

- Estimation of prevalence of malformation syndrome by population-based birth defects monitoring system in Japan. European Human Genetics Conference 2011. 2011.5.28-31. Amsterdam RAI, The Netherlands.
- 富永牧子、榎本啓典、石川亜貴、古谷憲孝、吉橋博史、黒澤健司 全サブテロメア MLPA 法による多発奇形/精神遅滞 (MCA/MR) の変異スクリーニング 第 114 回日本小児科学会 2011.8.12-14. 東京
- 黒澤健司、榎本啓典、古谷憲孝、石川亜貴、富永牧子、和田敬仁、升野光雄、黒木良和 先天異常モニタリング調査および遺伝外来受診例による先天奇形症候群発生頻度の推定 第 114 回日本小児科学会 2011.8.12-14. 東京
- 島貴史、榎本啓典、古谷憲孝、黒澤健司、竹内麻希、関藍 先天代謝異常症を明らかにした、横紋筋融解症を繰り返した染色体複雑構造異常の 1 例 第 114 回日本小児科学会 2011.8.12-14. 東京
- 石川亜貴、富永牧子、榎本啓典、古谷憲孝、上田秀明、康井制洋、黒澤健司 高分解融解曲線分析法 (HRM) による Marfan 症候群原因遺伝子 FBN1 変異スクリーニング
- 黒澤健司、塩味正栄、浜之上聡、永井淳一、齋藤敏幸、榎本啓典、富永牧子、古谷憲孝、升野光雄、気賀沢寿人 del(1)(p22.3p22.1)により Diamond-Blackfan 症候群と好中球減少を呈した 1 女性例. 第 56 回日本人類遺伝学会 2011.11.9-12. 千葉
- 石川亜貴、田中藤樹、重富浩子、続晶子、黒澤健司 頭蓋骨早期癒合を呈した 7 番染色体短腕中間部欠失の女児例. 第 56 回日本人類遺伝学会 2011.11.9-12. 千葉
- 榎本啓典、菅原祐之、富永牧子、古谷憲孝、安達昌功、水野誠司、山内泰子、升野光雄、近藤達郎、土井庄三郎、水谷修紀、黒澤健司 3q22.3 を含む染色体部分欠失に起因する BPES の臨床像. 第 56 回日本人類遺伝学会 2011.11.9-12. 千葉
- 黒澤健司、富永牧子、古谷憲孝、和田敬仁、小坂仁、室谷浩二 新しい染色体微細構造異常-15q24 欠失症候群の 1 男児例. 第 313 回日本小児科学会神奈川県地方会 2011.11.19. 横浜
- 黒澤健司 希少難病と小児病院遺伝科 公開シンポジウム・成果発表会「難治性疾患の克服に向けて」 2011.7.10. 東京
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし。

厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

ATR-X（X連鎖 $\alpha$ 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

分担研究報告書

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

分担研究者 後藤 雄一 国立精神・神経医療研究センター神経研究所 部長

本研究では、日本人 ATR-X 症候群患者の集積をめざし、国立精神・神経医療研究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、ATR-X 症候群の鑑別として重要な X連鎖精神遅滞症候群の一つであるクレアチントランスポーター異常症の 1 家系を見いだした。さらに平成 23 年度に新たに収集できた症例の DNA を、解析施設である神奈川県子ども医療センターに送付する準備を整えた。

A. 研究目的

本研究の対象疾患である ATR-X 症候群は、X 染色体上に局在する遺伝子の変異により発症する遺伝性の疾患であり、現在までに日本国内に約 50 症例、世界的でも日本の症例を含めて 200 症例近くが診断されている希な疾患である。その病態はエピジェネティクスの破綻と考えられているが、ほとんど解明されていない。

本研究の目標は、ATR-X 症候群の臨床および分子遺伝学的診断体制を確立すると共に、患者の臨床情報をデータベース化し管理することにより、その医療情報を医療者および患者・家族に提供するためのシステムを構築し、診断基準の作成、重症度の判定法を確立することにある。

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 ATR-X 症候群の遺伝子検査に供する準備を行った。

（倫理面への配慮）

国立精神・神経医療研究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

すでに主任研究者の和田が同バイオリソース症例から、1 例の非症候群性精神遅滞の 1 例と症候群性（同疾患疑い例）精神遅滞 3 例から ATR-X 遺伝子変異例を見いだしていた。平成 22 年度において、3' -UTR 領域に変異が存在する 1 例もについて、患者家族のリンパ芽球を送付した。

平成 23 年度は「精神遅滞バイオリソース」に 27 家系の新たな登録があり、合計 421 家系の登録を得た。

#### D. 考察

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、4 家系に *ATR-X* 遺伝子変異例が見いだされた。さらに本年度は 37-UTR 領域に変異の存在する家系 1 例のリンパ芽球を主任研究者の和田に送付した。また、精神遅滞を呈する 3 兄弟を有する 1 家系において、分担研究者小坂らが開発したスクリーニング方法により、クレアチントランスポーター欠乏症と診断された。

#### E. 結論

平成 23 年度は「精神遅滞バイオリソース」に 27 家系の新たな登録があり、合計 421 家系の登録を得た。精神遅滞の研究において、このバイオリソースが有効に活用されることが示された。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Waga C, Okamoto N, Ondo Y, Fukumura-Kato R, Goto Y, Kohsaka S, Uchino S. Novel variants of the SHANK3 gene in Japanese autistic patients with severe delayed speech development. *Psychiatr Genet*. 21(4): 208-211. 2011.

