

201024169A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

ATR-X (X連鎖 α サラセミア・精神遅滞) 症候群の

診断及び治療方法の更なる推進に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 和田敬仁

平成 23 (2011) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告

ATR-X (X連鎖 α サラセミア・精神遅滞) 症候群の診断及び治療方法の更なる推進に関する研究	1
和田敬仁	
図1~8	6
資料1 日本人症例におけるATRX遺伝子変異	11
資料2 診断基準・診断のためのフローチャート	12
資料3 診断のための説明文書	15
資料4 遺伝子解析のための説明文書	17
資料5 遺伝子解析のための同意書	21
資料6 ATR-X症候群 Q&A	23
資料7 第2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	27
資料8 第60回アメリカ人類遺伝学会発表スライド原稿	68

II. 分担研究報告

1. ATR-X 症候群責任遺伝子重複例の臨床的研究に関する研究	79
岡本伸彦	
2. ATR-X 症候群の新しい分子遺伝学的診断方法に関する研究	84
小坂仁	
3. ATR-X 症候群における喉頭・気管病変に関する研究	88
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	92
後藤雄一	
5. X連鎖精神遅滞における <i>SLC9A6</i> 遺伝子変異の発症機構に関する研究	94
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	97
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	98
福嶋義光	
8. ATR-Xの分子病態に関する研究	100
松本直通	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	105
---------------------	-----

IV. 班構成員名簿	107
------------	-----

[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

ATR-X（X連鎖 α サラセミア・精神遅滞）症候群の診断及び治療方法の更なる推進に関する研究
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る。世界では、日本人患者約70名を含む200名が診断されている稀少疾患である。責任遺伝子 *ATRX* 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ている。臨床研究として、患者データベースの作成、診断基準の作成、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、精神遅滞患者に対する *ATRX* 遺伝子欠失の評価、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 ATR-X 患者の iPS 細胞化を準備している。

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。

最近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への化学的修飾やクロマチン構造の変化による遺伝子発現の制御機構である。近年、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動物実験で明らかにされ、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 *ATRX* はX染色体に局在する、X染色体連鎖性精神遅滞症候群（MRXS）の一つである(図1-a)が、[Gibbons et al., 1995]、非特異的X連鎖精神遅滞(MRX)の責任遺伝子でもある(図1-b)。

ATRX 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、Kabuki-make-up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、*ATRX* 遺伝子の機能喪失型変異により、複数の遺伝子（*ATRX* 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70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、斎藤、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 アレーを用いた解析（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、小坂、岡本、黒澤）

本研究代表者は、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み[和田、1998；Wada T, 2000]、平成 21 年度より本研究班を立ち上げ、日本全国の主治医から、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、診断基準を作成中である。

現在までに日本国内で約 70 名が診断されている。昨年度同様、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が、この二大地域以外からの検査依頼も増えてきている。

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

昨年度は全国より 15 症例で ATRX 遺伝子解析を依頼され、うち 10 症例で変異が検出された。現在までに、日本人患者 55 家系 67 名で ATRX 遺伝子変異が明らかにされている。

従来[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が、5'あるいは 3'側の非翻訳領域(5' or 3'-UTR)、あるいは、cDNA 解析では明らかなスプライシング異常を認めないイントロンの変異が検出され、その疾患発症との関連や意義を解析中である。

また、診断のついていなかった多発奇形・精神遅滞症候群の症例に対して、マイクロアレイを行ったところ、ATR-X 遺伝子を含む X 染色体微細重複により ATR-X 症候群と類似の臨床所見を持つ症例が岡本により報告された。

(3) ATR-X 症候群の診断基準の作成（和田、岡本、黒澤）

ATR-X 患者の臨床情報をもとに、診断基準を試み（資料 2）、第 60 回アメリカ人類遺伝学会（ワシントン DC、平成 22 年 11 月 5 日）に”Clinical and Molecular genetics of ATR-X syndrome Patients in JAPAN and proposal of clinical diagnostic criteria of ATR-X syndrome”の演題で口演した（資料 8）。

また、ATR-X 症候群における喉頭・気管病変についての検討が黒澤により報告された。

(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）

昨年度、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。今年度も、引き続き内容

の向上を目指し、更新を続けてきた。(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、適宜、内容を検討し、改訂・変更している。(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、昨年度に引き続き、「第2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9月18日、神奈川県立こども医療センターで開催した。

