

## White Matter Lesion in brain MRI can be Diagnostic for ATR-X syndrome; The Study of Brain MRI/CT findings in ATR-X syndrome Patients in JAPAN

T. Wada<sup>1</sup>, H. San<sup>2</sup>, K. Enomoto<sup>3</sup>, K. Kurosawa<sup>4</sup>, N. Aida<sup>5</sup>, and ATR-X Syndrome Network Japan.

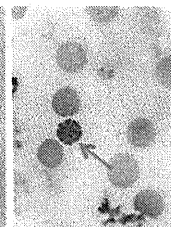
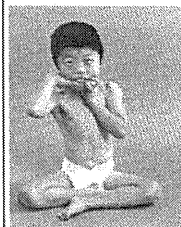
- 1) Pediatric Neurology, Kanagawa Children's Med Center, Yokohama, Japan;
- 2) Pediatrics, Hiroei Red Cross Hospital, Himeji, Hyogo, Japan;
- 3) Pediatrics, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan;
- 4) Genetics, Kanagawa Children's Med Center, Yokohama, Japan;
- 5) Radiology, Kanagawa Children's Med Center, Yokohama, Japan.

E-mail: twada@kcmc.jp

## ATR-X syndrome

X-linked  $\alpha$ -thalassemia/mental retardation syndrome

(Alpha-thalassemia X-linked Intellectual Disability syndrome ; MIM#301040)



- Male patients
- Severe mental retardation
- HbH ( $\alpha$ -thalassemia)
- Characteristic facies
- Genital abnormalities
- Skeletal abnormalities
- Characteristic behavior
- Mutation of *ATRX* gene on Xq13.3

HbH inclusions as golf ball-like appearance with Brilliant Cresyl Blue staining of peripheral blood

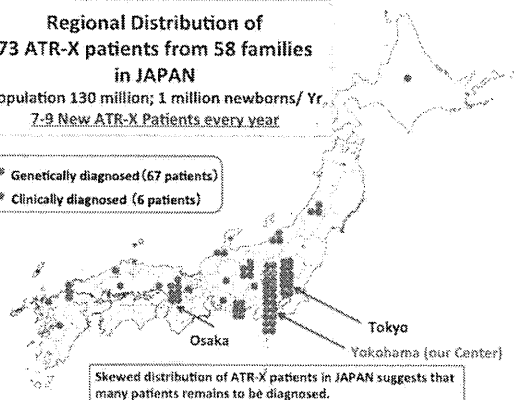
## Background

- Alpha-thalassemia X-linked Intellectual Disability (*ATR-X*) syndrome (MIM#301040) is among X-linked intellectual disability (XLID) syndromes, which is due to mutations of *ATRX* gene, encoding chromatin remodeling protein.
- More than 200 patients in the world, including more than 70 Japanese cases, have been diagnosed as *ATR-X* syndrome.
- *ATR-X* syndrome seems a rare disease, however, we estimated that the prevalence of *ATR-X* syndrome is 1/30,000-40,000 newborn boys, which is much higher than that have been reported formerly. So more patients should remain to be diagnosed.
- Since 2010, we have established *ATR-X* syndrome Network Japan (<http://kcmc.jp/ATR-X/index.html>) for patients and their families, and we have surveyed *ATR-X* syndrome patients in Japan.

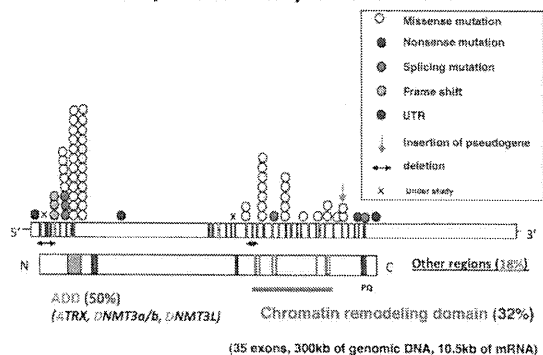
## Regional Distribution of 73 *ATR-X* patients from 58 families in JAPAN

Population 130 million; 1 million newborns/ Yr.  
7-9 New *ATR-X* Patients every year

- Genetically diagnosed (67 patients)
- Clinically diagnosed (6 patients)



## *ATRX* gene mutations of 67 Japanese *ATR-X* syndrome Patients



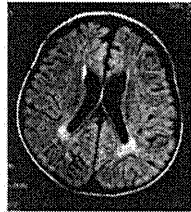
## Aim of this study

- Final purpose of our clinical research is to establish the diagnostic criteria, which facilitate further clinical study of individuals with proven *ATR-X* molecularly, and assist in the evaluation of those who appear to have clinical features of *ATR-X* with no *ATRX* mutations, as well as to establish the management of *ATR-X* syndrome.
- Because few comprehensive study about brain MRI/CT of *ATR-X* syndrome are available, we investigated brain MRI/CT findings of 33 Japanese *ATR-X* patients who had *ATRX* gene mutations.
  - The age on their CT/MRI evaluated is 4 months to 9 years old.
  - MR imaging of the brain was performed at 1.5T or 3T at multiple medical centers.
  - Axial T1-, T2-weighted and FLAIR MRI or CT were evaluated.
  - Patients who had neonatal asphyxia or hypoxic encephalopathy were excluded in this study.

**Pattern 1: White matter abnormalities especially around trigones**



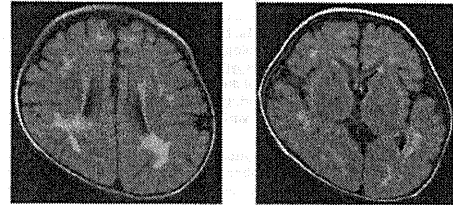
Case #23: 4Yr4mo (MRI FLAIR)  
ATRX mutation of chromatin remodeling domain in exon 19 [p.V1624M]



Case #22: 2Yr11mo (MRI FLAIR)  
ATRX mutation of chromatin remodeling domain in exon 19 [p.A1622V]  
(Courtesy of Dr. Matsuji, Yanagawa, JAPAN)

Increased signal intensity on T2/FLAIR MRI in periventricular, especially around the peritrigonal area (->); enlargement of perivascular space is seen (->)

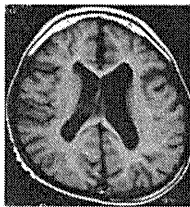
**Pattern 2: Widespread and Scattered White Matter Abnormalities**



FLAIR MRI at 12 months old  
Case #1: ATRX mutation of a nucleotide substitution in 5'-UTR.

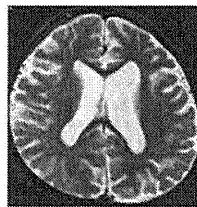
High signal intensity on FLAIR/T2 MRI in white matter, especially in the peritrigonal area and deep white matter, not in diffuse, but in widespread and scattered pattern. He can walk at three years old, and talk a few words.

**Pattern 3: Nonspecific Brain Atrophy**

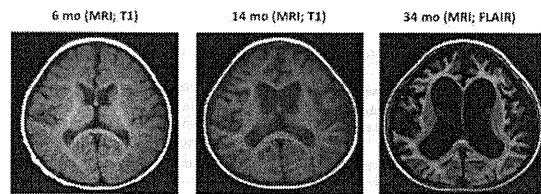


T1W- (left) and T2W- (right) MRI at nine years old  
Case #5: ATRX mutation in exon 6 [c.390\_391 ins A; E131fs]

Diffuse brain cortical atrophy and ventricular enlargement due to loss of white matter volume, which are not progressive.



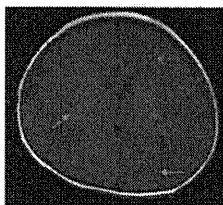
**Pattern 4: Progressive Brain Atrophy**



6 mo (MRI; T1) 14 mo (MRI; T1) 34 mo (MRI; FLAIR)  
Sequential change of brain MRI  
Case #30: ATRX mutation in int 35 [c.7200+4A>G, p.L2401fs]

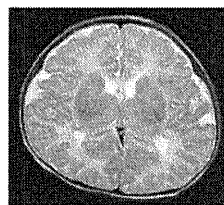
Brain MRI shows rapid and progressive brain cortical atrophy, resulting in volume loss of white matter and ventricular enlargement. The patient has severe developmental delay and intractable epilepsy following West syndrome, but no episodes of hypoxic encephalopathy.

**Pattern 5: Delayed Myelination**



T1W- (left) and T2W- (right) MRI at four months old  
Case #29: ATRX mutation in exon 35 [c.7156C>T, p.Arg2386Stop]

Myelination appears only at posterior limb of internal capsule (->) on T1-weighted MRI. At normal four months old, high intensity should extend from the junction of the anterior limb of the internal capsule at the callosal genu (->) all the way back to visual cortex (->) along the internal capsule and optic radiations.