Honda S, Satomura S, Hayashi S, Imoto I, Toyama J, Okazaki H, Nakagawa E, Goto Y, Inazawa J, Japanese Mental Retardation Consortium. Concomitant microduplications of MECP2 and ATRX in male patients with severe mental retardation. *J Hum Genet advance online publication*, 1 December 2011; doi:10.1038/jhg.2011.131

##### 2. 学会発表

Waga C, Okamoto N, Ondo Y, Fukumura-Kato R, Goto Y, Kohsaka S, Uchino S. Mutations in the SHANK3 gene in Japanese autistic patients with severe delayed speech development. 12<sup>th</sup> ICHG/ 61<sup>st</sup> ASHG Meeting, Montreal, Canada, 10-11-15, 2011

#### H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

研究課題：「ATR-X（X 連鎖  $\alpha$  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」

## 精神遅滞の体系的遺伝学的診断法の開発に関する研究

### 研究要旨

精神遅滞の遺伝学的病因は多彩である。そのため、系統的な遺伝学的診断法の開発には、種々の遺伝学的解析方法を体系的に実施することが必須である。私たちは、精神遅滞の体系的遺伝学的診断法の開発を目的として、遺伝性精神遅滞のひとつであるアンジェルマン症候群をモデルとして、体系的遺伝学的診断を行った。アンジェルマン症候群は染色体異常、エピジェネティクス、単一遺伝子病としての側面を有し、解析には染色体検査、FISH法、MLPA、アレイCGH、DNAメチル化テスト、シーケンス法の組み合わせが求められる。この結果、体系的な遺伝学的診断法の有用性を示すことができた。

### 研究分担者

齋藤伸治（名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野）

### A. 研究目的

精神遅滞の体系的遺伝学的診断法を開発することを目的として、遺伝性精神遅滞症候群のひとつであるアンジェルマン症候群（AS）をモデルとして、体系的な遺伝学的診断法の確立を検討した。ASは*UBE3A* 遺伝子の機能喪失により引き起こされる症候群であり、重度精神遅滞、てんかん、失調様歩行、容易に引き起こされる笑いなどを特徴とする。*UBE3A* はゲノム刷り込み現象の対象となっており、中枢神経では母由来アリルのみが発現している。そのため、*UBE3A* の発現喪失には複数の遺伝学的要因が存在するので、体系的遺伝学的解析の良いモデルと考えられる。

### B. 研究方法

臨床的に AS が疑われた非欠失 119 例を対象とした。119 例ではすでに D15S10 座位の FISH 法により、一般的な 15q11-q13 の欠失は否定されている。患者末梢血白血球からゲノム DNA を抽出して一連の遺伝学的実験を行った。

解析は、*SNRPN* プロモータ領域の DNA メチル化テストを実施し、メチル化の異常を認めた場合は 15 番染色体の複数の多型マーカーを用いた多型解析を行い、片親性ダイソミーと刷り込み変異を区別した。刷り込み変異例に対しては、責任領域である刷り込み中心（IC）の微細欠失の有無を定量 PCR 法にて検討した。メチル化の異常がない例に対しては、*UBE3A* 遺伝子の翻訳領域を直接シーケンス法にて解析を行った。

これらの異常が認められなかった男性 22 例を対象として、*SLC9A6* 遺伝子解析を追加した。また、追加解析に同意を得られた 33 例に対して、Affymetrix SNP 5.0 アレイ解析を行い、染色体微細コピー数異常の有無を検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は北海道大学大学院医学研究科医の倫理委員会および名古屋市立大学大学院医学研究科倫理審査委員会の承認を受け、解析にあたっては、ご家族から書面による同意を得た。

### C. 研究結果

DNA メチル化テストでは陽性 17 例、陰性 102 例であった。陽性 17 例は全例で両親検体を用いた多型解析ができた。その結果、15 番染色体父性

片親性ダイソミーが9例、刷り込み変異が8例であった。8例全例に対して、ICの微細欠失を検討したところ、1例にのみ微細欠失を認め、7例では微細欠失はなく、エピ変異と判定した。DNAメチル化異常のなかった102例に対して *UBE3A* 変異解析を行った結果、30例に病因変異を同定した。

これらの異常が同定されなかった男性22例を対象とした *SLC9A6* 変異解析では1例に c.441delG (p.S147fs) 変異を同定した。33例を対象としたDNAアレイ解析では、10q11.21-q11.23 5.6Mb de novo 欠失1例と ring 18 モザイク (18q21.2-q23 29.12Mb, 18p11.32 1.5Mb del) 1例を同定した。

#### D. 考察

AS 非欠失 119 例を対象として系統的に遺伝学的診断を行った結果、遺伝学的に 47 例 (39.5%) を AS と確定診断することができた。内訳は片親性ダイソミー9例、刷り込み変異8例、*UBE3A* 変異30例であった。今回解析を行った例は非欠失のみである。AS 全体の70%は欠失例であり、この群は商業的に FISH 法にて診断が可能である。非欠失例は全体の30%を占めるが、その中で40%が確定診断できたこととなる。これは、全体の12%に相当するので、AS が疑われた患者の82%は遺伝学的に診断が可能と考えられる。従来から、ASの10-20%は遺伝学的診断が得られないとされていたことと良く一致すると思われる。このように、臨床的にASが疑われた場合の80%以上が確定診断することができ、また、遺伝学的群に分けることで、予後予測や遺伝性の有無を正確に伝えることが可能になる。したがって、体系的遺伝学的解析は臨床において極めて重要な位置を占めることが明らかになった。

一方、臨床的にASが疑われる例の10-20%は現在の方法では、確定診断ができない。今回、これらを対象として、ASと似た表現型をとることが報告されている *SLC9A6* の変異解析およびDNAアレイを用いた微細染色体コピー数解析を実施した。その結果、*SLC9A6* 変異1例、微細染色体コピー数異常2例を同定した。合わせた3例は解