神奈川県、東京都、静岡県、長野県、福井県、京都府、兵庫県から ATR-X 症候群のお子さんを持つ14ご家族の皆さんにお集まり頂き、うち5家族が今回初めての参加であり、患者さんに関わる主治医、医療スタッフ、学校関係者の皆さんにもお集まり頂き、総勢70名近くの盛会となった。今回は長野県立こども病院笛木昇先生には ATR-X 症候群と嚥下障害について、富山大学北島勲先生には ATR-X モデルマウスを用いた研究についてご講演いただいた。後半は、参加者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 (福岡)

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。昨年度、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

ークエンス法により診断する新しい方法を確立した。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。今年度はこの新しい解析方法により 15 症例を解析したが、そのうち 10 症例 (67%) で変異を検出した。1 症例はエクソンの欠失を伴うイントロンの変異であり、従来 of 解析方法では検出が難しく、本解析方法の有用性が示された。

(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し、ATR-X 患者由来の皮膚線維芽細胞で ATR-X 遺伝子領域を含む X 染色体長腕と α グロビン遺伝子領域を含む 16 番染色体短腕のテリトリーの高頻度な隣接 (chromosome kissing) が観察され、遺伝子の空間配置の特性が正常とは異なる可能性が示唆された。

(3) ATR-X 症候群の分子病態に関する研究 (松本)

ATR-X 遺伝子の機能を解析するために、精神遅滞、自閉症、てんかんを呈する男児患者 92 例を対象に、ATR-X 領域の欠失を探索したが、欠失例は同定されず、マウスの報告同様、ヒトにおいて、ATR-X 遺伝子の null 変異は致死的な効果を示すことが示唆された。

(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 名に行い、AS 様患者 1 名で同定された変異の意義について、RNA および蛋白レベルで解析され、発症機構を明らかにした。

(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 遺伝子の分子遺伝学的解析が行われ、平成 22 年度に新たに 1 家系で 3'-UTR 領域で一塩基置換が同定された。現在までに登録されている約 200 検体中 5 家系で ATR-X 遺伝子変異が検出され、わが国における精神遅滞研究推進において、バイオリソースが有用であることが示された。

(6) ATR-X 患者の iPS 細胞化

来年度の基礎研究に向けて、2 名の ATR-X 患者から皮膚線維芽細胞を採取し、江良沢実教授(熊本大学発生医学研究所 幹細胞部門 幹細胞誘導分野)との共同研究により、iPS 細胞化への準備を進めている。

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。

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、アメリカ人類遺伝学会で発表の機会を頂き、一定の評価を受けた。来年度は、世界でも症例をもっとも集積している Oxford 大学の Gibbons 博士とともに、より洗練された診断基準を検討していく予定である。

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を目的としたホームページの作成や勉強会の開催は、ATR-X 症候群に対する周知に一定の効果を与え、依頼される検体数が増えてきたと考えられる。また、勉強会においては、同じ不安を抱えるご家族同士が定期的に情報を交換し、お互いに共感することにより、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来年度以降も進めていくことが期待される。

特に、来年度の基礎研究推進のため、現在、ATR-X 遺伝子変異の異なる 2 名の ATR-X 患者から皮膚線維芽細胞を採取し、iPS 細胞化に向けて準備を進めている。

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。来年度は、臨床研究においては診断基準の確立、基礎研究においては ATR-X 症候群患者の iPS 細胞化と、これを用いた病態解明を進めていきたい。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Giardine B, Borg J, Higgs DR, Peterson KR, Philipsen S, Maglott D, Singleton BK, Anstee DJ, Basak AN, Clark B, Costa FC, Faustino P, Fedosyuk H, Felice AE, Francina A, Galanello R, Gallivan MV, Georgitsi M, Gibbons RJ, Giordano PC, Harteveld CL, Hoyer JD, Jarvis M, Joly P, Kanavakis E, Kollia P, Menzel S, Miller W, Moradkhani K, Old J, Papachatzopoulou A, Papadakis MN, Papadopoulos P, Pavlovic S, Perseu L, Radmilovic M, Riemer C, Satta S, Schrijver I, Stojiljkovic M, Thein SL, Traeger-Synodinos J, Tully R, Wada T, Wayne JS, Wiemann C, Zukic B, Chui DH, Wajcman H, Hardison RC, Patrinos GP. Systematic documentation and analysis of human genetic variation in hemoglobinopathies using the microattribution approach. Nat Genet.

