

- Puusepp H, Kall K, Salomons GS, Talvik I, Mannamaa M, Rein R, Jakobs C, Ounap K (2009) The screening of SLC6A8 deficiency among Estonian families with X-linked mental retardation. *J Inher Metab Dis*. doi:10.1007/s10545-008-1063-y
- Rosenberg EH, Almeida LS, Kleefstra T, deGrauw RS, Yntema HG, Bahi N, Moraine C, Ropers HH, Fryns JP, deGrauw TJ, Jakobs C, Salomons GS (2004) High prevalence of SLC6A8 deficiency in X-linked mental retardation. *Am J Hum Genet* 75(1):97–105
- Salomons GS, van Dooren SJ, Verhoeven NM, Cecil KM, Ball WS, Degrauw TJ, Jakobs C (2001) X-linked creatine-transporter gene (SLC6A8) defect: a new creatine-deficiency syndrome. *Am J Hum Genet* 68(6):1497–1500
- Shirokane Y, Nakajima M, Mizusawa K (1991) A new enzymatic assay of urinary guanidinoacetic acid. *Clin Chim Acta* 202(3): 227–236
- Stockler S, Isbrandt D, Hanefeld F, Schmidt B, von Figura K (1996) Guanidinoacetate methyltransferase deficiency: the first inborn error of creatine metabolism in man. *Am J Hum Genet* 58(5): 914–922
- Walker JB (1979) Creatine: biosynthesis, regulation, and function. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 50:177–242
- Wyss M, Kaddurah-Daouk R (2000) Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev* 80(3):1107–1213
- Yasuda M, Sugahara K, Zhang J, Ageta T, Nakayama K, Shuin T, Kodama H (1997) Simultaneous determination of creatinine, creatine, and guanidinoacetic acid in human serum and urine using liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Anal Biochem* 253(2):231–235

ATR-X(X連鎖 α サラセミア・精神遅滞)症候群の 分子遺伝学

—エピジェネティクスの破綻により発症するクロマチン病

Molecular genetics of ATR-X syndrome



和田 敬仁

Takahito Wada

神奈川県立こども医療センター神経内科

◎ ATR-X 症候群は、その責任遺伝子 *ATRX* が X 染色体上に局在する X 連鎖精神遅滞症候群のひとつである。男性に発症し、重度の精神遅滞、HbH 病 (α サラセミア)、外性器異常、骨格異常、行動異常など多彩な症状を特徴とする。ATRX 蛋白は、メチル基転移酵素と共通の ADD ドメインと、クロマチンリモデリングドメインの 2 つの機能的に重要な部位をもち、その構造から SNF2 ファミリーに属するクロマチンリモデリング蛋白と考えられている。ATR-X 症候群は *ATRX* 遺伝子変異による ATRX 蛋白の機能低下がクロマチン構造が破綻を引き起こし、複数の遺伝子発現が異常をきたし発症すると考えられ、エピジェネティクスのメカニズム破綻により発症するクロマチン病と位置づけられる。ATRX 蛋白はヘテロクロマチンの維持とともに、染色体内あるいは染色体間の相互作用を調節し、細胞機能維持に重要な多様な機能を有していると考えられる。



ATR-X 症候群、 α サラセミア、精神遅滞、エピジェネティクス、クロマチンリモデリング

精神遅滞 (mental retardation : MR、近年は intellectual disability : ID が用語として用いられている) は全人口の 1~3% と頻度が高い病態であり、男女比 1.3 : 1 である。MR/ID の原因は遺伝学的要因と環境的要因に分けられ、中等度から重度の MR/ID (IQ < 50) の 50% は遺伝的要因が関与し、軽度の MR/ID (50 < IQ < 70) は環境的要因が大きいと推定されている¹⁾。

X 連鎖精神遅滞 (XLMR) は X 染色体にその責任遺伝子が局在し、おもに男性が罹患するが、X 染色体の不活化の偏り (skewed X-inactivation) により女性も発症する可能性があることに注意が必要である。欧米においては脆弱 X 症候群 (FMR1) が XLMR 男性の約 20% の原因であるが、それ以外に 200 を超えると推定される XLMR の責任遺伝子は男性 MR 患者の 10~12% にかかわっていると見積もられている。全ゲノムの 4% にすぎない X 染色体上に MR/ID の責任遺伝子の 10% が局在

することから、X 染色体は常染色体に比べて知的機能にかかわる遺伝子の密度が約 2 倍程度高いと推測されている²⁾。

臨床的には、精神遅滞以外の臨床的特徴をもつ症候性 XLMR と、精神遅滞が唯一の症状である非特異的 XLMR に分類されるが、*ATRX* 遺伝子を含む複数の遺伝子が症候性 XLMR および非特異的 XLMR の責任遺伝子となっている。

XLMR の責任遺伝子はそのコードする蛋白の機能により、転写調節 (22%)、シグナル伝達 (19%)、細胞膜構成物 (15%)、代謝 (15%) などに分類される³⁾。精神遅滞の責任遺伝子としてエピジェネティクスを含む遺伝子発現調節にかかわる蛋白をコードする遺伝子群は重要な位置を占めている。エピジェネティクスの破綻により発症する疾患は、このメカニズムにより発現を調節されている複数の遺伝子が不適切な発現をするために多彩な症状を呈すると考えられ、とくに厳密な遺伝

子発現調節が要求されると想像される脳機能が影響を受けやすいため精神遅滞を伴いやすいと推定される。ヒトの疾患において生殖細胞系列でのエピジェネティクスの破綻は“精神遅滞”を中心とする多彩な症状を呈する症候群の原因となり、これらはクロマチン病と位置づけられている(「サイドメモ」参照)⁹⁾。

本稿ではクロマチンリモデリング蛋白をコードしている *ATRX* 遺伝子を責任遺伝子とし、エピジェネティクスの破綻がその発症のメカニズムと考えられている、精神遅滞と α サラセミアを特徴とする *ATR-X* 症候群(X-linked α -thalassemia/mental retardation syndrome, MIM# 301040)について概説する。