**Summary of Abnormal Brain CT/MRI findings in 30 ATR-X patients**

CASE#	exon	Mutation	High signal intensity on T2/FLAIR in white matter			Gray matter Abnormality		
			Peritrigonal area	Widespread & scattered	Delayed Myelination	Atrophy	Progressive atrophy	Others
1	K-UTR	del/ins/ins						
2	2 to 5	exp2-2 del						
3	8	del/ins						
4	8	E131fs	*		*			HCC
5	6	c.390_391 ins A						HCC
6	6	c.390_391 ins A	*					
7	6	P190L						
8	6	V194L						
9	6	V194A						
10	6	V194A						
11	6	P190L	*		*			HCC
12	6	E228P	*					
13	6	L209F	*					
14	6	L245P	*					
15	6	R246C	*					
16	6	R246C	*					
17	6	Y246C	*					
18	6	R246C	*					
19	6	T276P	*					
20	6	T276P	*					
21	10	del/ins	*					
22	10	T to G del	*					
23	19	A1622V	*		*			
24	19	V1624M	*					CVA
25	19	E1645D	*					
26	20	R2055C	*					
27	20	R2055C	*					
28	31	M2171V	*					VE/HCC
29	35	R7183C	*		*			
30	int.35	del/ins/ins						VE

NBS of CASE#s in this table are presented in Figures. HCC: hypomyelination of corpus callosum, CVA: cerebellar vermis atrophy, VE: ventricular enlargement

### Result & Discussion

- The brain CT/MR of 30 out of 33 patients (91%) showed some abnormalities.
- 17 out of 30 patients (57%) showed nonspecific brain atrophy (Pattern 3).
- FLAIR/T2 MRI of 11 patients (37%) showed high intensity of the white matter especially around the trigones with/without multiple small spherical foci (Pattern 1). We cannot conclude that these findings does not correlate with their clinical severity of the patients, because many patients are still too young for us to evaluate their development. Compared to Pattern 3, Pattern 1 may be more frequent in patients with mutations in chromatin remodelling domain. In general, the peritrigonal area do not complete myelination (high signal in FLAIR/T2) until 4 years old, but these findings shown in ATR-X patients are different from normal variant in its distribution and signal intensity.
- One patient showed interesting pattern of white matter abnormality (Pattern 2). His mutation is a nucleotide substitution in 5'-UTR, and ATRX expression may be suppressed severely, although ATRX protein is normal. His red cell has more HbH inclusions (5%) than other patients and hypospadias, but her development is much better, or he can walk and talk a few words. This suggest that quantity of ATRX protein can affect alpha globin expression, genital development, and myelination, but quality of ATRX protein is more important for intellectual ability. Another possibility is that the site of the mutation is less important for ATRX expression in neuron, compared to oligodendroglia or hematopoietic cell.

- Delayed Myelination (Pattern 5) are showed in 4 (13%).
- The patient (#30) showed severe and rapidly progressive cortical brain atrophy (Pattern 4). His clinical condition is much severe, and West syndrome (Infantile Spasm) in ATR-X patients have not been reported yet. So he may have some pathological conditions other than ATR-X. His mutation is in int 35, or the last intron, resulting in exon skipping of exon 35, which consist of 126 bp, and introducing 43 amino acids deleted ATRX protein. This truncated protein may be related to his severe intellectual disability or epileptic condition.
- ATRX protein looks important for myelin formation. We should consider ATR-X syndrome as differential diagnosis in patients with intellectual disabilities, whose T2 or FLAIR MRI shows high intensity regions in white matter, especially around the trigones. ATR-X may be categorized into white matter disease or leucodystrophy.
- We propose these findings as associated (<50%) features or supporting features of the diagnostic criteria of ATR-X syndrome or ATRX gene mutation positive patients with atypical ATR-X syndrome features.
- We should evaluate brain MRI of more patients to validate these findings and update the consensus for it in the near future.

### Acknowledgement

I thank patients & their families, and their doctors.

#### ATR-X Research Group in JAPAN

- Kanagawa Children's Medical Center, Yokohama, Japan
  - Wada T, Kurosewa K, Osaka H
- Nagoya City University Graduate School of Medical Science, Nagoya, Japan
  - Saitoh S
- Osaka Medical Center and Research Institute for Maternal and Child Health, Osaka, Japan
  - Okamoto N
- Shinshu University, Matsumoto, Japan
  - Fukushima Y
- Yokohama City University, Yokohama, Japan
  - Matsumoto N
- The Graduate University for Advanced Studies, Hayama, Japan
  - Tanabe H
- National Center of Neurology and Psychiatry, Kodaira, Japan
  - Goto Y

The research grant for Intractable Diseases from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan supports this work.

### Proposal of Diagnostic criteria of ATR-X syndrome (extracts)

#### Consistent & Diagnostic signs and symptoms (>90%)

1. Male patients
2. Severe mental retardation  
no meaningful words
3. hypotonic facies  
Microcephaly, Upswept of the frontal hair, hypertelorism, depressed nasal bridge, small triangular nose, tented upper lip, prominent lower lip, open mouth,
4. Gastrointestinal abnormalities  
feeding difficulty (need gavage feeding), vomiting, gastroesophageal reflux, aerophagia, ileus, constipation, excessive drooling
5. Characteristic behavior and/or posture  
Autistic behavior: avoiding eye contact, stereotype movement  
Emotionally labile; bouts of prolonged crying or laughing  
Looking up obliquely with his chin up, Tilting his head  
Self injury or self-vomiting; pushing up his jaw or throttling his neck with his palm upward

#### Frequent signs and symptoms (>50%)

Neonate; general hypotonia

Abnormal External genitalia; small or undescended testes, micropenis, hypospadias

Skeletal anomalies; tapered digits, joint contracture, kyphosis or scoliosis

Growth; short stature

Testing; HbH inclusions in erythrocyte by Brilliant cresyl blue staining (80%)

#### Associated signs and symptoms (<50%)

CNS; epilepsy, abnormal brain MRI (cerebral atrophy, abnormal signal of white matter, hypoplasia of corpus callosum)

Congenital Hear disease;

Kidney; anomaly

Eye; strabismus, cataract

Miscellaneous; periodic attack of poor activity and/or feeding for several days, apnea or cyanosis attack

Others; X-linked suspected family history (*de novo* -30%)

## II. 分担研究資料

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

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

分担研究者 黒澤 健司 神奈川県立こども医療センター 遺伝科科長

研究要旨

神奈川県における小児病院遺伝外来の先天異常・奇形症候群症例の受診状況から、X連鎖 $\alpha$ サラセミア・精神遅滞症候群(ATR-X)の発生頻度を推定した。神奈川県立こども医療センターは県内唯一の小児専門医療機関であり、高度で専門的な医療を必要とする先天性多発奇形症例が集中する。観察期間1983-2008年の25年間に出生した9家系11例のATR-X症例を経験し、この間に1599例のDown症候群新患症例の受診があった。神奈川県におけるこの期間のDown症候群発生頻度はほぼ一定で推移し、Down症候群の遺伝外来受診状況は神奈川県一般集団におけるダウン症発生動向を反映していた。Down症受診例とATR-X症例の発生頻度の比が一定と仮定すると、その比は1:145となり、この期間の神奈川県における推定のDown症候群発生頻度(10-12/10,000出生)を考慮すると、確定診断例の発生頻度は少なくとも男児58,000-73,000出生に1例と推定された。発生頻度を推定する上では、X連鎖性劣性遺伝の形式による家系内集積や、生命的にvulnerableであること、診断の難易度による診断未確定例の潜在などの可能性も考慮する必要があると考えられた。

共同研究者

和田 敬仁(神奈川県立こども医療センター神経内科)

榎本 啓典(同 遺伝科)

石川 亜貴(同 遺伝科)

古谷 憲孝(同 遺伝科)

プされる *ATRX* で、*ATRX* は核内タンパクとして、複合体を作って DNA メチル化に関わるクロマチンの再構築に関与している。したがって発症に関わる変異は、機能の中心であるヘリカーゼドメインとクロマチンを介した転写制御を行うドメインとに集中している。女性保因者では skewed パターンのために、保因者診断として BCB 染色法を用いる場合は慎重を要する。性腺モザイク例や、非症候群性精神遅滞の *ATRX* 変異例の報告もある。臨床的には、多くの合併症を有し、疾患を理解した医療管理が重要とされる。

A. 研究目的

X連鎖 $\alpha$ サラセミア・精神遅滞症候群(X-linked  $\alpha$ -thalassemia/mental retardation syndrome: ATR-X MIM.#301040)は、粗な特異顔貌、軽度のHbH病、重度精神遅滞、外性器異常などを特徴とするX連鎖性症候群である。歴史的には、Weatherallら(1981)が $\alpha$ サラセミアを伴う精神遅滞3家系を報告した後に、Wilkieら(1990)が $\alpha$ サラセミア(HbH病)を呈する精神遅滞疾患を、 $\alpha$ グロビン遺伝子を含む16p13.3領域の微細欠失によるATR-16(MIM.141750)とX連鎖の遺伝形式をとるATR-Xとに分類した。原因遺伝子はXq13にマッ