43:295-301, 2011

Saito H, Kato M, Okada I, Orii KE, Higuchi T, Hoshino H, Kubota M, Arai H, Tagawa T, Kimura S, Sudo A, Miyama S, Takami Y, Watanabe T, Nishimura A, Nishiyama K, Miyake N, Wada T, Osaka H, Kondo N, Hayasaka K, Matsumoto N. STXBPI mutations in early infantile epileptic encephalopathy with suppression-burst pattern. *Epilepsia* 51:2397-405, 2010

Omata T, Takanashi J, Wada T, Arai H, Tanabe Y. Genetic diagnosis and acetazolamide treatment of familial hemiplegic migraine. *Brain Dev.* 2011 Apr;33(4):332-4.

2. 学会発表

和田敬仁、新保裕子、小坂仁 精神遅滞患者に対するクレアチン代謝異常のスクリーニング法の開発(ポスター発表)- 第52回日本小児神経学会総会, 福岡、平成22年5月21日

Wada T, Shumbo H, Mitani T, Osaka H, Kurosawa K, Okamoto N. Clinical and Molecular genetics of ATR-X syndrome Patients in JAPAN and proposal of clinical diagnostic criteria of ATR-X syndrome. (Platform presentation) 60th Annual Meeting of American Society of Human Genetics, Washington DC, 2010/11/5

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特願 2010-25346 弱酸性陽イオン交換カラムを用いた生体アミンの検出。

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

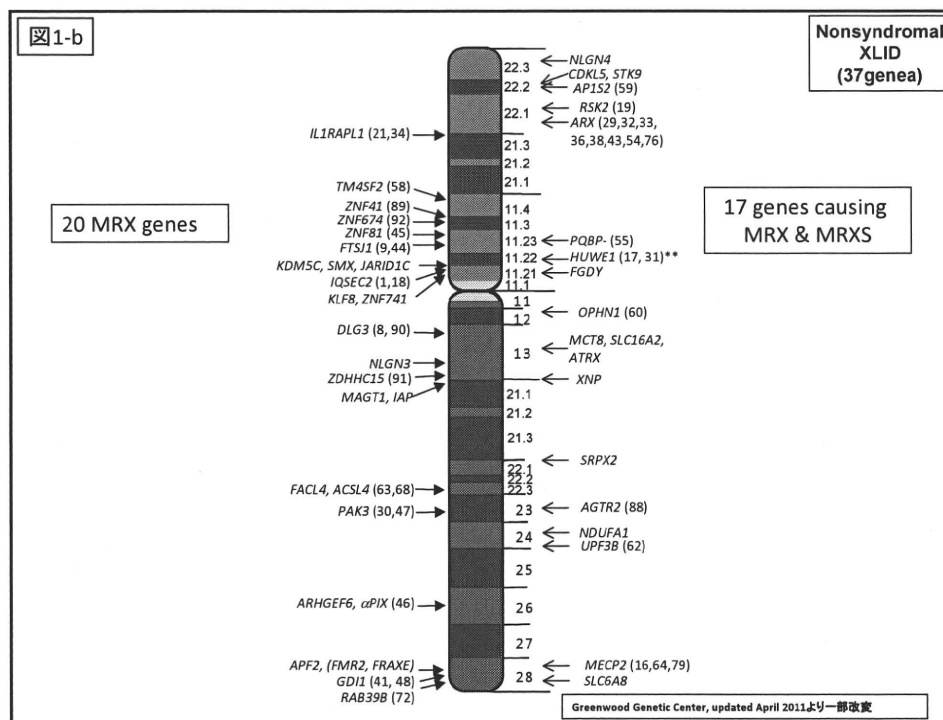
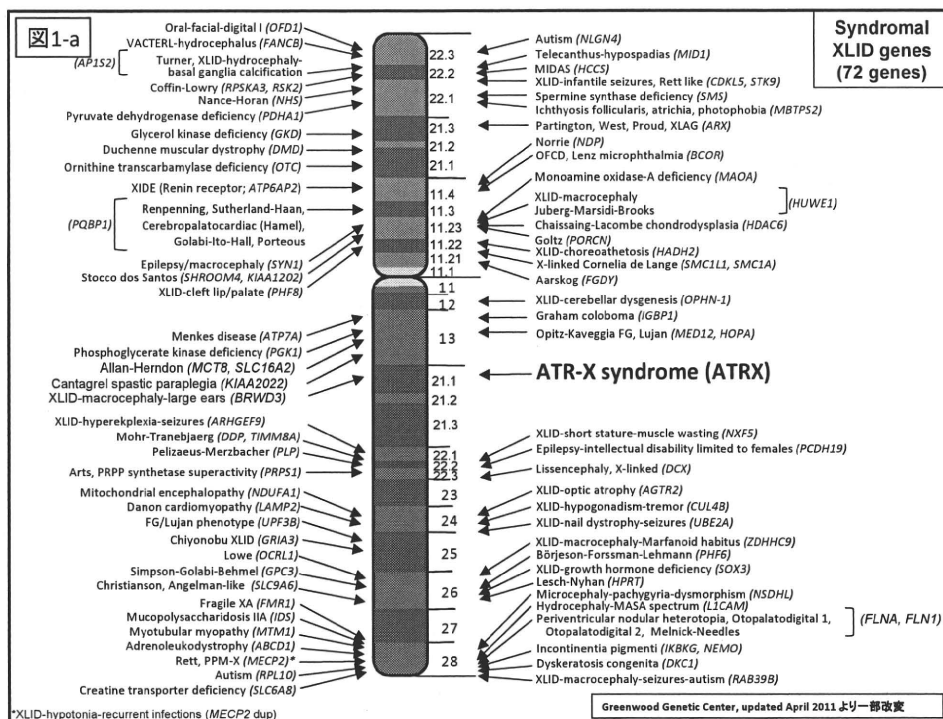