ATRX-X症候群¹⁾

1. 概念

1981年に、 α サラセミア(ヒトヘモグロビンにおける、 β グロビンに対する α グロビンの低下による量的不均衡)と精神遅滞の合併例(α -thalassemia and mental retardation: ATR)がはじめて報告されて以来、 α グロビン遺伝子が局在する16p13.3を含む領域の欠失を認める隣接遺伝子症候群と考えられる症例(ATR-16)と、欠失を認め

ない症例に区別された。前者は男性、女性とも罹患し、精神遅滞の程度もさまざまであるのに対し、後者は重度の精神遅滞を伴い、特徴的顔貌を呈し、臨床的に一様であり、患者が男性のみであることから、責任遺伝子がX染色体上にあることが予想され、*ATR-X*と名づけられ、1995年にイギリスのGibbonsにより責任遺伝子 *ATRX* が同定された⁵⁾。現在までに世界で、日本人症例70名以上を含む90家系200症例以上が *ATR-X* と診断されている⁶⁻⁹⁾。

2. 臨床像

ATR-X は、その責任遺伝子 *ATRX* をX染色体にもつX連鎖精神遅滞症候群のひとつである。典型的な *ATR-X* の臨床像は、男性の患者、重度の精神遅滞、 α サラセミアの存在、特徴的顔貌、外性器異常、骨格異常、行動異常といった多彩な症状を特徴とする¹⁰⁾。

歩行可能例は少なく、歩行可能例も10代後半で歩行を獲得することが多い。精神遅滞は重度であり、日常生活は全介助を要することがほとんどであり、有意語の言語獲得は難しいが、有意語を獲得した軽症例も報告されている。同程度の精神遅滞を呈する症候群の患者と比べると、*ATR-X* 症候群の患者の多くは視線を合わそうとしない、常同行為を繰り返すといった自閉症的な行動を伴う頻度が高く、*ATRX* 遺伝子の発達障害の責任遺伝子としての可能性を示している。外性器異常は、小精巣や停留精巣の軽症例から女性様外性器異常を呈する症例まで幅広い。

ATR-X の名前が示すとおり α サラセミアの存在は特徴的であるが、HbH封入体をもつ赤血球の割合は患者により1%未満から数十%と幅広く、また、患者の20%では検出されないため、HbH陰性は *ATR-X* 症候群を否定するものではないことに注意が必要である。同じ変異をもつ患者間でも α サラセミアの程度のばらつきは大きく、その原因は不明であったが、最近その新しいメカニズムが明らかにされた(後述)。

3. *ATRX*遺伝子

ATRX 遺伝子はXq13.3に局在し、300 kbに広がり、35エクソンからなる¹¹⁾。*ATRX* 遺伝子は10.5 kbの転写産物をコードしているが、alterna-

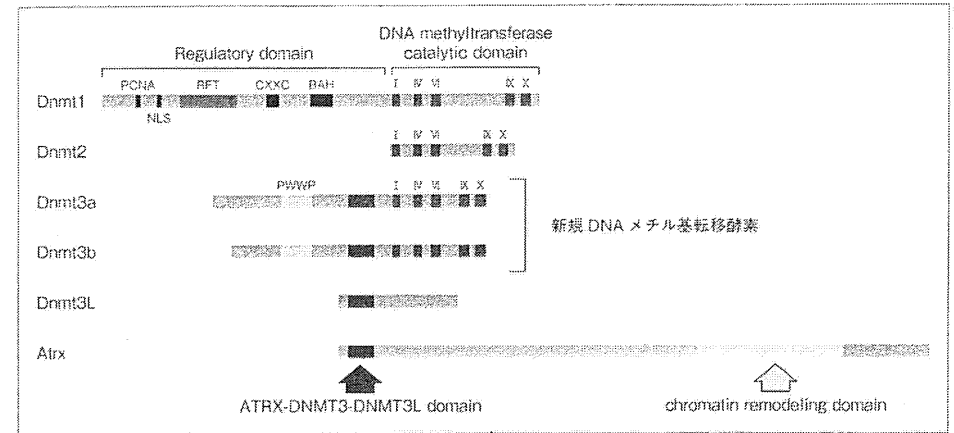


図1 ATRX蛋白と他のDNAメチル基転移酵素の構造
ATRX蛋白はDNAメチル基転移酵素活性をもたない。

tively splicedにより5'端が異なる、すくなくとも2つの蛋白(265 kDa, 280 kDa)が産生される。さらに、イントロン11で終止している約7 kbの転写産物から *ATRX1* とよばれる蛋白が翻訳され、これはマウスとヒトの間で保存されている。

コードされる *ATRX* 蛋白は機能上重要な領域が2つある(図1)。ひとつはN末端のシステインの豊富なADD(*ATRX-DNMT3b-DNMT3L*)ドメインとよばれる領域で、plant homeodomain (PHD)様 zinc fingerと、そのすぐ上流にC₂C₂モチーフからなる。このPHD fingerはクロマチンを介した転写制御にかかわる蛋白に同定され、50~80個のアミノ酸からなるzinc-fingerドメイン(Cys₁-His-Cys₃)をもつ。この部位はDNA結合蛋白に特徴的な構造をもたず、上流のC₂C₂ドメインを介してDNAに結合すると考えられている。この領域はヒトとマウスの間で、アミノ酸98個中1個が異なり、高度に保存されており、機能的にも重要と考えられる。実際、*ATR-X* 患者の60%で、この領域に変異を認めている(図2)。

もうひとつは、中央部の7つのhelicase motifからなる、ヒトとマウスで高度(94%)に保存されている領域であり、*ATR-X* 患者の40%はこの領域に変異をもつ。この構造により *ATRX* 蛋白はクロマチンリモデリング蛋白のSNF2サブファミリーに分類されている。このグループに属する蛋