一般に、先天性多発奇形症候群の多くが遺伝子異常を原因としており、根本治療は困難である。こうした難治性疾患である奇形症候群の自然歴を明らかにすることは極めて重要である。自然歴を明らかにすることにより、医療サイドの理解が得られ、合併症管理に有用となる。さらに自然歴に関する情報は、将来に対する親の不安を取り除くことを可能とし、結果として長期的予後の改善が期待できるか

らである。同時に、こうした先天奇形症候群の発生頻度を明らかにすることも重要である。それは、多くの医療問題を抱えた患者および患者家族をサポートする上で、明確な理念にもとづいた医療施策の基本データとして必須となり、さらに、地域ごとの大きな発生頻度の違いが評価方法のバイアスによるものであることを指摘することができるからである。

今回、我々は小児病院における受診例および人口ベースの先天異常モニタリング調査のデータを参考にしつつ、ATR-X 症候群の発生頻度について検討した。ATR-X 症候群の正確な発生頻度に関する報告はなく、成書でも記載はない(Gibbons, 2005)。遺伝子レベルで診断が確定したのは世界的には 200 症例程度とされているが、その分布には評価バイアスが大きく、発生頻度の推定には至っていない。こうした多発奇形・精神遅滞症候群の臨床診断を専門とする遺伝科医師の診断による定点観測としての発生頻度を神奈川県における先天異常に関する医療状況を考慮して検討した。発生頻度を推定する上で、X連鎖性劣性遺伝の形式による家系内集積や、生命的に vulnerable であることも考慮する必要がある。これまでの海外からの報告と比較しつつ検討を加えた。

## B. 研究方法

対象は、神奈川県立こども医療センター遺伝科へ受診歴のある 9 家系 11 例の ATR-X 症候群症例である。明確な診断基準はこれまで文献的には明らかにされていない。したがって、診断は臨床症状の組み合わせから臨床遺伝専門医でもある経験豊かな Dysmorphology の専門家、あるいは小児神経専門医によってなされた。全例で責任遺伝子 ATRX のシーケンス解析がなされ、変異の検出により診断の確定がなされている。これら 11 例の出生を年次ごとにまとめ、出生状況に揺らぎがあるか検討した。比較対象として、これら対象症例の出生年次に遺伝科を初診となったダウン症候群症例を取り上げた。ダウン症候群は最も頻度の高い常染色体異常症であり、一般集団における発生頻度は約 800 出生に 1 例で、人種差はない。発生頻度が比較的一定で、診断が容易であるダウン症候群と

の比を観察することにより、発生頻度を推定した。また、ダウン症候群の発生頻度が県内において一定であることを確認するために、神奈川県における先天異常モニタリング調査のデータも参考とした。

## (倫理面への配慮)

解析にあたっては全ての個人情報 は潜在化させた。遺伝子解析は十分なインフォームドコンセントの後に文書により承諾を得た。

## C, D. 研究結果と考察

9 家系 11 例の ATR-X 症候群症例を出生年別にまとめた。1980 年以前の出生症例はいることが推定されたが、当時の診断精度、疾患の知名度の影響を考慮し、対象としなかった。したがって、1983-2008 年までの約 25 年間で出生した 9 家系 11 例の発生状況から推定することとした。対象群を出生年別(1983-2008 年)に図 1 にまとめた。25 年間に 11 例の出生があり、年次変化はあるものの極端な集積はなく、0-2 例の出生で、平均 1 例/2-3 観察年の出生が認められた。この期間の Down 症候群症例の遺伝科初診例数を図 2 にまとめた。1990 年代前半に若干の低下傾向を認めるものの、約 60 前後で推移し、2005 年以降は 70 前後で推移している。この間の神奈川県先天異常モニタリング調査(KAMP)での Down 症候群発生動向を確認すると、同様に 1990 年代前半に低下傾向を見ているが、その後 10,000 出生あたり 5-6 で推移し、2003 年以降 7-8 で若干高めに推移している。KAMP での把握率は 1980 年代に 67% (奇形児発生頻度が 1.14% と評価されていた当時) と推定されている。従ってこの期間の Down 症候群発生頻度は 10-12/10,000 出生と考えられる)。この傾向を小児病院遺伝外来初診者数と比較すると、人口ベースのモニタリング調査の傾向が、小児病院遺伝外来の患者分布にも反映されていることがわかる。今回検討した 1983-2008 年(25 年間)について、Down 症候群 1599 例に対して 11 例の ATR-X 症候群症例の出生(平均 145 例の Down 症例に対して 1 例の ATR-X 症例)である。Down 症候群出生が上述のモニタリングデータに従うと、ATR-X 症候群の発生頻度は、116,000-145,000 出生に 1 例

の頻度となる。X連鎖劣性遺伝のために男児のみに発症と仮定すると、少なくとも男児 58,000－73,000 出生に 1 例の発生頻度が推定される。ただし、ATR-X 症候群の診断は、必ずしも Down 症候群のように小児医療に関わるものであるなら誰でも診断が可能であるわけではなく、ときに臨床専門医でも診断に躊躇することがあり、評価バイアスは考慮する必要がある。また、発生頻度を推定する上で、X連鎖性劣性遺伝の形式による家系内集積や、生命的に vulnerable であること(Gibbons 2005)も考慮する必要がある。まとめると男児 30,000－40,000 出生に 1 例が妥当な推定発生頻度かもしれない。

## E. 結論

神奈川県における小児病院遺伝外来の先天異常・奇形症候群症例の受診状況から、ATR-X 症候群の発生頻度を推定した。観察期間 1983－2008 年の 25 年間に出生した 9 家系 11 症例の ATR-X 症候群を経験し、この間に 1599 例の Down 症候群新患症例の受診があった。Down 症候群の遺伝外来受診群は神奈川県一般集団における発生動向を反映していた。ATR-X 症例 11 例の出生は 25 年間で極端な偏りはなく、Down 症受診例と ATR-X 症例の発生頻度の比が一定と仮定すると、その比は 1:145 となり、この期間の神奈川県における推定の Down 症候群発生頻度(10－12/10,000 出生)を考慮すると、確定診断例の発生頻度は少なくとも男児 58,000－73,000 出生に 1 例と推定された。X連鎖性劣性遺伝の形式による家系内集積や、生命的に vulnerable であること、さらには診断の難易度による診断未確定例が潜在している可能性を考慮すると男児 30,000－40,000 出生に 1 例と推測されるかもしれない。

## 謝辞

本研究の資料の一部は、神奈川県産科婦人科医会の協力による神奈川県新生児特別地域保健事業によっている。先天異常モニタリング調査による研究の一部は、厚生労働省科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業)「本邦における先天異常モニタリングの構築と外的・環境因子サーベイランスに関する研究(主任研究者 平原史樹)」(H19

－子ども一般 007)による。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Yamamoto K, Yoshihashi H, Furuya N, Adachi M, Ito S, Tanaka Y, Masuno M, Chiyo H, Kurosawa K. Further delineation of 9q22 deletion syndrome associated with basal cell nevus (Gorlin) syndrome: Report of two cases and review of the literature. *Cong Anom* 2009;49:8-14.
2. Fujita K, Aida N, Asakura Y, Kurosawa K, Niwa T, Muroya K et al. Abnormal basiocciput development in CHARGE syndrome. *Am J Neuroradiol* 2009;30: 629-634.
3. Kuniba H, Yoshiura KI, Kondoh T, Ohashi H, Kurosawa K, Tonoki H et al. Molecular karyotyping in 17 patients and mutation screening in 41 patients with Kabuki syndrome. *J Hum Genet* 2009;54:304-309.
4. Saitsu H, Kurosawa K, Kawara H, Eguchi M, Mizuguchi T, Harada N, Kaname T, Kano H, Miyake N, Toda T, Matsumoto N. Characterization of the complex 7q21.3 rearrangement in a patient with bilateral split-foot malformation and hearing loss. *Am J Med Genet Part A* 2009;149A:1224-1230.
5. Yamanaka M, Ishikawa H, Saito K, Maruyama Y, Ozawa K, Shibasaki J, Nishimura G, Kurosawa K. Prenatal Findings of Paternal Uniparental Disomy 14: Report of Four Patients. *Am J Med Genet Part A* 2010;152A:789-791.
6. Hosoki K, Kagami M, Tanaka T, Kubota M, Kurosawa K, Kato M. et al. Maternal uniparental disomy 14 syndrome demonstrates Prader-Willi syndrome-like phenotype. *J Pediatr*. 2009 Dec;155(6): 900-903.e1. Epub 2009 Oct 1.
7. Tsuji M, Aida N, Obata T, Tomiyasu M, Furuya N, Kurosawa K, Errami A, Gibson KM, Salomons GS, Jakobs C, Osaka H. A new case of GABA transaminase deficiency detected with