図4

7. 研究の概要 (流れ図)

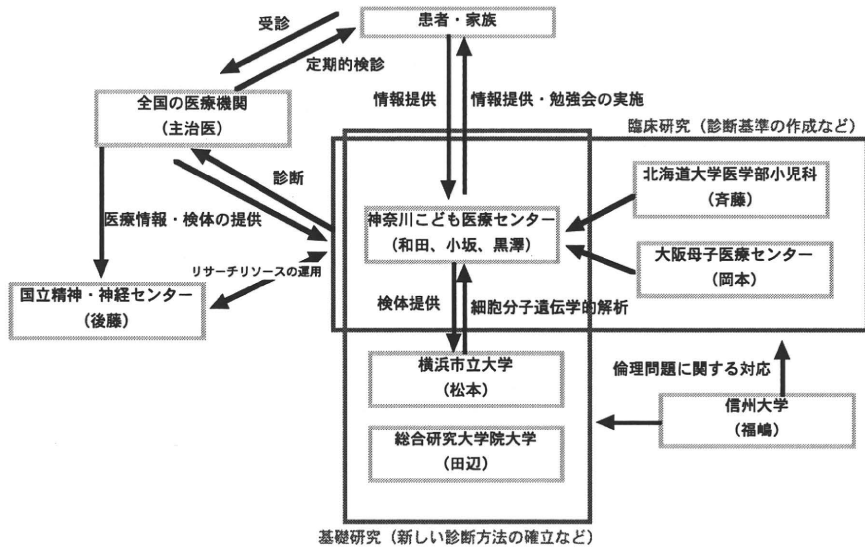


図5

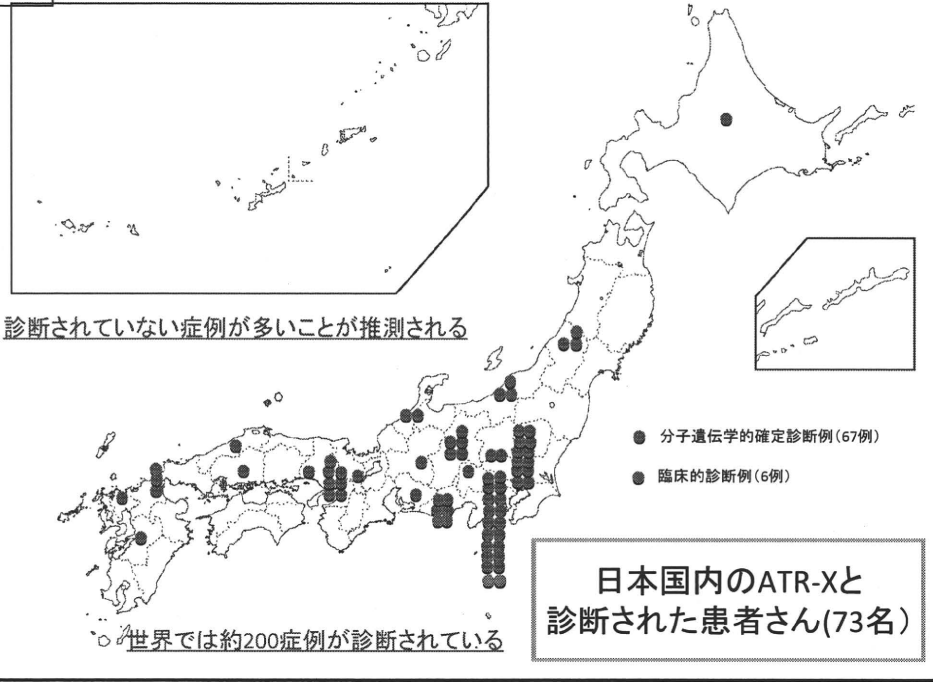


図6

ATR-X症候群の日本人患者67例の ATR-X 遺伝子変異

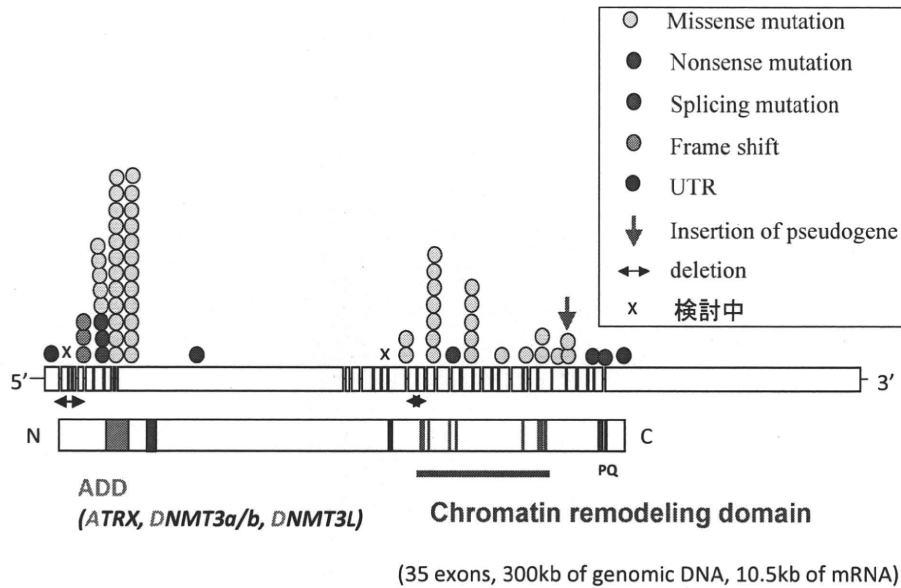


図7

ATR-X症候群の患者さんやご家族のために ATR-X症候群 ネットワーク ジャパン > HOME

ATR-X syndrome Network Japan

<p>ATR-X症候群とは About ATR-X syndrome</p> <p>ATR-X症候群と遺伝 ATR-X syndrome and heredity</p> <p>Q & A Questions & Answers</p> <p>X連鎖精神遅滞症候群 X-linked mental retardation syndrome</p> <p>研究会の紹介 Workshop Update</p> <p>文献 Publications</p> <p>リンク Links</p> <p>第1回勉強会 ATR-X update workshop</p> <p>ATR-X症候群の診断を 希望される方へ</p> <p>遺伝子変異解析への ご協力について</p>	<p>このホームページは、ATR-X (X連鎖αガラセミア・精神遅滞) 症候群と診断された患者の皆さんやご家族、そして、患者さんに関わる医療従事者のための情報交換の場となることを目的としています。</p> <p>新着情報 News & Topics</p> <p>> 2010.2.1 X連鎖αガラセミア・精神遅滞症候群 (ATR-X症候群) 患者さんに関わる皆さんのための勉強会のご案内を掲載しました。PDFはこちら</p> <p>> 2010.2.1 ホームページを公開しました。</p>
--	--

Copyright © ATR-X syndrome Network Japan. All rights reserved.