析対象の10%程に過ぎず、多くは原因の同定ができなかった。しかし、臨床的にASが疑われた例のなかに、全く異なった遺伝病が含まれていることを示すことができた。このことは臨床診断の限界を示している。ASに限らず、その他の症候群でも同様の結果が報告されている。特に、非特異的な症状である精神遅滞ではこの傾向は顕著である。精神遅滞の原因となる遺伝学的要因は沢山あり、それぞれが占める割合は低い。従って、遺伝学的診断法の果たす役割は高いと指摘できる。

近年開発が目覚ましい、DNAアレイや次世代シーケンシング技術により、網羅的遺伝子解析は実用的なレベルに達してきている。精神遅滞に対しては、強力な診断ツールとして期待される。

#### E. 結論

ASをモデルとして体系的な遺伝学的診断を行い、その有効性を明らかにした。また、臨床診断には限界があり、遺伝的異質性が存在することを示した。精神遅滞のような非特異的疾患に対しては、網羅的遺伝学的診断法の臨床応用が求められる。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Hayashi S, et al. Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies. *J Hum Genet* 56:110-124, 2011.
2. Sato K, et al. Genetic analysis of two Japanese families with progressive external ophthalmoplegia and parkinsonism. *J Neurol* 258:1327-1332, 2011.
3. Takahashi Y, et al. A loss-of-function mutation in the *SLC9A6* gene causes X-linked mental

retardation resembling Angelman syndrome.

*Am J Med Genet Part B: Neuropsychiatric Genetics* 156:799–807, 2011.

4. Tohyama J, et al. West Syndrome Associated with Mosaic Duplication of FOXG1 in a Patient with Maternal Uniparental Disomy of Chromosome 14. *Am J Med Genet Part A* 155A:2584-2588, 2011.
5. Sudo A, et al. Successful cochlear implantation in a patient with mitochondrial hearing loss and m.625G > A transition. *J Laryngol Otol* 125:1282-1285, 2011.
6. Hosoki K, et al. Hand-foot-genital syndrome with a 7p15 deletion demonstrates a clinically recognizable syndrome. *Pediatr Int* (in press)

## 2. 学会発表

1. 斉藤伸治、細木華奈、夏目淳、今井純好、中島翠、植田佑樹、朝比奈直子、白石秀明：5q31 微細欠失は乳児期の筋緊張低下と重度精神遅滞を示す新しい症候群である、第 53 回日本小児神経学会総会 平成 23 年 5 月 26-28 日（東京）
2. 高野亨子、小沢浩、稲田穰、上石晶子、有本潔、木実谷哲史、久保田雅也、斉藤伸治：Prader-Willi 症候群の摂食の改善について 第 53 回日本小児神経学会総会、平成 23 年 5

月 26-28 日（東京）

3. 細木華奈、太田亨、新川詔夫、斉藤伸治：PWS 様表現型を示す微細染色体異常、第 56 回日本人類遺伝学会 平成 23 年 11 月 10-12 日（幕張）
4. HOSOKI K, OHTA T, NATSUME J, IMAI S, OKUMURA A, MATSUI T, HARADA N, SCAGLIA F, BACINO CA, NIIKAWA N, SAITOH S. 5q31.3 microdeletion syndrome is a clinically discernible new syndrome characterized by severe neonatal hypotonia, feeding difficulties, respiratory distress, and severe developmental delay. 61th Annual Meeting of American Society of Human Genetics, Montreal, Canada, 10/12-15/2011

## 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。

厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

ATR-X（X連鎖 $\alpha$ 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

分担研究報告書

3D-FISH法を用いたATR-X症候群の病態解明に関する研究

分担研究者 田辺 秀之 総合研究大学院大学 准教授

研究要旨 ATR-X症候群の患者由来の培養繊維芽細胞を用いて、3D-FISH法により、1) ATRX遺伝子が存在するXq、2)  $\alpha$ サラセミアを引き起こす原因となる $\alpha$ グロビン遺伝子が存在する16p、3)  $\beta$ グロビン遺伝子が存在する11p(対照)の3領域を対象として、空間的な相互作用に関する検討を行った。その結果、16pとXq染色体テリトリーの高頻度な隣接(chromosome kissing)が観察され、遺伝子空間配置の特性が健常者のものと異なることが示唆された。

A. 研究目的

ATR-X症候群の責任遺伝子はXq13.3に局在するATR-X遺伝子であり、 $\alpha$ サラセミア、精神遅滞などを特徴とした多彩な症状を呈することが知られている。これらはATR-Xタンパク質のエピジェネティクス制御の破綻によって引き起こされているものと考えられているが、詳細は不明である。本分担研究では、本研究では、ATR-X症候群の発症における細胞核高次構造や染色体配置の関与を検討するために、3D-FISH法により次の3つの染色体腕特異的領域の空間配置の特性を調べた。

B. 研究方法

ATR-X症候群患者由来の培養繊維芽細胞及び健常人由来の培養繊維芽細胞を用いて、3次元構造を維持した細胞核の固定を行い、1) ATRX遺伝子が存在するXq、2)  $\alpha$ サラセミアを引き起こす原因となる $\alpha$ グロビン遺伝子が存在する16p、3)  $\beta$ グロビン遺伝子が存在する11p(対照)の3領域を対象として、共焦点レーザー顕微鏡により、画像スキャンを行って、両染色体テリトリーの相対核内配置解析を行った。

(倫理面への配慮) ATR-X症候群患者由来および対照としての健常人由来の培養繊維芽細胞の使用に際して、すでに個人情報連結不可能匿名化がなされ、研究倫理上、品質管理上、ともに十分配慮されている。

C. 研究結果

ATR-X症候群患者由来細胞核ではXqと16p、及び11pと16pが高頻度に隣接(chromosome kissing)する現象が観察された(それぞれ34%、36%; 健常人では20%、18%)。

D. 考察

ATR-X遺伝子はクロマチンリモデリング因子であるATR-Xタンパク質をコードしている。今回のデータは、ATR-X症候群の発症に染色体・遺伝子空間配置の破綻が関与している可能性が示唆された。

E. 結論

ATR-X症候群の患者由来の細胞核では、16pとXq染色体テリトリーのkissing現象が高頻度に観察された。

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表

田辺秀之、和田敬仁. ATR-X症候群患者由来細胞核における染色体テリトリーの核内配置解析. 第62回財団法人染色体学会(平塚市)、2011年11月

Hideyuki Tanabe and Takahito Wada. Chromosome kissing in association with the ATR-X syndrome. European Human Genetics Conference 2012, Nurnberg, 2012.6.23-26.