- proton MR spectroscopy. *J Inher Metab Dis* 2010;33:85-90.
8. Osaka H, Koizume S, Aoyama H, Iwamoto H, Kimura S, Nagai J, Kurosawa K, Yamashita S. Mild phenotype in Pelizaeus-Merzbacher disease caused by a PLP1-specific mutation. *Brain Dev* (in press)
  9. Tsuyusaki Y, Yoshihashi H, Furuya N, Adachi N, Osaka H, Yamamoto K, Kurosawa K. 1p36 deletion syndrome associated with Prader-Willi-like phenotype. *Pediatr Int* (in press)
  10. 金子実基子, 鮫島希代子, 西川智子, 古谷憲孝, 吉橋博史, 蒔田芳男, 羽田明, 稲澤讓治, 千代豪昭, 黒澤健司 原因不明多発奇形・精神遅滞例を対象とした染色体微細構造異常解析における遺伝カウンセリング予備調査から一. *日本遺伝カウンセリング学会誌* 2009;29:57-61.
  11. 小澤克典, 石川浩史, 丸山康世, 永田智子, 長瀬寛美, 古谷憲孝, 吉橋博史, 黒澤健司, 柴崎淳, 山中美智子 胎児期から14番染色体父性片親ダイソミーを強く疑った1例 *日本遺伝カウンセリング学会誌* 2009;30:19-22.
  12. Kobayashi T, Aoki Y, Niihori T, Cavé H, Verloes A, Okamoto N, Kawame H, Fujiwara I, Takada F, Ohata T, Sakazume S, Ando T, Nakagawa N, Lapunzina P, Meneses AG, Gillissen-Kaesbach G, Wiczorek D, Kurosawa K, Mizuno S, Ohashi H, David A, Philip N, Guliyeva A, Narumi Y, Kure S, Tsuchiya S, Matsubara Y. Molecular and clinical analysis of RAF1 in Noonan syndrome and related disorders: dephosphorylation of serine 259 as the essential mechanism for mutant activation. *Hum Mutat* 2010; 31:284-94.

## 2. 学会発表

1. Enomoto K, Iju K, Kurosawa K, Ohta M. A new case of Double Aneuploidy Mosaicism: 47,XX,+8 / 45,X. American Society of Human Genetics, 59<sup>th</sup> Annual Meeting, 2009. 10. 20-14, Honolulu.
2. Saitsu H, Kurosawa K, Kawara H, Eguchi M, Mizuguchi T, Harada N et al. Characterization of the complex 7q21.3 rearrangement in a patient with bilateral split-foot malformation and hearing loss. American Society of Human Genetics, 59<sup>th</sup> Annual Meeting, 2009.10.20-14, Honolulu.
3. Kurosawa K, Tanaka M, Osaka H, Ohashi H, Hamano S, Enomoto K, et al. Complex chromosomal rearrangements in a girl with Pelizaeus-Merzbacher disease. American Society of Human Genetics, 59<sup>th</sup> Annual Meeting, 2009.10.20-14, Honolulu.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし。



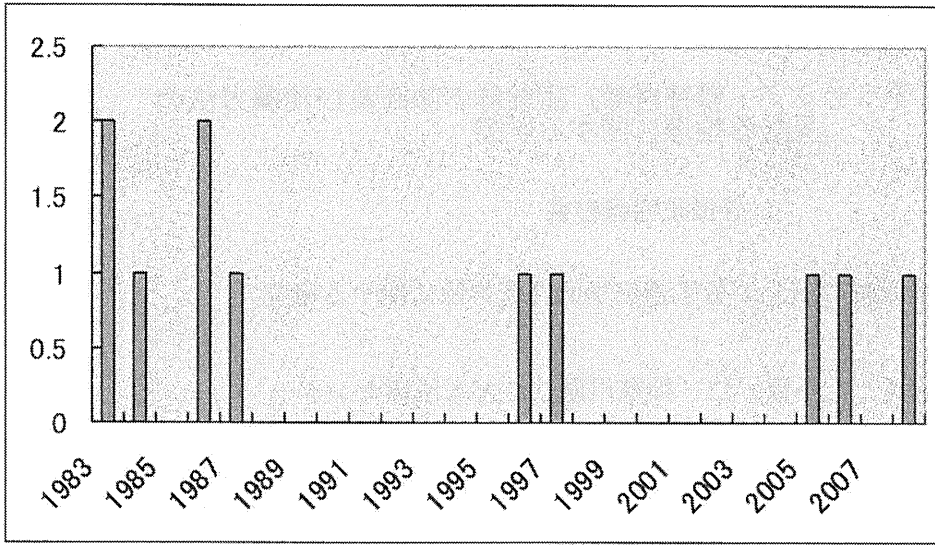


図 1. 遺伝外来を受診した ATR-X 症候群症例出生年

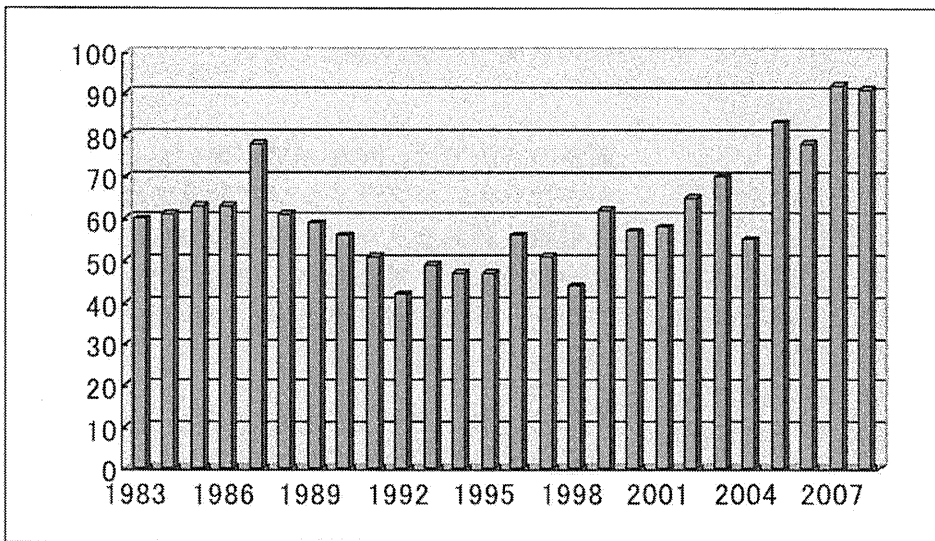


図 2. 遺伝外来を受診した Down 症候群症例数の動向

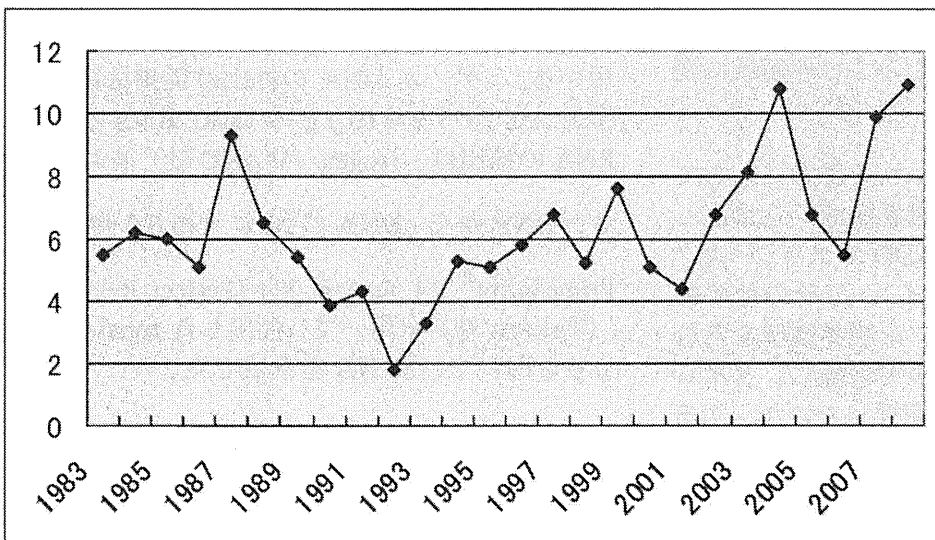


図 3. 神奈川県先天異常モニタリング調査からみた Down 症候群発生頻度の推移 (対 10,000 出生)

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

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

研究研究者 小坂 仁 神奈川県立こども医療センター

研究要旨：X連鎖性 $\alpha$ サラセミア精神遅滞（ATR-X）症候群が臨床的に疑われる症例に対する、より効率的な分子遺伝学的診断方法の開発を目的とした。ATR-X 症候群はクロマチンリモデリング蛋白をコードする *ATRX* 遺伝子が責任遺伝子である。本研究では、患者末梢血液から直接 RNA を抽出し、cDNA を合成し、PCR 後、ダイレクトシーケンス法による *ATRX* 遺伝子解析法を開発した。これにより、ゲノム DNA を用いた従来法に比べ、より安価で、迅速かつ正確な遺伝子変異を同定することが可能となった。一方で、本法では解析できない微小欠失あるいは重複が原因と推定される症例も存在するため、これらに対する解析方法の開発が今後の課題である。