図8

第2回
ATR-X症候群
患者さんに関わる皆さんのための勉強会

平成22年9月18日
神奈川県立こども医療センター 講堂



1. 医療スタッフによる講演
2. 情報交換会

参加者数 70名

患者さん・ご家族 14家
族

患者さん関係者
認定遺伝カウンセラー
当センタースタッフ、医師・
看護師・PT

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	5' -UTR			+
2	2	2	Ex2_5		+
3	3	INT2	(+)23A>G	?	-
4	4	5	c.370G>T;r[243_484del]	p.R81fs	-
5		5	c.370G>T;r[243_484del]	p.R81fs	-
6	5	6	c.390_391 ins A	p.E131fs	+
7	6	8		p.P170L	-
8	7	8	c.536A>G; r[532_594del]	p.V178_K198del	+
9	8	8	c.536A>G; r[532_594del]	p.V178_K198del	+
10	9	8	c.536A>G; r[532_594del]	p.V178_K198del	
11	10	8	c.568C>G	p.P190A	+
12	11	8	c.569C>T	p.P190L	+
13	12	8	c.580G>A	p.V194I	+
14	13	8	c.581T>C	p.V194A	-
15	14	10	c.667T>C	p.C223R	-
16	15	10	c.668G>T	p.C223F	+
17	16	10	c.687G>C	p.L229F	+
18	17	10	c.695G>A	p.C232Y	
19	18	10	c.727T>C	p.C243R	
20	19	10	c.734T>C	p.L245P	-
21		10	c.734T>C	p.L245P	+
22	20	10	c.736C>T	p.R246C	-
23	21	10	c.736C>T	p.R246C	+
24	22	10	c.736C>T	p.R246C	+
25		10	c.736C>T	p.R246C	+
26	23	10	c.736C>T	p.R246C	+
27		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.736C>T	p.R246C	+
33	29	10	c.736C>T	p.R246C	-
34	30	10	c.736C>T	p.R246C	+
35	31		c.736C>T	p.R246C	+
36	32		c.736C>T	p.R246C	+
37	33	10	c.794G>A	p.C265Y	+
38	34	10	c.797A>G	p.Y266C	
39	35		c.832A>C	p.The278Pro	
40	36	10	c.1727C>A	p.S576X	+
41	37	INT16	(-)145A>G	?	
42		17	c.4654G>T	p.V1552F	+
43	38	17	c.4654G>T	p.V1552F	+
44	39	18	c.4744_4746 del.	p.T1582del	
45		19	c.4865C>T	p.A1622V	-
46	40	19	c.4865C>T	p.A1622V	-
47		19	c.4865C>T	p.A1622V	-
48		19	c.4870G>A	p.V1624M	+
49	41	19	c.4870G>A	p.V1624M	
50		19	c.4870G>A	p.V1624M	+
51	42	19	c.4934T>C	p.L1645S	+
52	43	int21	c.5273-5G>G; r[5273-5448del]	p.Y1758X	+
53		23	C.5498A>G	p.Y1833C	
54	44	23	C.5498A>G	p.Y1833C	
55	45	23	c.5540A>G	p.Y1847C	+
56		23	c.5540A>G	p.Y1847C	
57	46	23	c.5540A>G	p.Y1847C	
58	47	27	c.6052G>A	p.G2018R	
59	48	29	c.6253C>T	p.R2085C	
60	49	30	c.6392G>A	p.R2131Q	+
61	50	30	c.6406G>A	p.D2136N	-
62			c.6511A>G	p.Met2171Val	-
63	51		c.6511A>G	p.Met2171Val	-
64	52	int31	ertion of 2kb from chr. 2; splicing abnormality		-
65	53		c.7156C>T	p.R2386X	+
66	54	int35	c.7200+4A>G, fs		-
67	55	3' UTR			