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 特になし

## 厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

### ATR-X（X連鎖 $\alpha$ 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

#### 分担研究報告書

#### 情報管理，倫理問題への対応に関する研究

研究分担者 福嶋義光 信州大学医学部 教授

X連鎖 $\alpha$ サラセミア・精神遅滞(ATR-X)症候群の診断基準・診療指針を作成するため、今年度はとくに、日本医学会が公表した「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」に適合するための要件を中心に検討した。本疾患においては、すでに発症している患者の診断を目的とした遺伝学的検査と患者の母親を対象とした保因者診断のために行われる遺伝学的検査との違いを明確にした上で、遺伝学的検査・診断を行う必要がある。

#### 共同研究者

涌井 敬子(信州大学遺伝医学・予防医学講座)

#### A. 研究目的

本研究が円滑に進むように、適切な情報管理のあり方、および予想される倫理問題への対応について検討する。

#### B. 研究方法， C. 研究結果

前年度，X連鎖 $\alpha$ サラセミア・精神遅滞(ATR-X)症候群はX連鎖劣性遺伝病であるため、発症者の診断が、母親の保因者診断に結びつく可能性が高く、研究協力を求める際には、遺伝カウンセリングを十分に行うことは必須であることを指摘した。

今年度は、日本医学会が公表した「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」に適合するための要件を中心に検討した。このガイドラインの記載の中で、本研究に関係する主な事項は次の通りである。

- ・ 遺伝学的検査・診断に関与する医師・医療者は、遺伝医学の系統的知識をもち、遺伝情報の特性に配慮した対応が求められる。
- ・ 遺伝学的検査・診断が行われる場面を 1) すでに発症している患者の診断を目的とする場合と 2) 患者ではない者を対象とした保因者診断・発症前診断・出生前診断を目的とする場合とに明確に分類する。1) の場合には、主治医が診療の流れの中で、臨床的有用性がある場合には、積極的に遺伝学的検査・診断の意義を説明し、患者からインフォームドコンセントを得た上で実施すべきである。一方、2) の場合には、事前に適切な遺伝カウンセリングを行

い、遺伝的問題の解決のための選択肢の一つとして実施する。

- ・ 患者の診断を目的として行われた遺伝学的検査の結果は、原則として、他の臨床検査の結果と同様に、患者の診療に関係する医療者が共有する情報として診療録に記載する。
- ・ 遺伝カウンセリングは、情報提供だけではなく、患者・被検者等の自律的選択が可能となるような心理的社会的支援が重要であることから、当該疾患の診療経験が豊富な医師と遺伝カウンセリングに習熟した者が協力し、チーム医療として実施する。

#### D. 考察

X連鎖 $\alpha$ サラセミア・精神遅滞(ATR-X)症候群の診断基準・診療指針を作成する際には、日本医学会のガイドラインに従い、関係する医師・医療者を対象とした教育・研修システムを構築することが必要である。日本人類遺伝学会と全国遺伝子医療部門連絡会議が作成した遺伝医学系統講義e-learning システム（全国遺伝子医療部門連絡会議のHP<<http://www.idenshiiryoubumon.org/>>から登録することにより、視聴可能）は、診療指針を作成する際、極めて有用教育ツールであると考えられる。

遺伝カウンセリングは、当該疾患の診療経験が豊富な医師と遺伝カウンセリングに習熟した者が協力し、チーム医療として実施するべきであることが、日本医学会ガイドラインに記載されていることから、本研究を推進し、早急にX連鎖 $\alpha$ サラセミア・精神遅滞(ATR-X)症候群の診断基準・診療指針を作成することが、多くの患者・家族の福音につながると考える。



## E. 結論

本研究を実施する際には、関係者に対する十分な教育と研修を行うこと、および十分な遺伝カウンセリング体制が整えられていることが必須である。

## F. 健康危険情報

本研究課題では健康危機に関わる問題は生じない。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

福嶋義光（編集）：遺伝カウンセリングハンドブック．遺伝子医学MOOK別冊、メディカルビュー、東京、2011

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

平成23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）  
分担研究報告書

わが国における X連鎖 $\alpha$ サラセミア・精神遅滞 (ATR-X) 症候群の診断基準・診療指針の作成及び医療・患者間の情報ネットワークの確立

分担研究課題： ATR-X の分子病態に関する研究

分担研究者 松本直通 横浜市立大学医学研究科遺伝学

研究要旨：X連鎖性 $\alpha$ サラセミア精神遅滞 (ATR-X) 症候群は精神遅滞、 $\alpha$ サラセミア、性分化異常を特徴とする精神遅滞症候群である。ATR-X 症候群の原因はクロマチン調節関連蛋白をコードする *ATRX* 遺伝子変異である。*ATRX* 変異はこれまでに 123 種類の報告があり多くは機能低下型である。ATR-X の完全機能喪失型変異は致死性であることが疑われている。本年度は自閉症を呈する男児を対象に *ATRX* の完全欠失の有無を探索し *ATRX* 領域の欠失を探索した。139 例の男児症例に於いて欠失は同定されなかった。*Atrx* の完全欠失はマウスでは致死性でありヒト症例に於いて欠失が同定されないことはヒトにおける *ATRX* の null 変異の同様の効果を支持する所見である。