A. 研究目的

X連鎖性 $\alpha$ サラセミア精神遅滞（ATR-X）症候群は男性のみに発症し、重度の精神遅滞、 $\alpha$ サラセミア(HbH病)、特徴的顔貌、外性器異常、骨格異常、独特の姿勢・行動異常を臨床的特徴とする。その責任遺伝子は Xq13 に局在するクロマチンリモデリング蛋白をコードする *ATRX* 遺伝子であり、Gibbons et al. 1995)、X連鎖精神遅滞症候群の一つである。

*ATRX* 遺伝子は 36 エクソン、300kb の genomic DNA からなり、10.5kb の mRNA の転写産物をコードする。機能的に重要な ADD(*ATRX*-DNMT3a/b-DNMT3L)ドメインとクロマチンリモデリングドメインの2つの領域を持ち、患者のほとんどがこの2つの領域に変異を持っている。

従来、ATR-X 症候群が疑われる患者に対しての分子遺伝学的な解析は、患者血液から抽出したゲノム DNA を用いて、ADDドメイン $\rightarrow$ クロマチンリモデリングドメイン $\rightarrow$ その他の領域の順に、イントロン-エクソン境界領域を含む全エクソンを 39 組の PCR 法で増幅し、ダイレクトシーケンス法により解析していた。あるいは、患者血液から白血球を分離し、EBV を用いた株化細胞樹立の後、RNA を抽出し cDNA を合成し、PCR 法、及びダイレクトシーケンス法により遺伝子変異を解析した。

前者の方法では、PCR ペアが多いため、費用がかさむうえ、スプライシング変異の検出を見逃す可能性がある。一方、後者の方法は、プライマー数が少なく済むが、細胞株樹立に時間がかかり、時に、樹立が上手くいかない場合も多い。

そこで、本研究では、より安価に、かつ迅速な遺伝子変異解析法を開発を目的とした。

B. 研究方法

1. 末梢血液からの RNA の抽出（約 1 時間）

患者末梢血液 5ml(EDTA 採血管)のうち、3ml をゲノム DNA の抽出、2ml を total RNA 抽出に用いる。ゲノム DNA の抽出は従来法による。全血 2ml から 2~10  $\mu$ g の total RNA を抽出。RNA の抽出は、Isogen (WAKO 社) を用いた。

2. RNA から cDNA の合成（約 0.5 時間）

PrimeScript<sup>®</sup> RT reagent Kit (Perfect Real Time) (Takara 社) を用いて、抽出した total RNA 2  $\mu$ g を用いて、cDNA を合成した。

(反応スケール : 20 $\mu$ l)	
total RNA (2 $\mu$ g 相当)	1 $\mu$ l
5 $\times$ Prime script Buffer	4 $\mu$ l
Oligo dT	1 $\mu$ l
Prime script RT-Enzyme Mix	1 $\mu$ l
RNaseDNase Free dH2O	1 $\mu$ l
<b>Total</b>	<b>20 <math>\mu</math>l</b>

37°C 15min  $\rightarrow$  85°C 5sec  $\rightarrow$  4°C

反応液 20  $\mu$ l 中

$\Rightarrow$  10  $\mu$ l + RNaseDNase Free dH2O 30  $\mu$ l = 40

$\mu$ l を RT-PCR に使用

$\Rightarrow$  残り 10  $\mu$ l 保存、

### 3. RT-PCR (約 3 時間)

ATRX 遺伝子の全コーディング領域をカバーするプライマーペア 12 組を独自に設計。PCR 産物は、600~1009 塩基対の長さを持つ。

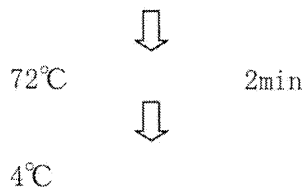
PCR 反応液

cDNA	1.0
$\mu$ l	
10 $\times$ Ex Buffer (Takara)	3.0
$\mu$ l	
Primer forward (10pmol/ $\mu$ l)	2.0
$\mu$ l	
Primer reverse (10pmol/ $\mu$ l)	2.0
$\mu$ l	
2.5mM dNTP mix	3.0
$\mu$ l	
Ex Taq (Takara)	0.2 $\mu$ l
滅菌ミリ Q 水	18.8 $\mu$ l
<b>Total</b>	<b>30.0 <math>\mu</math>l</b>

反応設定

94°C	2min	
↓		
94°C	15sec	} 30~40cycle
60°C	30sec	
72°C	30sec (500b)	

60sec (1kb)



(図) 12 個の RT-PCR 産物 3  $\mu$ l のゲル電気泳動



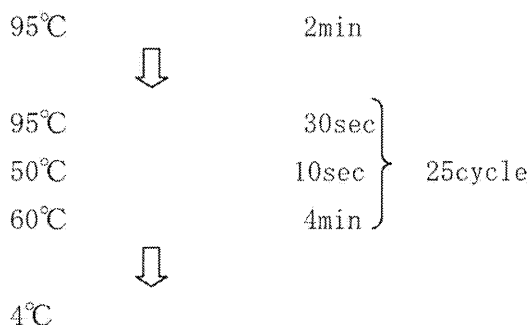
RT-PCR 産物を電気泳動により確認後、カラム精製し、シーケンス反応に使用。

### 4. シーケンス

Big Dye®	4 $\mu$ l
Buffer	2 $\mu$ l
Primer (3.2pmol/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l
PCR product <sup>注2)</sup>	1 $\mu$ l
dH2O	1 $\mu$ l
<b>Total</b>	<b>20 <math>\mu</math>l</b>

PCR product <sup>注2)</sup>	使用量
100~200bp	1~3ng
200~500bp	3~10ng
500~1000bp	5~20ng
1000~2000bp	10~40ng
>2000bp	20~50ng

反応設定



スピンカラムで精製し、乾燥後、Hi Di Formamide に溶かし専用チューブに入れ、シー

クエンスの装置にセット。

5. シークエンスデータの解析
6. cDNA 解析で見つかった異常をゲノム DNA で確認する。

### C. 対象

臨床的に ATR-X 症候群が疑われ確定診断として、あるいは精神遅滞の鑑別診断として *ATRX* 遺伝子変異の解析を希望され、全国よりご紹介された新規の患者 15 症例に対して、*ATRX* 遺伝子変異の解析を行った。

### D. 結果

15 症例中 10 症例 (67%) で *ATRX* 遺伝子変異を検出した。内訳は以下の通りである。

#### (a) ミスセンス変異 (5 例)

c. 736 C>T, p. Arg246Cys

c. 832 A>C, p. The278Pro

c. 668 G>T, p. Cys223Phe

c. 6511A>G, p. Met2171Val (2 例)

#### (b) ナンセンス変異 (1 例)

c. 7156C>T, p. Arg2386X

#### (c) スプライシング変異 (1 例)

IVS34+4A>G

#### (d) その他 (意義不明あるいは解析中 ; 3 例)

イントロン 2 の一塩基置換

イントロン 17 一塩基置換 3

3' UTR の一塩基置換

### E.

#### 考察

従来、*ATRX* 遺伝子変異の検索は、その遺伝子サイズが大きく、エクソン数も多いため、解析に数ヶ月以上かかり、また、解析費用も 1 人あたり 5~10 万円かかった。今回、新たに開発した診断法により、解析時間は 1~2 週間と大幅に短縮され、また、解析費用も 5 万円以下に抑

えることが可能となった。また、従来の解析方法を用いたスクリーニング法では確認で出来なかったスプライシング異常も、新たな方法では検出可能であり、解析効率が大幅に向上したと言える。

一方、ATR-X 症候群が疑われる患者で、新しい方法でも遺伝子変異が検出されない症例も存在している。これは、臨床診断が誤っている可能もあるが、臨床的には ATR-X 症候群であるが、原因が *ATRX* 遺伝子変異ではない可能性がある。近年、*ATRX* 遺伝子を含む領域の微細重複が報告されているが、今回開発した新法では、この異常を検出することは出来ない。

今回、臨床的に ATR-X が疑われる症例 15 症例中 10 例 (67%) で *ATRX* 遺伝子変異が同定された。その中でも、従来の解析方法を用いたスクリーニング法では確認で出来なかったスプライシング変異 (IVS34+4 A>G) を迅速に診断できたことは、我々が新しく開発した方法が有用であることを示している。

一方、ATR-X 症候群が疑われた患者のうち約 3 割で、遺伝子変異が検出されなかった。その原因は、臨床診断が誤っている可能もあるが、我々の方法では検出できない *ATRX* 遺伝子変異である可能性がある。

