ご了承頂ければと存じます。
5. 遺伝学的診断は、最終目標ではなく、正確な診断の助けであり、患者さんあるいはご家族にとってはスタートラインに立つことになり、診断からが始まりと考えています。遺伝学的検査の前はもちろん、結果をお伝えする時、その後の定期的なフォロー、あるいは、将来の出生前診断など十分な配慮が必要です。日本人類遺伝学会あるいは日本遺伝カウンセリング学会認定の臨床遺伝専門医あるいは遺伝カウンセラーによる遺伝カウンセリングが必要です。当センターでも対応できますし、お近くの遺伝カウンセラーをお探しすることも可能ですので、ご相談下さい。

神奈川県立こども医療センターでの担当医師・看護師

神経内科 和田敬仁 日本人類遺伝学会認定 臨床遺伝専門医

遺伝科 黒澤健司 日本人類遺伝学会認定 臨床遺伝専門医

看護師 西川智子 日本人類遺伝学会認定 認定遺伝カウンセラー

看護師 松浦公美 日本人類遺伝学会認定 認定遺伝カウンセラー

資料 4

ATRX 遺伝子変異の解析についての御説明

《遺伝・遺伝子とは？》

「この子の顔はお父さん似だ。」「この子の性格はお母さんに似ている。」と日常経験されているように、「親の体質が子に伝わること」を「遺伝」と呼びます。この「体質」には、顔かたち、体つきのほか、病気の罹りやすさなども含まれます。でも、この「体質」は、遺伝だけで決まるわけではありません。生まれ育った環境によっても変化します。人の体の状態というのは「遺伝」と「環境」で決まります。

では、どのようにして、親の体質が「遺伝」するのでしょうか？

私たち人間は、約 60 兆個の細胞から成り立っていますが、もとは、お父さんの精子とお母さんの卵が結合してできた 1 個の受精卵から始まりました。これが、2つ、4つ、と分裂を繰り返して人間の体を形作っていくのです。つまり、お父さん、お母さんの体質の情報が受精卵に積み込まれ、それが、分裂する時にも正確に複製（コピー）されて、60 兆個すべての細胞にその情報が正確に伝えられていくのです。この情報を伝えているものが「遺伝子」と呼ばれるもので、3万個近くあるといわれています。もっと正確に言うと、お父さん、お母さんから同じ遺伝子を 1 個ずつもらうので、2 個ずつ 3 万組の遺伝子が一つ一つの細胞に積み込まれていることになります。

遺伝子は精密な「体の設計図」というわけです。

《ATRX 遺伝子変異の解析の研究への御協力について》

ある遺伝子の異常が病気の原因となる場合には、その病気の患者さんの遺伝子を調べることにより診断に役立てることが出来ます。診断をはっきりさせることにより、気をつけなければならないこと、治療法などが明確になる可能性があります。さらに、患者さん本人だけではなく血縁者の方も、病気の予防や、早期発見、早期治療を試みる事が可能となります。また、この病気が次の世代に遺伝する可能性はあるのか、という遺伝カウンセリングにも役立つ可能性があります。

これから遺伝子診断研究に関連したことがらを、その有利な点・不利な点を含めてできるだけわかりやすく説明します。もしわからない点があればいつでも質問してください。

私たちの説明を十分理解した上で、研究に協力して血液等の提供をしても良いと考えられた場合には、「遺伝子診断研究について協力の意思の確認書」に署名することにより同意して頂きたいと思っております。

《この研究目的は？》

X 連鎖 α サラセミア・精神遅滞症候群 (ATR-X) は、最近見つけた疾患で、日本での報告はあまり多くありませんでした。しかし、1995 年にこの疾患の原因遺伝子 ATRX 遺伝子が見つかり、以来、日本でも ATR-X と診断される症例が 30 例を越えました。この疾患の仕組みを理解するには、多くの日本人の症例を検討することが非常に重要です。この研究の目的は、日本人の ATR-X 患者さんの遺伝子解析を行い、結果を検討、解析することにより、日本人に相応しい遺伝子診断法を確立することです。このことにより、多くの患者さん、御家族に対して、より正確な遺伝カウンセリングを行うことが可能となることが期待されます。

ATR-X という病気は、発達の遅れを伴う病気ですが、その原因は分かっていません。このことが解

明されれば、脳に障害が起きる ATR-X 以外の病気にたいしても、治療法の開発につながる可能性があります。

この臨床的遺伝子診断のために使われる検体は、医学の発展に伴って将来行われるであろう研究にも貴重なものとなる可能性があります。今回の検体が将来の医学研究にも使うことが出来るよう、私たちの趣旨を十分ご理解の上、あわせて、同意をお願いいたします。