資料 2

ATR-X 症候群 診断基準 (平成 22 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

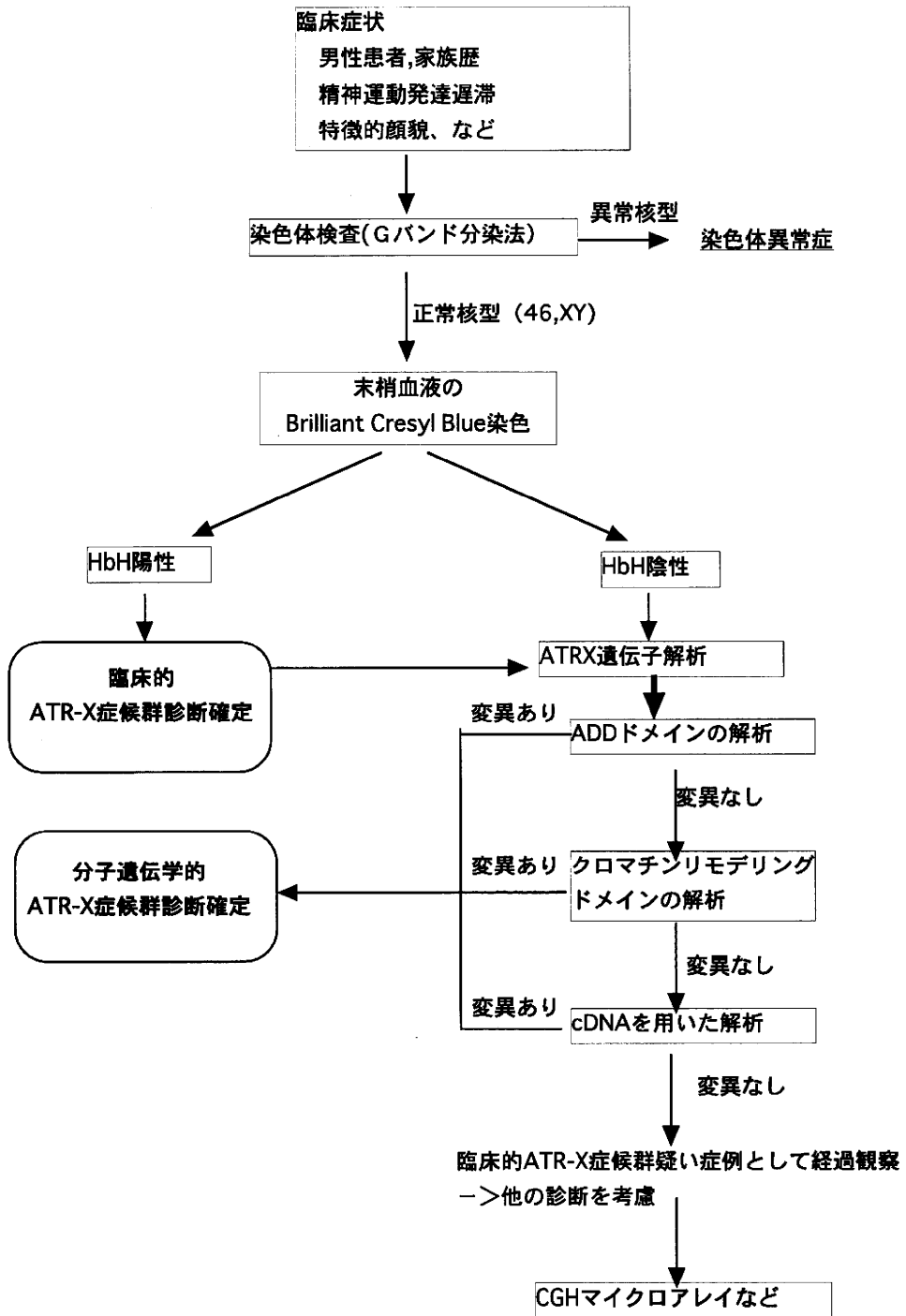
Coffin-Lowry 症候群

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
へパリン採血 (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

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となります。

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で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えます。

《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、最近見つかった疾患で、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事が期待されます。

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