#### A. 研究目的

X連鎖性 $\alpha$ サラセミア精神遅滞 (ATR-X) 症候群はクロマチン調節関連蛋白をコードする *ATRX* 遺伝子の異常が原因である (Gibbons et al., 1995)。臨床的に精神遅滞・サラセミア・性分化異常を呈する。Human Gene Mutation Database Professional に登録されている *ATRX* 変異は 123 種存在し、その多くは機能低下型 (hypomorph) 変異である。*ATRX* の完全欠失の報告はなく、部分欠失を 4 例で認めるのみである。DECIPHER データベースには *ATRX* 領域の欠失の登録はなく正常多型としての CNV も認めない。本年度はヒトにおける *ATRX* の完全な欠失症例の有無を検討するため、特に自閉症を呈する男児のスクリーニングを行うこととした。

#### B. 研究方法

①対象症例 自閉症を呈する男児??例を対象とした。

②Affymetrix 社 Cytogenetics Array 2.7M または Cytoscan HD によるゲノム解析 全ゲノムにわたり 270 万プローブを配置した Cytogenetics Array 2.7M あるいは 210 万プローブを配置した Cytoscan HD Array を用いて 139 例を対象に CNV 解析を行い *ATRX* 遺伝子の欠失の有無を検討した。異常が疑われる場合は他のプラットフォームアレー (NimbleGen 社 700K アレー等) 等で検証した。

#### C. 研究結果

139 例全例で Cytogenetics Array 2.7M あるいは Cytoscan HD の解析が終了した。専用解析ソフト ChAS を用いて *ATRX* 領域を描出させ全例で Copy Number 解析を行うも明らかな欠失および重複等は認めなかった。病的な CNV のデータベースである DECIPHER にも *ATRX* 領域異常例は登録が無く正常多型としての CNVs も見出せなかった。

#### D. 考察

これまで登録されている *ATRX* 変異のほとんどは機能低下型 (hypomorph) で、機能完全喪失型 (amorph/null) は致死性であることが疑われている。*Atrx* ノックアウトマウスが致死性であることもこれを支持する。本研究でも自閉症を有する男児 139 例で *ATRX* 領域の欠失例はなかった。世界中で array 解析が進行し数多くの症例登録を有する DECIPHER データベースにも登録のないこと、正常多型としての CNV を認めないこと、*ATRX* の null 変異が致死性であることの全てが *ATRX* null 変異の致死性と矛盾しない。

#### E. 結論

自閉症を呈する男児 139 例の解析で *ATRX* の完全欠失は同定されなかった。DECIPHER 登録のないこと、*ATRX* を含む CNV の報告もないこと、ノックアウトマウスが致死であることなどからヒトにおいて *ATRX* の完全機能喪失型変異は

致死的可能性が高いと考えられる。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Okada I<sup>#</sup>, Hamanoue H<sup>#</sup>, (<sup>#</sup> denotes equal contribution) Terada K, Tohma T, Megarbane A, Chouery E, Abou-Ghoch J, Jalkh N, Cogulu O, Ozkinay F, Horie K, Takeda J, Furuichi T, Ikegawa S, Kiyomi Nishiyama K, Miyatake S, Nishimura A, Mizuguchi T, Niikawa N, Hirahara F, Kaname T, Yoshiura K-i, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Furukawa T, \*Matsumoto N. \*Saitu H. *SMOCl* is essential for ocular and limb development in humans and mice. *Am J Hum Genet* 88(1): 30-41, 2011

\*Tohyama J, Kato M, N, Kawasaki S, Kawara H, Matsui T, Akasaka N, Ohashi T, Kobayashi Y, Matsumoto N. Dandy-Walker malformation associated with heterozygous *ZIC1* and *ZIC4* deletion: Report of a new patient. *Am J Med Genet* 155(1): 130-131, 2011

Furuichi T, Dai J, Cho T-J, Sakazume S, Ikema M, Matsui Y, Baynam G, Nagai T, Miyake N, Matsumoto N. Ohashi H, Unger S, Superti-Furga A, Kim O-H, Nishimura G, \*Ikegawa S. *CANT1* is also responsible for Desbuquois dysplasia, type 2 and Kim variant. *J Med Genet* 48(1): 32-37, 2011

\*Saitu H, Hoshino H, Kato M, Nishiyama N, Okada I, Yoneda Y, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Kubota M, Hayasaka K, Matsumoto N. Paternal mosaicism of a *STXBPI* mutation in Ohtahara syndrome. *Clin Genet* 80 (5):484-488, 2011.

\*Yano S, Bagheri A, Watanabe Y, Moseley K, Nishimura A, Matsumoto N. Baskin B, Ray PN. Familial Simpson-Golabi-Behmel syndrome: Studies of X-chromosome inactivation and clinical phenotypes in two female individuals with *GPC3* mutations. *Clin Genet* 80 (5): 466-471, 2011.