今後の課題として、*ATRX* 遺伝子を含む領域の微細欠失あるいは重複を検出できる解析方法を検討していく必要がある。また、*ATRX* 遺伝子の検出されなかった症例に対しては、ゲノムワイドで微細欠失あるいは重複を検出する CGH マイクロアレイ法を用いた検討も必要である。

### E. 結論

患者末梢血液から抽出した RNA を用いた、*ATRX* 遺伝子変異の新しい分子遺伝学的解析方法を開発した。新しい解析法は、従来法と比べ、時間的にも経済的にも格段に効率が向上し、また、診断精度も上昇した。本法により、ATR-X 症候群疑いの 15 症例中 10 例で変異を検出した。本法は、スプライシング異常の検出にも有用であることが示された。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Osaka H, Koizume S, Aoyama H, Iwamoto H, Kimura S, Nagai , Kurosawa K, Yamashita S. Mild phenotype in Pelizaeus-Merzbacher disease caused by a PLP1-specific mutation, *Brain Dev.* 2010 32; 703-707

2. Osaka H, Hamanoue H, Yamamoto R, Nezu A, Sasaki M, Saitsu H, Kurosawa K, Shimbo H, Matsumoto N, Inoue K. Disrupted SOX10 regulation of GJC2 transcription causes Pelizaeus- Merzbacher-Like Disease . *Ann Neurol*, 2010; 68: 250-4.

3. Saitsu 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. STXBP1 mutations in early infantile epileptic encephalopathy with suppression-burst pattern. *Epilepsia*, 51:2397-2405, 2010

Tsuji M, Aida N, Obata T, Tomiyasu M, Furuya N, Kurosawa K, Errami A, Gibson KM, Salomons GS, Jakobs C, Osaka H. A new case of GABA transaminase deficiency facilitated by proton MR spectroscopy. *J Inherit Metab Dis.* 2010;33; 85-90.

5. Tsuyusaki Y, Yoshihashi H, Furuya N, Adachi M, Osaka H, Yamamoto K, Kurosawa K. lp36 deletion syndrome associated with Prader-Willi-like phenotype. *Pediatr Int.* 2010; 52: 547-550

6. Sato I, Onuma A, Goto N, Sakai F, Fujiwara I, Uematsu M, Osaka H, Okahashi S, Nonaka I, Tanaka S, Haginoya K. A case with central and peripheral hypomyelination with hypogonadotropic hypogonadism and hypodontia (4H syndrome) plus cataract. *J Neurol Sci.* 2011; 300;179-181

7. Tsuji M, Takagi A, Sameshima K, Iai M, Yamashita S, Shinbo H, Furuya N, Kurosawa K, Osaka H. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase deficiency with progressive polyneuropathy in an infant. *Brain Dev.* 2010 [Epub]

8. Natsuga K, Nishie W, Shinkuma S, Arita K, Nakamura H, Ohyama M, Osaka H, Kambara T, Hirako Y, Shimizu H. Plectin deficiency leads to both muscular dystrophy and pyloric atresia in epidermolysis bullosa simplex. *Hum Mutat.* 2010; 31; E1687-98.

9. Muto A, Oguni H, Takahashi Y, Shirasaka Y, Sawaishi Y, Yano T, Hoshida T, Osaka H, Nakasu S, Akasaka N, Sugai K, Miyamoto A, Takahashi S, Suzuki M, Ohmori I, Nabatame S, Osawa M. Nationwide survey (incidence, clinical course, prognosis) of Rasmussen's Encephalitis. *Brain Dev.* 2010;32:445-53

10. Saitsu H, Tohyama J, Kumada T, Egawa K, Hamada K, Okada I, Mizuguchi T, Osaka H, Miyata R, Furukawa T, Haginoya K, Hoshino H, Goto T, Hachiya Y, Yamagata T, Saitoh S, Nagai T, Nishiyama K, Nishimura A, Miyake N, Komada M, Hayashi K, Hirai S, Ogata K, Kato M, Fukuda A, Matsumoto N. Dominant-negative mutations in alpha-II spectrin cause West syndrome with severe cerebral hypomyelination, spastic quadriplegia, and developmental delay. *Am J Hum Genet.* 2010;86:881-91.

### B. 学会発表

1. 辻 恵、三谷忠宏、渡辺好宏、鮫島希代子、和田敬仁、井合瑞江、山下純正、小坂仁、急性脳症を呈した重症乳児ミオクロニーてんかんの1例、第65回神奈川てんかん懇話会 2010. 1. 16 横浜

2. 辻 恵、渡辺好宏、鮫島希代子、和田敬仁、井合瑞江、山下純正、小坂仁、大脳白質変性を伴う交通性水頭症に末梢神経障害・呼吸不全を合併した乳児例第15回蔵王セミナー 2010. 2. 20-21 山形

3. 渡辺好宏、藤田利治、和田敬仁、小坂

仁、森雅亮、横田俊インフルエンザ罹患に伴うせん妄の Delirium Rating Scale による検討第 113 回日本小児科学会総会 2010. 4. 24 盛岡

4. 露崎悠、高木篤史、渡辺好宏、辻恵、鮫島希代子、和田敬仁、井合瑞江、山下純正、新家敏弘、久原とみ子、相田典子、小坂仁、MRS が診断に有用であった Creatine transporter deficiency (CTD) の一例第 52 回関東小児神経学会 22. 3. 20 東京

5. 秋庭真理子、渡辺好宏、辻恵、和田敬仁、井合瑞江、山下純正、小坂仁、山岡正慶、的場香織、抗NMDA受容体脳炎の1例 第46回神奈川小児神経学会、2010. 7. 10 横浜

6. 山下純正、渡辺好、辻恵、鮫島希代子、和田敬仁、井合瑞江、小坂仁、阿部暁子、早坂清、小児期発症 Charcot-Marie-Tooth 病の臨床病理学のおよび遺伝学的検討第 52 回日本小児神経学会 5 月 20 日～22 日福岡

7. 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ニン代謝異常のスクリーニング法の開発 第 52 回日本小児神経学会 5 月 20 日福岡

8. 辻 恵、渡辺好宏、鮫島希代子、和田敬仁、井合瑞江、山下純正、小坂仁、大脳白質変性を伴う交通性水頭症に末梢神経障害・呼吸不全を合併した MTHFR 欠損症の一例, 第 52 回日本小児神経学会 5 月 20 日福岡

9. 渡辺好宏、安西里恵、露崎悠、辻恵、鮫島希代子、和田敬仁、井合瑞江、小坂仁、山下純正、新型インフルエンザによる急性脳症の臨床的検討 第 52 回日本小児神経学会 5 月 20 日福岡

10. 、三谷忠宏、大塚佳満、和田敬仁、辻恵、渡辺好宏、井合瑞江、山下純正、小坂仁、サイクロフォスファミド療法が著効した抗 NMDA 受容体抗体脳炎の 1 例第 53 回関東小児神経学会 22. 9. 11 東京

G. 知的所有権の取得状況

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。

## ATR-X 症候群の消化器系合併症に関する研究

研究分担者 大阪府立母子保健総合医療センター 遺伝診療科 岡本伸彦

### 研究要旨

ATR-X症候群は特徴的顔貌、軽度HbH病、重度運動精神遅滞、外性器低形成などを特徴とするX連鎖性の先天異常症候群である。Weatherallらが $\alpha$ サラセミアをともなう精神遅滞3家系を報告した後、Wilkieら(1990)がX連鎖の遺伝形式をとる1つの症候群として確立した。GibbonsらがATR-X遺伝子の変異が原因であることを明らかにした。遺伝子座位はXq13で、責任遺伝子はZinc finger型DNA結合ドメイン、DNAヘリカーゼドメインを持つ転写調節因子である。わが国でも小児病院を中心として症例報告が行われており、60例以上の症例が知られている。ATR-X症候群では消化器系の合併症が多く、医学的管理の中で重要な問題である。大阪府立母子保健総合医療センターでの経験例をまとめた。

### 主任研究者

神奈川県立こども医療センター神経内科 和田敬仁

### A. 研究目的

$\alpha$ サラセミアX連鎖性精神遅滞症候群（略称ATR-X）は、生後まもなくからの筋緊張低下、特徴的顔貌、軽度の $\alpha$ サラセミア（ヘモグロビンH）による貧血、精神運動発達遅滞、外性器異常などを特徴とする。消化器系の合併症が多いことが特徴のひとつである。ATR-X症候群の消化器系の合併症の内容は多彩である。乳児期から哺乳障害がめだち、チューブ栄養を必要とする例が多い。唾液分泌が多い。胃食道逆流症（GERD）の頻度が高く、誤嚥や誤嚥性肺炎を起こしやすい。嘔吐物を気管につめて窒息した例が報告されている。便秘の例も多い。ATR-X症候群の消化器系合併症の管理は栄養面だけでなく、生命予後にも大きく影響する。経過を長く観察できている自験例8例について消化器系合併症を中心にまとめた。