白は7つの高度に保存されたcolinear helicase motifs構造を特徴とし、転写制御(SNF2, MOT1, brahma)、細胞周期制御(NPS1)、DNA修復(RAD16, RAD54, ERCC6)、細胞分裂時の染色体分離(lodestar)といった、さまざまな細胞機能にかかわる蛋白が属している。*ATRX* 蛋白はこのなかでもとくにRAD54との相同性が高いが、*ATR-X* 患者において臨床的に紫外線感受性や発癌性などを示す報告はなく、*ATRX* 蛋白がDNA修復にかかわっていることを直接示唆するデータはない。ほかに、C末端には他のSNF-2様蛋白にも認める転写制御にかかわる領域(P-box)と、蛋白相互作用にかかわるグルタミンに富む領域(Q-box)をもつ。

4. *ATRX*蛋白とエピジェネティクス

ATRX 蛋白は核蛋白であり、他の蛋白と複合体を形成している。そのひとつがヘテロクロマチン蛋白のHPI1であり、*ATRX* 蛋白のADDドメインの下流で結合し、セントロメア近傍のヘテロクロマチンに共局在している。HPI1はヒストンH3-K9のメチル化酵素SUV39H1を含む多くの核蛋白と相互作用して、遺伝子発現抑制やクロマチン構造にかかわっている¹²⁾。

また、ヒト細胞において大部分の *ATRX* が核スペckル(nuclear speckle)に存在し、転写およびアポトーシスの制御因子であるDaxxを介してPML蛋白(promyelocytic leukemia body)と結合

サイドメモ

クロマチン病

DNAのメチル化、ヒストンテールの修飾(アセチル化、メチル化、リン酸化などによるヒストンコード)、クロマチン構造の変化(クロマチンリモデリング)はエピジェネティクスのメカニズムの中心となり、遺伝子発現促進・抑制にかかわっている。このメカニズムにかかわる遺伝子の生殖細胞系列における変異は精神遅滞を主症状とする症候群を発症し、クロマチン病とよばれる。遺伝子発現抑制を4つのステップに分けると疾患を理解しやすい。①DNAメチル化(ICF症候群)、②メチル化DNAの認識(Rett症候群)、③ヒストン修飾やクロマチンリモデリング(Rubinstein-Taybi症候群、Sotos症候群、Coffin-Lowry症候群、Kabuki make-up症候群、*ATR-X*症候群、CHARGE症候群、Cockayne症候群)、④遺伝子不活化パターンの確立(Angelman症候群、Prader-Willi症候群)。

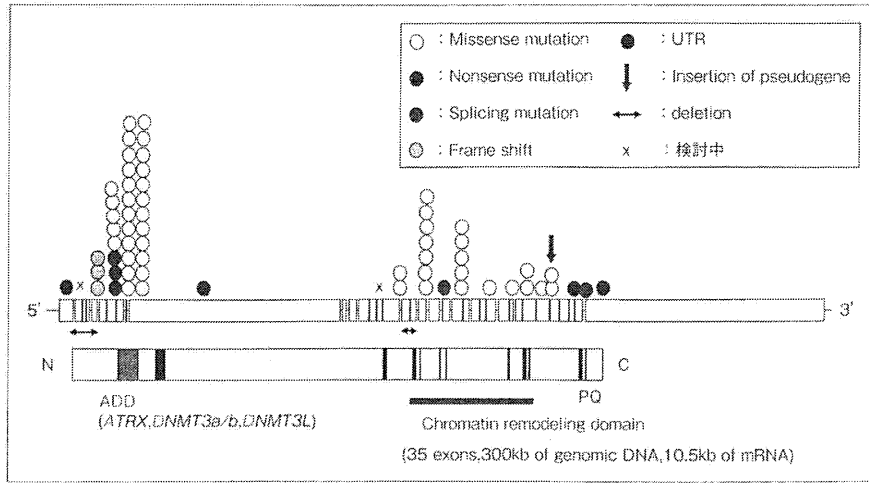


図2 日本人のATR-X症例67人に検出されたATR-X遺伝子変異。機能的に重要な2つのドメインに変異が集中している。

する¹³⁾。この分布は細胞周期における ATRX 蛋白のリン酸化状態に依存し、細胞分裂間期では核マトリックスに、細胞分裂中期ではセントロメアに関連する可能性が報告された¹⁴⁾。また、ヒト細胞の細胞分裂中期において、ATR-X 抗体が端部着糸型染色体 (acrocentric chromosomes: 13, 14, 15, 21, 22 染色体) の短腕に局在し、核オーガナイザー領域 (nucleolar organizer regions) で rDNA に結合すると考えられる転写因子 (upstream binding factor) と共在することが示された¹⁵⁾。

Gibbons ら¹⁵⁾による、ATR-X 遺伝子に変異をもつ ATR-X 患者の血液から抽出した DNA の解析により、DNA メチル化異常を示していることが示された。ひとつは rDNA 遺伝子の CpG rich な領域であり、正常では 20% 程度のメチル化を認めるが、ATR-X 患者では低メチル化状態であることが示された。また、Y 染色体特異的のリピートである DYZ2 では健康人で約 6% が非メチル化されているのに対して、ATR-X 患者ではほとんどメチル化している。サブテロメア領域のリピートである TelBam3A でもメチル化の違いを認めている。

ATR-X 蛋白は DNA メチル基転移酵素活性部位をもたないが、新規 DNA メチル基転移酵素であ

る DNMT3 ファミリーと共通の ADD ドメインをもつことから、ATR-X がヒストン脱アセチル化酵素と結合、あるいはシークエンス特異的な DNA 結合蛋白を介して、DNA メチル化装置を導入する可能性がある¹⁶⁾。

最近、2つのグループから、ATR-X 蛋白が H3K9me3 を認識する heterochromatin protein-1 (HP1) との結合とともに、その ADD ドメインを介してヒストン H3 の N 末端テールの非修飾 Lys4 (H3kme0) と、ジメチルあるいはトリメチル化された Lys9 (H3K9me2 or H3K9me3) を、従来の芳香族アミノ酸残基によるかご型の認識部位とは異なる認識ポケットにより同時に認識し結合することが示された^{17,18)} (図3)。この ATR-X 蛋白、HP1 のクロマチンへの導入により、三者の相互作用が隣接するヌクレオソームへ広がり、ヒストンコードが読み込まれる過程を明らかにした。ATR-X はヒストン異性体 (histone variant) のひとつである H3.3 に特異的なヒストン・シャペロンである Daxx と結合するが、H3.3 と結合した Daxx がどのようにヘテロクロマチンに ATR-X 蛋白を介して取り込まれるのかは不明であったが、この研究はこれを解明する可能性がある。ATR-X 蛋白の ADD ドメインのヒストンコード認識装置とし