Nishimura-Tadaki A, Wada T, Bano G, Gough K, Warner J, Kosho T, Ando N, Hamanoue H, Sakakibara H, Nishimura G, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Wakui K, Saitu H, Fukushima Y, Hirahara F, \*Matsumoto N. Breakpoint determination of X;autosome balanced translocations in four patients with premature ovarian failure. *J Hum Genet* 56(2) 156-160, 2011

Hiraki Y, Nishimura A, Hayashidani M, Terada Y, Nishimura G, Okamoto N, Nishina S, Tsurusaki Y, Doi H, Saitu H, Miyake N, \*Matsumoto N. A de novo deletion of 20q11.2-q12 in a boy presenting with abnormal hands and feet, retinal dysplasia, and intractable feeding difficulty. *Am J Med Genet* 152(2): 409-414, 2011

\*Tonoki H, Harada N, Shimokawa O, Yosozumi A, Monzaki K, Satoh K, Mika Kosaki R, Sato A, Matsumoto N, Iizuka S. Axenfeld-Rieger anomaly and Axenfeld-Rieger syndrome: clinical, molecular-cytogenetic, and DNA array analyses on three patients with chromosomal defects at 6p25. *Am J Med Genet Part A* 155 (12): 2925-2932

Tadaki H, Saitu H, Nishimura-Tadaki A, Imagawa T, Kikuchi M, Hara R, Kaneko U, Kishi T, Miyamae T, Miyake N, Doi H, Tsurusaki Y, Sakai H, Yokota S, \*Matsumoto N. *De novo* 19q13.42

- duplications involving *NLRP* gene cluster in a patient with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *J Hum Genet* 56 (5): 343-347, 2011.
- \*Miyake N, Yamashita S, Kurosawa K, Miyatake S, Tsurusaki Y, Doi H, Saitsu H, Matsumoto N. A novel homozygous mutation of *DARS2* may cause a severe LBSL variant. *Clin Genet* 80(3): 293-296, 2011.
- Tadaki H, Saitsu H, Kanegane H, Miyake N, Imagawa T, Kikuchi M, Hara R, Kaneko U, Kishi T, Miyamae T, Nishimura A, Doi H, Tsurusaki Y, Sakai H, Yokota S, \*Matsumoto N. Exonic deletion of *CASP10* in a patient presenting with systemic juvenile idiopathic arthritis, but not with autoimmune lymphoproliferative syndrome type IIa. *Int J Immunogenet* 38 (4): 287-293, 2011
- Tsurusaki Y, Osaka H, Hamanoue H, Shimbo H, Tsuji M, Doi H, Saitsu H, \*Matsumoto N, \*Miyake N. Rapid detection of a mutation causing X-linked leukodystrophy by exome sequencing. *J Med Genet* 48 (9): 606-609, 2011.
- \*Narumi Y, Shiihara T, Yoshihara H, Sakazume S, van der Knaape MS, Nishimura-Tadaki A, Matsumoto N, Fukushima Y. Hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum (H-ABC) in an infant with Down syndrome. *Clin Dysmorphol* 20 (3): 166-167, 2011
- Dai J, Kim O-K, Cho T-J, Miyake N, Song H-R, Karasugi T, Sakazume S, Ikema M, Matsui Y, Nagai T, Matsumoto N, Ohashi H, Kamatani N, Nishimura G, Furuichi T, Takahashi A, \*Ikegawa S. A founder mutation of *CANT1* common in Korean and Japanese Desbuquois dysplasia. *J Hum Genet* 56(5): 398-400, 2011.
- \*Saitsu H, Matsumoto N. Genetic commentary: *De novo* mutations in epilepsy. *Dev Med Child Neurol* 53 (9):806-807, 2011.
- Shimizu K, Okamoto N, Miyake N, Taira K, Sato Y, Matsuda K, Akimaru N, Ohashi H, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N, \*Kosho T. Delineation of dermatan 4-O-sulfotransferase 1 deficient Ehlers-Danlos syndrome: Observation of two additional patients and comprehensive review of 20 reported patients. *Am J Med Genet* 155(8): 1949-1958, 2011
- \*Saitsu H, Osaka H, Sugiyama S, Kurosawa K, Mizuguchi T, Nishiyama N, Nishimura A, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Harada N, Kato M, Matsumoto N. Early infantile epileptic encephalopathy associated with the disrupted gene encoding Slit-Robo Rho GTPase activating protein 2 (*SRGAP2*). *Am J Med Genet* 158A (1):199-205, 2011
- Tsurusaki Y, Okamoto N, Suzuki Y, Doi H, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Exome sequencing of two patients in a family with atypical X-linked leukodystrophy. *Clin Genet* 80 (2): 161-166, 2011
- Hannibal MC#, Buckingham KJ#, Ng SB#, (# denotes equal contribution) Ming JE, Beck AE, McMillin MJ, Gildersleeve HI, Bigam AW, Tabor HK, Mefford HC, Cook J, Yoshiura KI, Matsumoto T, Matsumoto N, Miyake N, Tonoki H, Naritomi K, Kaname T, Nagai T, Ohashi H, Kurosawa K, Hou JW, Ohta T, Liang D, Sudo A, Morris CA, Banka S, Black GC, Clayton-Smith J, Nickerson DA, Zackai EH, Shaikh TH, Donnai D, Niikawa N, Shendure J, \*Bamshad MJ. Spectrum of *MLL2* (ALR) mutations in 110 cases of Kabuki syndrome. *Am J Med Genet* 155 (7): 1511-1516, 2011.

\*Kosho T, Miyake N, Mizumoto S, Hatamochi A, Fukushima Y, Sugahara K, Matsumoto N. A response to: Loss of dermatan-4-sulfotransferase 1 (D4ST1/*CHST14*) function represents the first dermatan sulfate biosynthesis defect, “Dermatan sulfate-deficient adducted thumb-clubfoot syndrome”. Which name is appropriate, “Adducted thumb-clubfoot syndrome” or “Ehlers-Danlos syndrome”? Hum Mut 32(12):1507-1509, 2011

Doi H, Yoshida K, T Yasuda, Fukuda M, Fukuda Y, Morita H, Ikeda S-i, Kato R, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Sakai H, Miyatake S, Shiina M, Nukina N, Koyano S, Tsuji S, Kuroiwa Y, \*Matsumoto N. Exome sequencing reveals a homozygous *SYT14* mutation in adult-onset autosomal recessive spinocerebellar ataxia with psychomotor retardation. Am J Hum Genet 89(2):320-327, 2011.