食道下部の括約筋の緊張低下や胃内での食物の滞留が背景に存在する。胃軸捻転で幽門から十二指腸への流れが留まる場合もある。便秘が続くと腹部が膨満し、嘔吐が悪化する。

表2にはGERDの症状を記載した。Sandifer症候群とはGERDにおいて胃酸が逆流する苦痛を軽減するために頭部を横に傾ける異常姿勢である。ATR-X症候群でも報告がある。

表1 ATR-X症候群の消化器系症状・合併症

---

哺乳障害
唾液分泌過多
嘔吐
胃食道逆流（GER）
誤嚥・誤嚥性肺炎
空気嚥下
腹部膨満
便秘
イレウス 偽性腸閉塞
食道裂孔ヘルニア
巨大結腸
腸回転異常
脱肛

---

表2 GERによる症状

- 1) 消化器症状  
嘔吐、吐血、下血、哺乳不良、反芻運動
- 2) 呼吸器症状  
慢性咳嗽、喘鳴、反復性呼吸器感染  
ALTE (apparent life-threatening events)  
無呼吸
- 3) その他 胸痛・腹痛、貧血、体重増加不良、不機嫌、咽頭痛、Sandifer症候群

## B. 研究方法

大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科でフォロー中の遺伝子診断で確定した ATR-X 症候群で年齢が 2 歳以上の 7 例について検討した。臨床経過については、診療録の記載を整理した。

## C. 研究結果

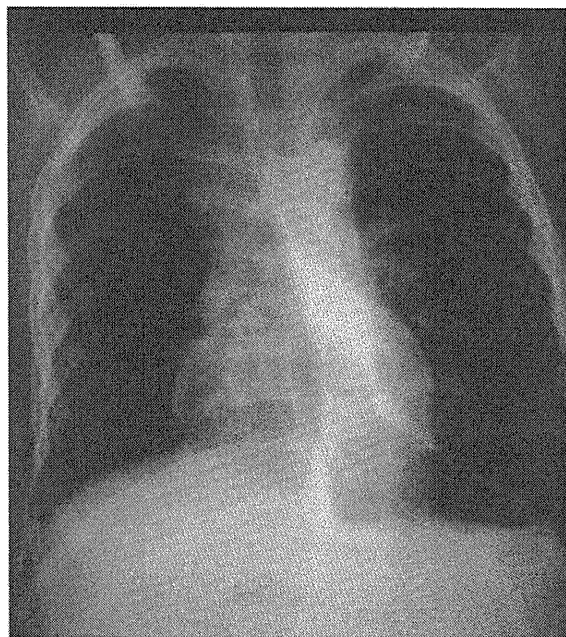
症例の概要は表にしめた。全例 ATRX 遺伝子変異を有し、臨床的には典型的な症例であった。全例が乳児期の哺乳障害、栄養摂取における問題を有していた。

7 例中 4 例が GERD による噴門形成術をうけていた。1 例は GERD はあるが形成術は要しなかった。2 例は胃瘻を作っていたが、その内 1 例は常時の使用ではなかった。

重度精神運動発達遅滞は全員で認めたが、3 例は歩行機能を獲得していた。身体発育障害は 6 例で認めた。年長例ほど身長、体重の SD 値は低値の傾向があった。歩行可能な 3 例は経口栄養摂取も良好であった。

特記すべき合併症として、低気圧時の不機嫌があった。年長の 3 例で確認できた。2 日以上も不機嫌で泣き叫び、食事を全くうけつけなくなる状態が続くこともあった。特に台風のように低気圧の程度が強いほど症状が重かった。太平洋上で台風が発生するころからすでに発症する場合もあり、特有の感受性を有していることが考えられた。この詳細な原因は不明である。

図 1 ATR-X 症候群でみられた滑脱ヘルニア



## D. 考察

Martucciello らは ATR-X 症候群 128 例について消化器系の問題をしらべた。36%で唾液分泌過多がみられた。72%で胃食道逆流症がみられた。便秘が 30%でみられた。10%が噴門形成術をうけ、9%が胃瘻造設術をうけた。10%で上部消化管出血が認められた。3 例が嘔吐物の誤嚥で死亡していた。腸回転異常ないし軸捻転で腸管壊死による死亡例もあった。イレウスないし偽性イレウスで入院を反復する例があった。これ以外にも食事水分摂取も長期間できなくなり、入院を余儀なくされるエピソードが経験されている。

ATR-X 症候群では特に唾液分泌過多、嘔吐、逆流症は多い。自験例でも 7 例中 4 例が GERD で治療を必要とした。慢性便秘も 5 例で認められた。GERD や便秘に対しては症例の状況に応じた検査、治療が必要である。GERD の合併が多いので、上部消化管造影検査、pH モニターなどの検査を適宜実施する。

GERD があれば授乳後の体位の工夫、少量頻回授乳などの指導実施、制酸剤処方などを行う。内科的治療で十分効果がなければ外科的治療を実施する。

7 例中 3 例が低気圧通過時の不機嫌を訴えていた。特に台風発生を敏感に感じる能力があり、2-3 日間も不眠状態が持続することがあった。GERD 治療後も継続しており、正確な原因は不明である。

## E. 結論

ATR-X 症候群を 7 例経験し、消化管合併症を中心にまとめた。唾液分泌亢進、嘔吐、胃食道逆流症、便秘は多い合併症であった。ATR-X 症候群では消化器系合併症の頻度が高く、医学管理上重要な問題である。専門的な対応が必要である。

## 文献

Martucciello G, Lombardi L, Savasta S, Gibbons RJ. Gastrointestinal phenotype of ATR-X syndrome. Martucciello G, Lombardi L, Savasta S, Gibbons RJ. Am J Med Genet A. 2006;140:1172-6.

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

学会発表

別記載

論文発表

別紙参照

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



表3 ATR-X 症候群のまとめ

年齢	発達状況	消化器	他合併症	身体計測 SD 値
16 歳男児 38 週 2838g	座位不可 移動不可 言語なし 自傷行為 手を口に入れる 睡眠障害	GERD 噴門形成術後 胃瘻 便秘 唾液多い 経口摂取を受け つけなくなるこ とある	喉頭軟化症 てんかん 停留精巣  低気圧時機嫌不良	Ht 140cm -4.9SD Wt 31kg -2.7SD Hc 48cm -4.1SD
15 歳男性 40 週 2600g	座位不可 移動不可 言語なし	GERD 噴門形成術後 胃瘻 便秘 唾液多い 空気嚥下症	心房中隔欠損 てんかん 停留精巣  低気圧時機嫌不良	Ht 126cm -4.6SD Wt 20.4kg -3SD Hc 47.2cm -4.5SD
14 歳男児 40 週 2700g	歩行可能 言語なし	GERD 噴門形成術後 経口摂取良好 唾液多い	てんかん  低気圧時機嫌不良	Ht 132cm -4.2SD Wt 27kg -2.5SD Hc 53cm -0.7SD
11 歳男児 38 週 2300g	歩行可能 「イヤ」 など発語	GERD 便秘 経口摂取良好	多動	Ht 115cm -4SD Wt 19kg -2.2SD Hc 47cm -4.1SD
2 歳男児	寝返りまで	一時的に チューブ栄養 便秘	てんかん 性腺機能低下 停留精巣 鼠径ヘルニア	Ht 82.6cm -0.7SD Wt 8.8kg -2.2SD Hc 44cm -2.6SD
3 歳男児	座位不可 寝返りまで	GERD 噴門形成術後	停留精巣 心房中隔欠損	Ht 91cm -1.3SD Wt 11.8kg -1.6SD Hc 43.6cm -3.7SD
5 歳男児	歩行可能	便秘 経口摂取良好	停留精巣 尿道下裂 内反足 熱性けいれん	WNL

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

ATR-X 症候群における喉頭・気管病変に関する研究

研究分担者 黒澤健司 神奈川県立こども医療センター遺伝科 部長

研究要旨

X連鎖 $\alpha$ サラセミア・精神遅滞症候群（X-linked  $\alpha$ -thalassemia/mental retardation syndrome: ATR-X MIM.#301040）は、X連鎖性精神遅滞症候群で、多くの合併症を有し疾患を理解した医療管理が重要とされる。今回我々は、自験4症例の喉頭・気管病変についてまとめた。4例中2例に声門下狭窄を認め、生命予後決定因子としての心奇形、てんかん発作、逆流による窒息・誤嚥、気道感染などと並んで、喉頭・気管軟化症は重要な合併症の一つと考えられた。より多くの症例での情報蓄積は重要で、予後関連因子としてのそれぞれの合併症の重みづけも調査として必要と考えられた。