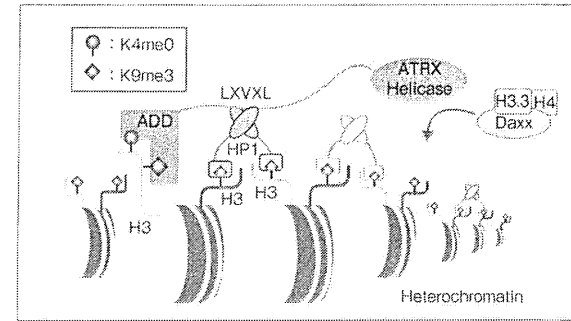


図3 ヘテロクロマチンにおける ATRX 蛋白、HP1 関係¹⁷⁾。ATR-X 蛋白の ADD ドメインによる H3K4me0 と H3K9me3 の認識と、H3K9me3 に結合した HP1 ダイマーによるヘテロクロマチンへの ATR-X 蛋白の導入を示している。ATR-X 蛋白は、Daxx-H3.3 のヘテロクロマチンへの導入にもかかわっている。

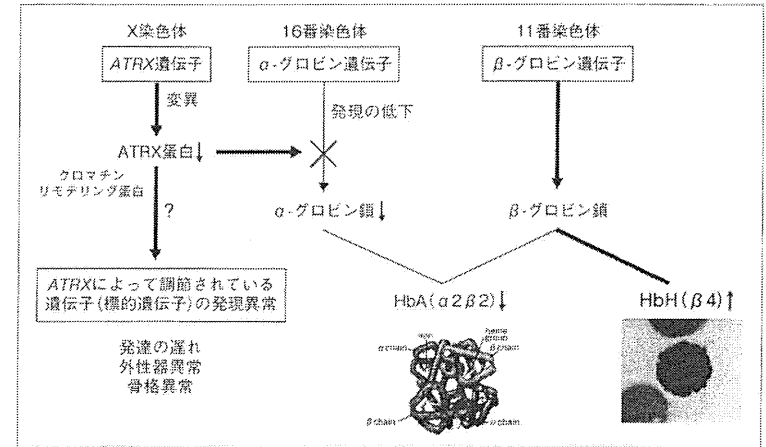


図4 ATR-X 症候群における病態の模式図。右下に、末梢血液の Brilliant Cresyl blue 染色によりゴルフボール様に染色された HbH 封入体をもつ赤血球を示す。

での役割が明らかにされたとともに、ヒストンコードが複数のエフェクターとクロマチンの相互作用により解釈されるメカニズムが示された。また、ATR-X 患者に認める ADD ドメインの変異により、ATR-X のヘテロクロマチンへの誘導が制限されることにより発症することが明らかにされた。

5. ATR-X 遺伝子変異と病態 (図4)

現在までに同定された変異はほとんどがミスセ

ンス変異であり、機能的に重要な2つの領域、ADD ドメインと helicase ドメインに集中している⁹⁾。その機能喪失が病態にかかわり、その完全機能喪失は致死的と考えられている。現在のところ、遺伝子変異型と表現型の明らかな相関は認められていないが、唯一、C 末端の欠失をもつ症例で重症の外性器異常を呈しており、この領域が泌尿器外性器の発達に特異的な役割を果たしている可能性を示し、ATR-X が性分化にかかわる遺伝子と

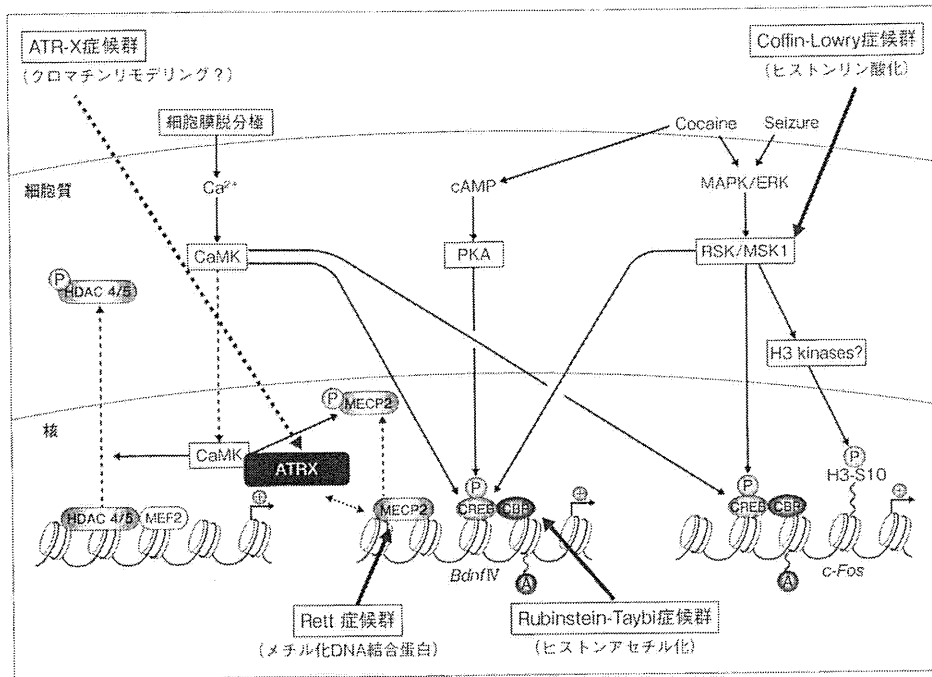


図5 細胞内情報伝達カスケードを介したクロマチン構造の制御²⁰⁾

Rett症候群はメチル化したCpGに結合する蛋白MECP2をコードするMECP2遺伝子、Rubinstein-Taybi症候群はヒストン蛋白のアセチル化にかかわる蛋白CBPをコードするCBP遺伝子、Coffin-Lowry症候群はヒストン蛋白のリノ化にかかわるRSK2遺伝子を責任遺伝子とする(「サイドメモ」参照)。