Yoneda Y, Haginoya K, Arai H, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Osaka H, Kato M, Matsumoto N, \*Saitsu H. *De novo* and inherited mutations in the gene encoding a type IV collagen  $\alpha 2$  chain (*COL4A2*) cause porencephaly. Am J Hum Genet 90 (1):86-90, 2012

\*Saitsu H, Osaka H, Sasaki M, Takanashi J, Hamada K, Yamashita A, Shiina M, Kondo Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Miyake N, Doi H, Ogata K, Inoue K, \*Matsumoto N. Mutations in *POLR3A* and *POLR3B* encoding RNA polymerase III subunits cause an autosomal recessive hypomyelinating leukoencephalopathy. Am J Hum Genet 90 (1):86-90, 2012.

## 2. 学会発表

講演会「次世代シーケンサーを用いた最先端研究」・松本直通「次世代シーケンサーを用いたヒト疾患ゲノム解析法」(徳島・徳島大学医学部臨床第一講堂 8月26日)

第一回サイトジェノミクスセミナー・松本直通(特別講演)「次世代シーケンス法による疾患研究の最前線」(三菱化学メディエンス志村事業所・東京9月17日)

第46回産婦人科研究会(順天堂大学)松本直通(特別講演)「次世代シーケンサーを用いた疾患ゲノム解析の現状」(順天堂大学医学部・東京9月20日)

第18回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会・松本直通(特別講演)「次世代シーケンサーを用いた疾患ゲノム解析の現状」(佐賀大学医学部・佐賀10月1日)

日本人類遺伝学会第56回大会・松本直通「ヒト遺伝性疾患の原因解明を目指して」学会賞受賞講演(於・幕張メッセ11月11日)

日本人類遺伝学会第56回大会「次世代シーケンサーを用いたヒト疾患ゲノム解析法」松本直通(シンポジスト)シンポジウム11(超高速シーケンサーによる疾患ゲノム解析)(於・幕張メッセ11月12日)

国立精神・神経医療研究センターTMC棟/クラスター研究棟開棟記念講演会「遺伝性神経疾患のエクソーム解析」松本直通(招待講演)(国立精神・神経医療研究センター11月22日)

The 34<sup>th</sup> annual meeting of the molecular biology society of Japan・Next generation sequencing technology enables a large scale medical genomic research (symposium)「Disease genome analysis

using next generation sequencer」 Naomichi Matsumoto (Invited speaker)(Dec 14, 2011 at Yokohama, Japan)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特願 2012-136 松本直通／鶴崎美徳／三宅紀子・  
コフィン－シリス症候群の検出方法・平成 24  
年 1 月 4 日

特願 2011-247457 才津浩智／松本直通・孔脳症お  
よび周産期脳出血の検出方法・平成 23 年 11  
月 11 日

特願 2011-226488・才津浩智／松本直通・び慢性  
大脳白質形成不全症の検出方法・平成 23 年  
10 月 14 日

特願 2011-136277・松本直通／土井宏・常染色体  
劣性遺伝性脊髄小脳変性症の検出方法・横浜  
市立大学・平成 23 年 6 月 20 日

### [III] 研究成果の刊行に関する一覧表

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
Osaka H, Takagi A, Tsuyusaki Y, Wada T, Iai M, Yamashita S, Shimbo H, Saito H, Salomons GS, Jakobs C, Aida N, Toshihiro S, Kuhara T, Matsumoto N.	Contiguous deletion of SLC6A8 and BAP31 in a patient with severe dystonia and sensorineural deafness.	Mol Genet Metabo	106	43-47	2012
Shozo Honda, Shigeko Satomura, Shin Hayashi, Issei Imoto, Eiji Nakagawa, Yu-ichi Goto and Johji Inazawa and the Japanese Mental Retardation Consortium (including Wada T).	Concomitant microduplications of <i>MECP2</i> and <i>ATRX</i> in male patients with severe mental retardation	J Hum Genet	57	73-77	2012
Giardine B, and others, Wada T, others, Patrions GP	Systematic documentation and analysis of human genetic variation in hemoglobinopathies using the microattribution approach.	Nat Genet	43	295-301	2011
Wada T, Shimbo H, Osaka H.	A simple screening method using ion chromatography for the diagnosis of cerebral creatine deficiency syndromes.	Amino Acids		epub ahead of print	2011
和田敬仁	ATR-X症候群の分子遺伝学	医学のあゆみ	239	645-652	2011
和田敬仁	X連鎖性遺伝性疾患. 福嶋義光 (編) 遺伝カウンセリングハンドブック.	遺伝子医学MOOK別冊		92-95	2011



## [IV] 班構成員名簿

「わが国におけるX連鎖 $\alpha$ 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」研究班

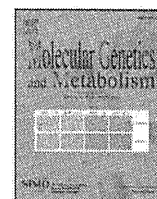
区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研 究 代 表 者	和田敬仁	神奈川県立こども医療センター 神経内科	医 長
研 究 分 担 者	岡本伸彦	大阪府立母子保健総合医療センター 遺伝診療科	科長
	小坂仁	神奈川県立こども医療センター 神経内科	部長
	黒澤健司	神奈川県立こども医療センター 遺伝科	科長
	後藤雄一	国立精神・神経医療研究センター	部長
	斉藤伸治	名古屋市立大学大学院医学研究科 新生児・小児医学	教授
	田辺秀之	総合研究大学院大学先導科学研究科	准教授
	福嶋義光	信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座	教授
	松本直通	横浜市立大学大学院医学研究科環境分子医科学	教授