研究協力者

榎本啓典（神奈川県立こども医療センター）

富永牧子（神奈川県立こども医療センター）

A. 研究目的

X連鎖 $\alpha$ サラセミア・精神遅滞症候群（X-linked  $\alpha$ -thalassemia/mental retardation syndrome: ATR-X MIM.#301040）は、粗な特異顔貌、軽度のHbH病、重度精神遅滞、外性器異常などを特徴とするX連鎖性症候群である。原因遺伝子はXq13にマップされる *ATRX* で、*ATRX* は核内タンパクとして、複合体を作ってDNAメチル化に関わるクロマチンの再構築に関与している。女性保因者ではskewedパターンのために、保因者診断としてBCB染色法を用いる場合は慎重を要する。性腺モザイク例や、非症候群性精神遅滞の*ATRX*変異例の報告もある。臨床的には、多くの合併症を有し、疾患を理解した医療管理が重要とされる。

一般に、先天性多発奇形症候群の多くが遺伝

子異常を原因としており、根本治療は困難である。こうした難治性疾患である奇形症候群の自然歴を明らかにすることは極めて重要である。自然歴を明らかにすることにより、医療サイドの理解が得られ、合併症管理に有用となる。さらに自然歴に関する情報は、将来に対する親の不安を取り除くことを可能とし、結果として長期的予後の改善が期待できるからである。現在まで、世界で100例以上の報告があり、我が国においても数十例以上の症例の存在が確認されている。上述の極めて特徴的な症状を合併するが長期的な予後との関連は依然と不明なことが多い。

今回我々は、自験例4症例の喉頭・気管病変についてまとめた。理由は、比較的合併頻度が高い割に記載が少なく、かつ生命予後を左右する合併症とも考えられるからである。喉頭・気管の問題は、合併症治療としての手術時の呼吸管理へも影響を及ぼす可能性がある。遺伝学的解析結果とともにまとめた。

## B. 研究方法

対象は、臨床症状から診断し、*ATRX* 遺伝子解析により確定した 4 症例で、医療管理記録を参考として臨床経過をまとめた。

### (倫理面への配慮)

解析にあたっては全ての個人情報には潜在化させた。遺伝子解析は十分なインフォームドコンセントの後に文書により同意を得た。また遺伝子解析は施設内倫理審査を経たものである。

## C. 研究結果

### 症例報告

#### 症例 1. 2 歳男児

家族歴：同胞 2 男児の内、1 男児が *ATRX* 遺伝子解析により *ATR-X* と診断確定 (c.4870G>A, p.V1624M) されている。別の同胞 1 男児例は、診断未定のまま 4 歳時に痙攣重積後の脳症により死亡。他に大血管転位症 (TGA) を認め、手術治療 (B-T シェント術) を受けた。新生児期に声門下狭窄を指摘され、気管内挿管呼吸器管理を受けた。現病歴：在胎 36 週 4 日に胎児心音低下を認め、緊急帝王切開で出生。出生体重 2148g、アプガー 5/7 点で、10 日間の呼吸管理を受けた。*ATRX* 遺伝子解析で同胞と同様の変異を検出した。新生児脳症 (皮質下白質軟化症) を認め、日齢 29 に退院。退院後、陥没呼吸が目立ち始め、喉頭・気管軟化による呼吸不全の診断により 6 カ月時に呼吸管理を行った。その後、同様のエピソードおよび声門下狭窄あり、1 歳 2 カ月時に気管切開による管理となった。

#### 症例 2 13 歳男児

在胎 36 週 3 日、出生体重 2712g で仮死なく出生。斜視および発達遅滞精査目的に 1 歳 2 カ月時に受診。3 歳時に全身強直性痙攣をおこし、人工呼吸管理 9 日間施行。以後てんかんにて治療開始となった。強直発作とともに起こるチアノーゼ発作を繰り返し、声門下狭窄を指摘され

た。以後も改善少ないが、現在に至るまで窒息等なく経過。*ATRX* 遺伝子解析で exon18 の 3 塩基欠失を確認した。

#### 症例 3 10 歳男児

在胎 36 週、出生体重 2810g、仮死なく出生。出生後から喉頭軟化を認め、啼泣時チアノーゼあり。4 歳ころまでに改善を見た。*ATRX* 解析で p.S576X を確認した。

#### 症例 4 3 か月男児

在胎 37 週 1 日、子宮内発育遅延目立ち、児心音低下による帝王切開で出生。出生体重 1624g、アプガー 7/8 点。精査目的に 3 カ月時に受診し、*ATRX* 解析で c.736C>T (p.R246C) を検出し、確定した。他に心房中隔欠損症 ASD・尿道下裂を認めた。陥没呼吸は若干認めるものの、経口哺乳は可能となっている。

## D. 考察

4 症例いずれも新生児期あるいは乳児期早期から陥没呼吸などの喉頭・気管軟化の症状を呈していたが、経過によっては自然軽快も期待できた。しかし、気道感染等による呼吸状態悪化に伴う気管内挿管および人工呼吸管理は、明らかに潜在する喉頭・気管軟化を増悪させる方向に働いていた。また、声門下狭窄を 2 例に認めたが、うち 1 例は罹患同胞にも声門下狭窄を認めていた。こうした喉頭・気管軟化は必ずしも *ATR-X* 症候群に特異的ではないが、医療管理においては重要である。その理由の第 1 は、胃食道逆流を特徴とする *ATR-X* 症候群で、逆流とこの喉頭・気管軟化が併存することは窒息の危険性を高めることになるからである。第 2 は手術治療を要する合併症が比較的多い本症候群では術後の抜管時に潜在していた喉頭気管軟化が顕在化して、術後の抜管困難に至る危険性が推測されるからである。今回の 4 症例のうち 1 症例

は実際抜管困難となり、気管切開に至っている。

今後、より多くの症例での情報蓄積は重要で、予後関連因子としてのそれぞれの合併症の重みづけも調査として必要と考えられた。

## E. 結論

ATR-X 症候群における喉頭・気管軟化症および声門下狭窄について自験例を中心にまとめた。生命予後決定因子としての、心奇形、てんかん発作、逆流による窒息・誤嚥、気道感染などに並んで喉頭・気管軟化症は重要な合併症の一つと考えられた。より多くの症例での情報蓄積は重要で、予後関連因子としてのそれぞれの合併症の重みづけも調査として必要と考えられた。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Adachi M, Muroya K, Asakura Y, Kurosawa K, Nishimura G, Narumi S, Hasegawa T. Ruvalcaba syndrome revisited. *Am J Med Genet Part A* 152A:1854-7, 2010.

Tsuyusaki Y, Yoshihashi H, Furuya N, Adachi N, Osaka H, Yamamoto K, Kurosawa K. 1p36 deletion syndrome associated with Prader-Willi-like phenotype. *Pediatr Int* 52:547-550, 2010.

Osaka H, Hamanoue H, Yamamoto R, Nezu A, Ssaki M, Saitu H, Kurosawa K, Shimbo H, Matsumoto N, Inoue K. Disrupted SOX10 regulation of GJB2 transcription causes Pelizaeus-Merzbacher-like disease. *Ann Neurol* 2010;68:250-254.

Komatsuzaki S, Aoki Y, Niihori T, Okamoto N, Hennekam RC, Hopman S, Ohashi H, Mizuno S, Watanabe Y, Kamasaki H,

Kondo I, Moriyama N, Kurosawa K, Kawame H, Okuyama R, Imaizumi M, Rikiishi T, Tsuchiya S, Kure S, Matsubara Y. Mutation analysis of the SHOC2 gene in Noonan-like syndrome and in hematologic malignancies. *J Hum Genet.* 2010 Sep 30. [Epub ahead of print]

Tsuji M, Takagi A, Sameshima K, Iai M, Yamashita S, Shinbo H, Furuya N, Kurosawa K, Osaka H. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase deficiency with progressive polyneuropathy in an infant. *Brain Dev.* 2010 Sep 16. [Epub ahead of print]

Saito Y, Kubota M, Kurosawa K, Ichihashi I, Kaneko Y, Hattori A, Komaki H, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M. Polymicrogyria and infantile spasms in a patient with 1p36 deletion syndrome. *Brain Dev.* 2010 Aug 12. [Epub ahead of print]

黒澤健司 神経線維腫症 1 型における分子細胞遺伝学的スクリーニング *日レ病会誌* 2010;1:35-37.

黒澤健司 細胞遺伝学的診断のアルゴリズム *日本臨牀* 68(Suppl 8):170-176, 2010.

黒澤健司 外表奇形 *小児内科* 42:1123-1125, 2010.

黒澤健司 (訳) 形態異常の記載法—写真と用語の解説 *鼻と人中* *小児内科* 2010;42:1298-1315.

黒澤健司 染色体異常の理解 *臨床遺伝学講義ノート* pp37-49, 千代豪昭監修 オーム社 2010.10.

古谷憲孝 黒澤健司 口唇口蓋裂の遺伝 胎児診断から始まる口唇口蓋裂—集学的治療のアプローチ *小林真司編* *メジカルビュー社* pp32-38. 2010.3