CREB(cAMP-response element binding protein)、CBP(CREB binding protein)、PKA(protein kinase A)、CaMKs(calcium/calmodulin-activated protein kinases)、RSK(ribosomal S6 kinase)、MSK1(mitogen- and stress-activated protein kinase)はそれぞれ、cAMP(cyclic AMP)、calcium-およびmitogen-activated protein/extracellular signal-regulated protein kinase(MAPK/ERK)にかかわる細胞内情報伝達カスケードにより活性化され、転写因子CREBをリン酸化する。これがヒストンアセチル基転移酵素活性をもつCBPと結合する。これにより近傍のヒストンがアセチル化され、遺伝子転写活性(たとえばc-Fos、Bdnf)を促進する。

しても注目される。

ATR-X症候群はその多彩な症状からクロマチンリモデリングを介した複数の遺伝子の発現調節異常が病態として想定されているが、実際のところATR-X蛋白はクロマチンリモデリング活性がきわめて弱いことが示されており、遺伝子発現調節のメカニズムは不明な点が多い。

また、精神遅滞にかかわる標的遺伝子も不明であるが、最近、Rett症候群の責任遺伝子MECP2がコードしているMECP2がATR-Xと結合し、その破綻が精神遅滞発症と関連する可能性が報告された¹⁹⁾。エピジェネティクスの破綻による精神遅

滞症候群が共通の症状をもつことから、神経細胞におけるシナプス活性による遺伝子発現の促進・抑制に影響を与えるクロマチンリモデリングと細胞内シグナル伝達系との関連には共通経路のあることが想定されている(図5)²⁰⁾。

6. ATR-Xモデルマウスを用いた解析

Kitajimaらが軽症ATR-X症候群として発症した患者のエクソン2の変異(c. C109T;p. R37X)に着目し、エクソン2を欠失させたマウスを作成し、ATR-X蛋白の脳機能障害におけるメカニズムを解析した。このマウスではcontextual fear memory(文脈恐怖条件付き記憶)が損なわれ、海

馬のCA1領域で高頻度刺激による誘発される長期増強(long term potentiation:LTP)が有意に減少していることが示された。これは、ATR-X蛋白の機能低下による、海馬におけるカルシウム-カルモデュリン依存性リン酸化酵素(α CaMK II)の自己リン酸化とイオンチャネル型グルタミン酸受容体のひとつであるAMPA(GluR1)のリン酸化の減少が原因であることが示された²¹⁾。また、同じモデルマウスの解析により内側前頭前皮質の樹状突起棘(dendritic spine)の形態異常と、同部位におけるCaMK II活性の異常上昇を示し、ヒトの精神遅滞におけるRac1-GEF/PAK情報伝達系の異常と樹状突起棘の形態異常の関与が示唆された²²⁾。この酵素活性を調節する薬剤の治療法としての可能性が期待される。

7. 新しいメカニズム

前述したとおり、ATR-X遺伝子変異が同じ患者どうしでも α サラセミアの程度に大きく幅があることが知られていたが、その原因は不明であった。最近、Gibbonsらにより、同じ遺伝子変異のもとでの浸透率の差異を説明しうる新しいメカニズムが報告された(図6)²³⁾。ChIPシークエンスによりATR-X蛋白のターゲットとして同定された、グロビン遺伝子の発現しているprimary human erythroid cellの917遺伝子、およびmouse embryonic stem cellのL305遺伝子の解析により、ユークロマチンにおけるATR-X蛋白のターゲットは、G/C-richでCpGジヌクレオチドの含有率が高いVNTR(variable number tandem repeat)を含むシークエンスであることが示された。すなわち、正常のATR-X蛋白はテロメアやユークロマチンの繰返し配列(tandem repeat:TR)に結合するが、異常ATR-X蛋白は結合することができなくなり、このTRに関連する遺伝子群がそのTRの長さ依存して発現異常をきたすというものである。このTRはグアニンに富んでおり(G-rich)、*in vivo*でG-quadruplexを含むnon-B DNA structureとよばれる特別な構造(G4 structure)をとることが示された。ATR-X蛋白はテロメアやG-rich TRにおけるこのG4 structureを認識し、その構造を変換することにより下流の遺伝子発現を調節しているが、異常ATR-X蛋白はこれを認

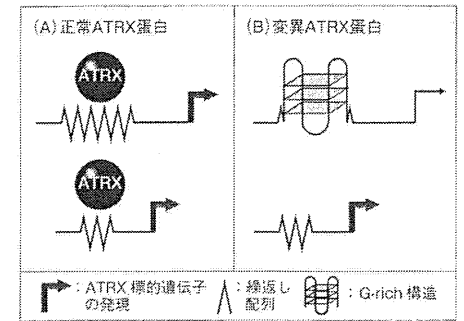


図6 ATRX蛋白のtandem repeatへの結合による遺伝子発現の制御²³⁾

正常ではATR-X蛋白は繰返し配列に結合し遺伝子発現をonにしているが(A)、変異ATR-X蛋白では繰返し配列に結合できないため、G-quadruplexという構造をとり、繰返し配列の長さ依存性に遺伝子発現が抑制される(B)。

識できないため、下流の遺伝子発現がTRが伸張するほど強く影響を受けている可能性がある。これはATR-X遺伝子変異によって影響を受ける α グロビン遺伝子を含む領域のゲノム構造がCpG islandやG-rich TRの含有率が高いGC-richサブテロメアに存在するのに対し、このようなゲノム構造をもたない β グロビンが影響を受けないことと関連しているかもしれない。さらに興味深いことに、ATR-X蛋白が結合するTRにもっとも近い遺伝子の発現はATR-X蛋白が存在しない場合にもっとも強く阻害されるが、その下流10 kbに位置する遺伝子の発現も影響を受けていた。ATR-Xは核内における細胞周期、DNA転写、DNA修復、DNA組換え、DNA複製などさまざまな現象にかかわっている可能性がでてきた。