## [V] 資料



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

## Molecular Genetics and Metabolism

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ymgme](http://www.elsevier.com/locate/ymgme)Contiguous deletion of *SLC6A8* and *BAP31* in a patient with severe dystonia and sensorineural deafness

Hitoshi Osaka <sup>a,\*</sup>, Atsushi Takagi <sup>a</sup>, Yu Tsuyusaki <sup>a</sup>, Takahito Wada <sup>a</sup>, Mizue Iai <sup>a</sup>, Sumimasa Yamashita <sup>a</sup>, Hiroko Shimbo <sup>a</sup>, Hiroto Saito <sup>c</sup>, Gajja S. Salomons <sup>d</sup>, Cornelis Jakobs <sup>d</sup>, Noriko Aida <sup>b</sup>, Shinka Toshihiro <sup>e</sup>, Tomiko Kuhara <sup>e</sup>, Naomichi Matsumoto <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Division of Neurology, Kanagawa Children's Medical Center, Yokohama, Japan

<sup>b</sup> Division of Radiology, Kanagawa Children's Medical Center, Yokohama, Japan

<sup>c</sup> Department of Human Genetics, Yokohama City University Graduate School of Medicine, Yokohama, Japan

<sup>d</sup> Metabolic Unit, Department of Clinical Chemistry, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

<sup>e</sup> Division of Human Genetics, Medical Research Institute, Kanazawa Medical University, Uchinada, Ishikawa, Japan

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 1 February 2012

Received in revised form 25 February 2012

Accepted 25 February 2012

Available online 5 March 2012

## Keywords:

ATP-binding cassette, sub-family D, member 1 (ABCD1)

B-cell receptor-associated protein (BAP31)

Solute carrier family 6, member 8 (SLC6A8)

Xq28 deletion syndrome

## ABSTRACT

We report here a 6-year-old boy exhibiting severe dystonia, profound intellectual and developmental disability with liver disease, and sensorineural deafness. A deficient creatine peak in brain <sup>1</sup>H-MR spectroscopy and high ratio of creatine/creatinine concentration in his urine lead us to suspect a creatine transporter (solute carrier family 6, member 8; SLC6A8) deficiency, which was confirmed by the inability to take up creatine into fibroblasts. We found a large ~19 kb deletion encompassing exons 5–13 of *SLC6A8* and exons 5–8 of the B-cell receptor-associated protein (*BAP31*) gene. This case is the first report in which the *SLC6A8* and *BAP31* genes are both deleted. The phenotype of *BAP31* mutations has been reported only as a part of Xq28 deletion syndrome or contiguous ATP-binding cassette, sub-family D, member 1 (*ABCD1*)/*DXS1375E* (*BAP31*) deletion syndrome [MIM ID #300475], where liver dysfunction and sensorineural deafness have been suggested to be attributed to the loss of function of *BAP31*. Our case supports the idea that the loss of *BAP31* is related to liver dysfunction and hearing loss.

© 2012 Elsevier Inc. All rights reserved.

## 1. Introduction

The creatine (Cr)-creatine phosphate system provides for the storage and fast release of phosphate-bound energy to the muscle and brain. The recent elucidation of congenital genetic diseases supports the vital role of this system in the brain [1]. As such, cerebral Cr deficiency syndrome (CCDS) consists of 3 genetic defects in either L-arginine: glycine amidinotransferase (AGAT), guanidinoacetate methyltransferase (GAMT), or Cr transporter 1 [1]. To date, 9 cases from 4 families with AGAT deficiency (OMIM #612718) and ~40 cases with GAMT-related CCDS (OMIM #601240) have been reported [2]. The solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, creatine), member 8 (*SLC6A8*) maps to Xq28 and encodes Cr transporter 1, which is ubiquitously expressed in human tissues and allows Cr uptake into cells [3]. *SLC6A8* deficiency (OMIM #300352) is the most frequent cause of CCDS and reported to constitute ~1–5% of X-linked intellectual disabilities [4–11]. To date, 43 mutations from 44 unrelated families have been

reported, including nonsense, missense, and splice-site mutations, single-amino acid deletions, and one large genomic deletion [6,12–15].

The phenotype of *SLC6A8* deficiency ranges from mild intellectual disability and speech delay to severe intellectual disability, seizures, and behavioral disorders. The precise pathophysiology of *SLC6A8* deficiency remains largely unknown; however, the severe phenotype associated with the large genomic deletion implies that the complete loss of *SLC6A8* correlates with severe phenotype. We report here another case of *SLC6A8* deficiency syndrome with a large genomic deletion of ~19 kb that encompasses exons 5–13 of *SLC6A8* and exons 5–8 of the B-cell receptor-associated protein (*BAP31*) gene, situating tail-to-tail. As far as we know, this is the first case report with a deletion of both the *SLC6A8* and *BAP31* genes. The phenotype of the *BAP31* mutations has only been reported as part of Xq28 deletion syndrome or contiguous ATP-binding cassette, sub-family D, member 1 (*ABCD1*)/*DXS1375E* (*BAP31*) deletion syndrome (CADD5; MIM ID #300475) [16]. Patients with CADD5 manifest with leukodystrophy due to an *ABCD1* mutation. Moreover, liver dysfunction and sensorineural deafness reportedly accompany the adrenoleukodystrophy (ALD) phenotype, implicating its attribution to the loss of function of *BAP31*. Our case supports the relationship between the loss of *BAP31* and liver dysfunction and hearing loss.

\* Corresponding author at: Division of Neurology, Clinical Research Institute, Kanagawa Children's Medical Center, Mutsukawa 2-138-4, Minami-ku, Yokohama, 232-8555, Japan. Fax: +81 45 721 332.

E-mail address: [hosaka@kcmc.jp](mailto:hosaka@kcmc.jp) (H. Osaka).