《診断方法》

血液を用いますが、採血の方法は通常行われている検査の時と変わりありません。この採血にもなう危険性は、痛みを伴うこと以外はほとんどありません。

血液に含まれる DNA や RNA という物質を取り出し、*ATRX* 遺伝子の構造を解析します。調べる遺伝子の種類を追加する可能性もあります。これらが他の人とどのように違うか、症状との関係はどうかなどについて調べます。

具体的には、原因遺伝子 *ATRX* 遺伝子の塩基配列を調べて、検討します。また、*ATRX* 遺伝子の異常により引き起こされることが明らかにされている、ゲノム DNA の変化 (DNA のメチル化) を調べます。

《研究計画などを見たいとき》

御希望があれば、個人情報保護や研究の独創性の確保に支障を来さない範囲内で、この研究計画の内容を見ることができます。

《研究に御協力して頂けるかどうかを考えるために》

(1) この研究に御協力して頂けるかどうかは、こちらが強制するものではなく、ご自分の意志で決めていただきます。たとえ、協力されなくても、医療の質が低下するといったご心配は全くありません。

一旦同意された場合でも、気がお変わりになったら、いつでも文書により同意を撤回することができます。その場合は採取した血液や遺伝子解析の結果は廃棄され、診療記録もそれ以降は本研究のために用いられることはありません。遺伝子解析に関する意思の確認書の原本は、実施機関において保管します。あなたには、その写し一部をお渡しします。

(2) 遺伝子解析を受けた場合に考えられる利益および不利益

患者さんの病気の診断が臨床的にはっきりしている場合は、研究で遺伝子構造の違いが見つかる、見つからないということが、患者さん自身の診断、治療を左右するわけではありません。ただし、病気の原因となる遺伝子構造が見つかった場合には、患者さんのご家族についても調べられるようになり、その人達や子孫の健康管理に貢献できる可能性があります。

患者さんの病気の診断がまだはっきりしていない場合は、病気を起こす遺伝子構造がみつければ、診断がより確実になります。さらに、今後でてくる可能性のある症状を事前に知って、早期発見や予防的措置を行うことができる場合もあります。

患者さんの血縁者の場合、その家系で病気の原因となっている遺伝子構造がわかっている場合、病気の原因となる遺伝子の異常を受け継いでいるかどうかを、ほぼ確実に診断できます。女性の場合、受け継いでいないとわかれば、自分の子どもへ遺伝しないこともわかります。

遺伝子診断を受けたことにより、不安を感じたり、悩むことがあるかもしれませんが、当施設では、遺伝カウンセリング部門を整備していますので十分対応できるよう配慮いたします。

(3) 遺伝子診断を受けなかった時に予想される不利益と利益

遺伝子診断の結果によりわかったかもしれない新しい情報を得ることができません。その病気になりやすい遺伝子の構造を持っているかどうかははっきりしないため、不安が残ります。また、家族のための遺伝子診断の開発が遅れるかもしれません。遺伝子診断を受けなければ、それによって起きたかもしれない新たな問題を避けることができます。

(4) 個人情報他他人には漏らしません

患者さん個人の情報を保護することは、刑法で定められた医師の義務です。遺伝情報はそのなかでも最も厳重に管理されます。

遺伝子解析の結果は、他人に漏れないように、取扱いを慎重に行っています。解析を開始する前に、あなたの試料や診療情報からは住所、氏名などが削られ、代わりに新しく符号がつけられます（匿名化）。あなたとこの符号とを結びつける対応表は、試料を採取した病院で個人情報管理担当医師が厳重に保管します（連結可能匿名化）。こうすることによって、あなたの遺伝子の解析を行う者には、誰の試料を解析しているのか分かりません。

(5) 遺伝子解析の結果のお伝えの仕方

遺伝子解析の結果についての説明は、御本人またはご両親にお伝えすることを原則としています。同じ遺伝子を受け継いでいるかもしれない血縁者への連絡については、解析を受けた本人が行うことを原則としますが、了解のもとに担当医が行うことも可能です。

なお、本人が結果を知らないでいたいと最初からあるいは途中から表明していた場合は、遺伝子解析の結果はお伝えしません。

遺伝子解析の結果について説明を希望される場合は、申し出てください。

(同意する人が遺伝子解析を受ける本人ではない場合)

未成年者が遺伝子診断を受ける場合には、基本的に、親権者の求めに応じて、親権者だけに結果を説明します。この場合、未成年者の意向を確認し、それを尊重します。また、未成年者本人が明確に説明を希望している場合には、基本的に、その未成年者に説明をします。この場合、親権者の意向を確認し、これを尊重します。

(6) 解析結果の公表

ご協力によって得られた研究の成果は、個人が誰であるかわからないようにした上で、学会や学術雑誌などで発表されることがあります。

(7) 知的財産権が生じたとき

遺伝子解析の結果として特許権などが生じる可能性があります。その権利は国、研究機関、民間企業を含む共同研究機関および研究実施者などに属し、試料の提供者には属しません。またその