おわりに

クロマチンリモデリング蛋白ATR-XをコードするATR-X遺伝子を責任遺伝子とするATR-X症候群は、1990年に疾患が発見され、1995年に責任遺伝子が同定された。ATR-X蛋白の機能についてほとんど不明であったが、2010年にATR-X蛋白とG4 structureとの関連が明らかになった。ATR-X蛋白が以前想像されていたよりも、より基本的かつ多様な細胞機能にかかわっている可能

性が出てきた。本稿によりひとりでも多くの研究者の皆さんがこの疾患に興味をもっていただき、病態解明への糸口となれば幸いである。

文献

- 1) 和田敬仁：神経研究の進歩，50：793-808，2006.
- 2) Chiurazzi, P. et al.: *Eur. J. Hum. Genet.*, 16：422-434, 2008.
- 3) Higgs, D. R. et al.: *Ann. Rev. Genomics Hum. Genet.*, 8：299-325, 2007.
- 4) Gibbons, R. J. and Wada, T.: *Inborn Errors of Development*(ed. by Epstein, C. J. et al.). Oxford Univ. Press, New York, 2008, pp.943-954.
- 5) Gibbons, R. J. et al.: *Cell*, 80：837-845, 1995.
- 6) Gibbons, R. J. et al.: *Hum. Mutat.*, 29：796-802, 2008.
- 7) Wada, T. et al.: *Am. J. Med. Genet.*, 94：242-248, 2000.
- 8) 和田敬仁・他：脳と発達，30：283-289，1998.
- 9) Wada, T. et al.: *Am. J. Med. Genet. A*, 138：18-20, 2005.
- 10) Wada, T. and Gibbons, R. J.: *Genetics and Genomics of Neurobehavioral Disorders*(ed. by Fisch, G. S.). Humana Press, Totowa, 2003, pp.309-334.
- 11) Picketts, D. J. et al.: *Hum. Mol. Genet.*, 5：1899-1907, 1996.
- 12) McDowell, T. L. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96：13983-13988, 1999.
- 13) Xue, Y. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100：10635-10640, 2003.
- 14) Berube, N. G. et al.: *Hum. Mol. Genet.*, 9：539-547, 2000.
- 15) Gibbons, R. J.: *Nat. Genet.*, 17：146-148, 1997.
- 16) Argentaro, A. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104：11939-11944, 2007.
- 17) Eustermann, S. et al.: *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 18：777-782, 2011.
- 18) Iwase, S. et al.: *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 18：769-777, 2011.
- 19) Nan, X. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104：2709-2714, 2007.
- 20) Tsankova, N. et al.: *Nat. Rev. Neurosci.*, 8：355-367, 2007.
- 21) Nagomi, T. et al.: *Hippocampus*, 21：678-687, 2011.
- 22) Shioda, N. et al.: *J. Neurosci.*, 31：346-358, 2011.
- 23) Law, M. J. et al.: *Cell*, 143：367-378, 2010.

* * *

5) X連鎖性遺伝性疾患

和田敬仁

key words

X連鎖, X染色体不活化, 女性保因者, 胚細胞モザイク

I. X連鎖遺伝

X染色体に属する遺伝子数は約1200個であり、その約40%が疾患表現型と関連すると推定されている。正常男性核型は46,XY、正常女性核型は46,XXであり、男性はX染色体を1本もち、女性はX染色体を2本もつ。

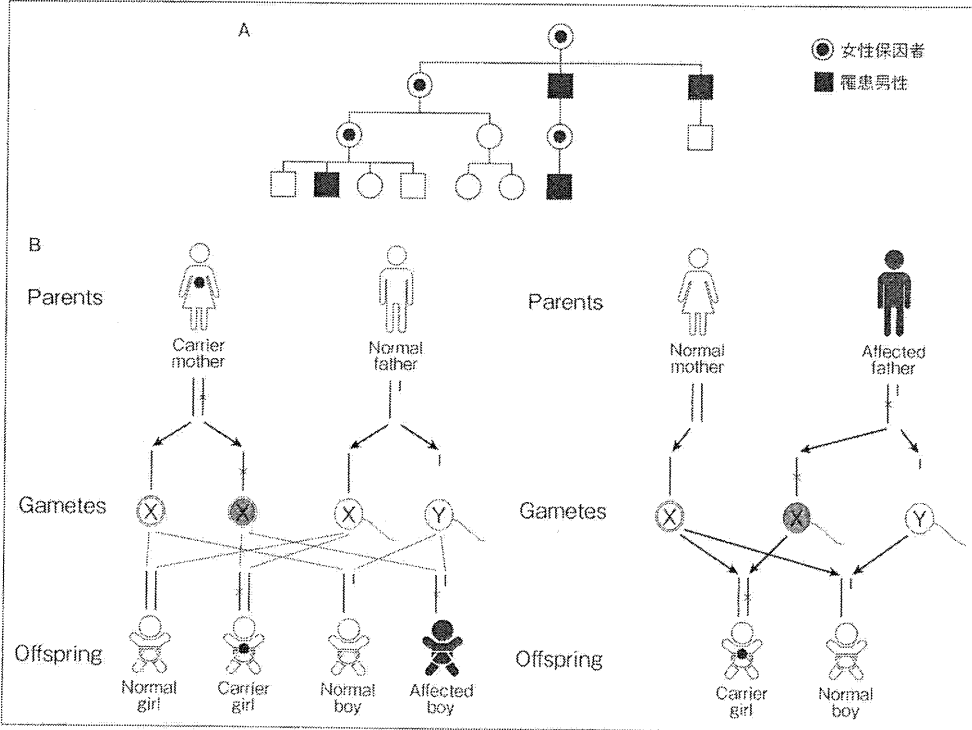
よって男性では、X連鎖の遺伝子座の正常アレル(X_n)、あるいは変異アレル(X_a)のヘミ接合(hemizygous)をとる2つの遺伝子型であり、前者 X_n は非罹患、後者 X_a は罹患の表現型を示す。

女性は、正常アレル(X_n)または変異アレル(X_a)のホモ接合(X_n/X_n , X_a/X_a)、あるいは正常アレル(X_n)と変異アレル(X_a)のヘテロ接合(X_n/X_a)の3つの

遺伝子型をとる。一般に、 X_n/X_n のみが罹患の表現型をとり、 X_n/X_a , X_a/X_a は非罹患の表現型をとる。よって、常染色体劣性遺伝と同様に、X染色体上の遺伝子変異による疾患の多くは、従来よりX連鎖劣性遺伝(XR)と呼ばれ、ヘテロ接合(X_n/X_a)の遺伝子型をもつ非罹患の女性は保因者(carrier)と呼ばれる。一方、 X_a/X_a で発症し、X連鎖優性遺伝(XD)の遺伝形式をとる疾患も少数知られている。

しかし、XRの遺伝形式を呈する疾患でも、X染色体の不活化により症状を呈する女性保因者(manifesting carrier)が存在する。よって、XRとXDの分類は時に困難であり、X連鎖疾患において、劣性・優性の区別をつけるべきでないとする立場もある。

図1 X連鎖劣性遺伝(参考図書1より改変)



II. X染色体の不活化

X染色体を2本もつ女性において、2つの染色体のうちの一方は不活化されており、X染色体不活化(X inactivation: Xi)と呼ばれ、この現象によりX染色体を1本のみもつ男性と遺伝子量が補償されている。Xiは、Xq13.2のX染色体不活化センター(X-chromosome inactivation center: Xic)と呼ばれる領域で制御されている。不活化X染色体で発現し、RNAをコードしているXIST遺伝子と、これを負に制御するTSIX遺伝子が知られている。

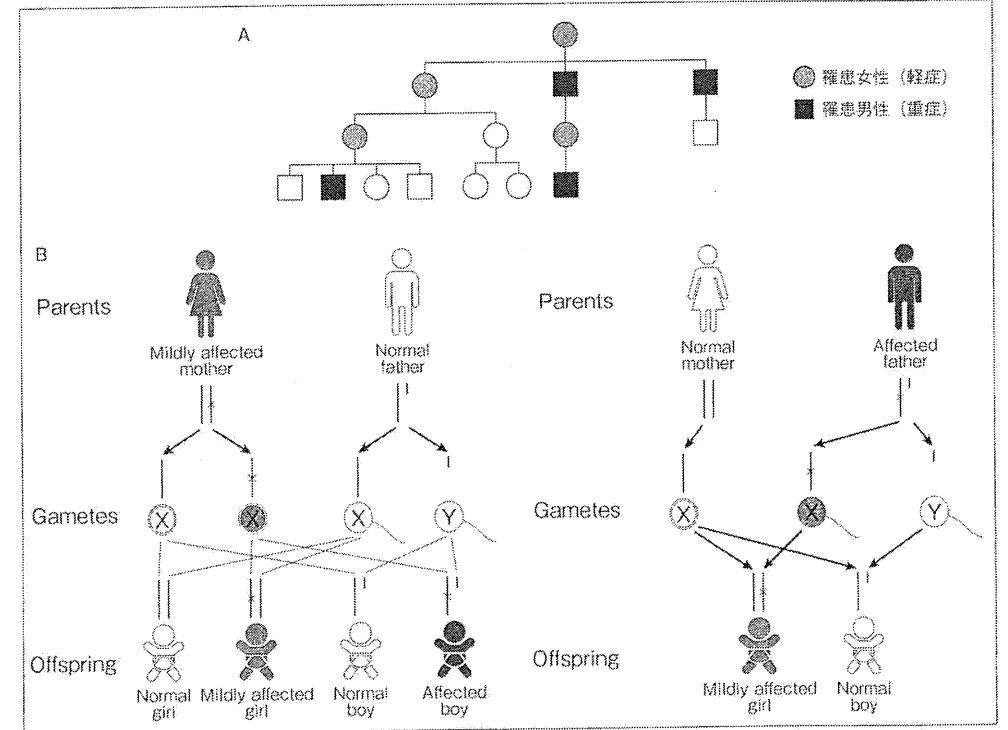
2つのX染色体は、一方は父親由来(Xp)、もう一方は母親由来(Xm)であるが、2つの染色体のうちの一方は不活化されており、どちらが不活化を受けるかは、胚発生段階の胚細胞数が100細胞未満の段階で、細胞ごとに確率的に決定しアトランダムである。もし、XRの女性保因者(X_n/X_a)において、有害アレル(X_a)がXp染色体上にあり、このXpが活性化している細胞の発育・増殖に不利に働く場合、二次的に正常アレル(X_n)の載っているXmが活性化して

いる細胞が数的に優位となる。よって、機能的に正常な細胞が多数を占める組織となり、これが女性保因者は発症しない理由となる。また、XpあるいはXmが偏って不活化を受けている状態を偏り(>80:20)のあるX不活化(skewed X inactivation: skewed Xi)と呼ぶ。skewed Xiは、X染色体と常染色体の転座例でも認められる。

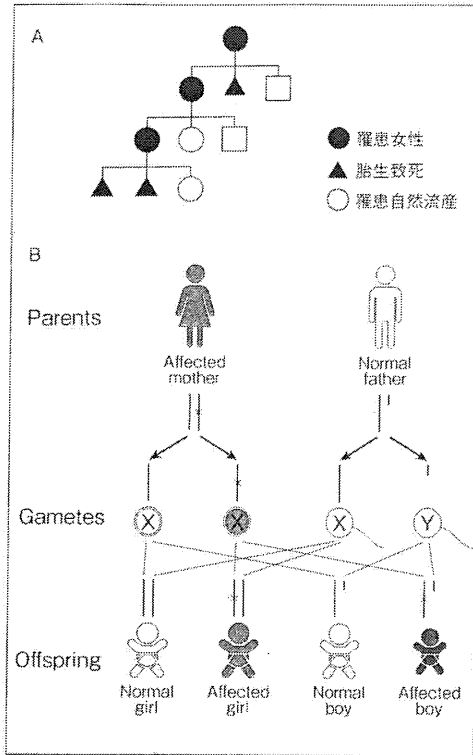
一方、XpとXmの不活化は二項分布に従うため、有害アレル(X_a)が細胞の発育・増殖に不利に働かなくとも、一定の割合で、XpあるいはXmのいずれかが優位になる細胞集団(組織あるいは個体)が出現する。よって、不活化の偏りの程度により、女性保因者の発症する確率(浸透率)あるいは表現度が変わる。Xiが偏っているかどうかを解析することにより、女性が保因者かどうかの診断の手がかりになりうるが、skewed Xiは健康女性の9%でも認め、また加齢とともにその割合が増えるといわれ、確実な方法ではない。

女性保因者も幅広い程度で症状を示す可能性があり、Duchenne型筋ジストロフィ(DMD)、脆弱X症候群、血友病A、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症、

図2 X連鎖 semidominant 遺伝(参考図書1より改変)



図③ X連鎖優性遺伝 (参考図書1より改変)



- ②女性も発症しうるが、重症度はXiバターンにより通常男性よりも軽症である
- ③変異アレルは罹患男性から女兒に100%伝達され、男児には伝達されない
- ④女性保因者から次世代への遺伝は4通り：男児であれば健常；罹患(1:1)、女児であれば健常；健常保因者(1:1)
- ⑤男性から男性への伝播がない
- ⑥分離比0.25(男0.5, 女0)
- ⑦罹患者以外に母方の家系に罹患者がいる場合：母親は絶対保因者(obligate carrier)
- ⑧家系内に罹患者が1人の場合：母親が保因者である可能性は2/3、罹患者の新規突然変異である可能性1/3

【代表的疾患】

Duchenne 型筋ジストロフィ：生年齢に達することが難しい疾患(完全淘汰；ゼロフィットネス)

2. 遺伝カウンセリング上の注意点

- ①母親の血液を用いた遺伝学的検査で患児と同じ遺伝子変異が検出されなかった場合でも、胚細胞モザイク(germline mosaicism)と体細胞モザイク(somatic mosaicism)の可能性がある。特に前者の可能性は無視できず(DMDでは、孤発例の母親の15~20%)、次子の再発危険率を正確に推定することは難しい。よって、血液検査で母親が保因者である可能性が否定されても、胎児が罹患しているかどうかは、羊水検査などを行わなければ正確に診断できないことになる。

- ②母親の血液のCK値が正常の場合でも、保因者を否定することはできない。X不活化の状態により、DMD・BMDの保因者ではそれぞれ~50%、~30%でCKの高値を認める。
- ③X連鎖性疾患において、保因者診断は母親のみが対象となり、「犯人探し」となる可能性があり、十分な配慮が求められる。
- ④女性保因者は軽度に罹患している可能性があり、患児のみならず、母親の健康管理にも配慮する必要がある。
- ⑤XRの疾患において、女性が発症している場合、skewed Xi、ターナー症候群、X-常染色体の転座を考慮する。

3. X-linked semidominant disorder (図②A, B)

男性は重症、女性は軽症か無症状だが、ヘテロである女性が一定の割合で発症する。

【代表的疾患】

Coffin-Lowry syndrome, X-linked hereditary motor and sensory neuropathy (X-HMSN)

IV. X連鎖優性遺伝(XD)(図③A, B)

1. 特徴

- ①男女とも発症しうるが、ヘテロ接合体女性に比べ、ヘミ接合体男性はより重症(時に胎内死亡)である
- ②男-男伝達(male-to-male transmission)はない
- ③罹患男性のすべての娘は罹患し、すべての息子は罹患しない
- ④罹患女性では娘、息子とも罹患する確率は50%である

【代表的疾患】

低リン血症を伴うビタミンD抵抗性くる病、Rett症候群(MECP2)、色素性失調症(NEMO)、口頬指症候群(CXORF5)、otopalatodigital syndrome (FMNA)

2. 遺伝カウンセリング上の注意点(XRを参照)

- ①男性としてはXDの症状として軽症である場合、Klinefelter症候群を考慮する。
- ②女性としてはXDの症状として重症である場合、skewed Xi、ターナー症候群、X-常染色体の転座を考慮する。

3. 脆弱X症候群(fragile X症候群:FRX)

FRXはFMR1遺伝子のエクソン1の5'非翻訳領域のCGG伸長による、FMRPタンパクの機能喪失で、小児期に発症する疾患である。200以上の繰り返しをもつfull mutationでは男性は100%、女性では50%で

発症するが、女性は男性に比べ軽症である。変異アレルの女性→男性では世代とともに繰り返し配列が伸長するanticipationが知られている。また、200以下のpremutationでも、FMRPタンパクの機能獲得により、成人期にFXTAS(Fragile X associated tremor/ataxia syndrome)あるいは早期卵巣機能不全(premature ovarian failure)を発症しうる。

V. Y連鎖性遺伝

1. 特徴

- ①男性のみに発症
- ②男性患者は、罹患した父親をもつ
- ③患者の息子はすべて罹患者
- ④疾患は知られていない(正常女性はY染色体をもっていないことから、Y染色体上の遺伝子は必須ではない機能をコードしている、あるいは男性特異的な機能に関係していると考えられる)

◆参考図書◆

- 1) Pirth HV, Hurst JA : Oxford Desk Reference Clinical Genetics, Oxford University Press, 2005.
- 2) Nussbaum RL, McInnes RR, et al : Thompson & Thompson Genetics in Medicine 7th ed. Saunders Elsevier, 2007.
- 3) Harper PS : Practical Genetic Counselling 5th ed. Arnold, 1998.

Wiskott-Aldrich症候群などが知られている。DMDでのCKや、血友病Aでの第VIII因子活性の測定による保因者診断に際しては、その解釈に十分な注意が必要である。

1. Xiを免れる領域

X染色体上の遺伝子の中の約15%で不活化を免れている領域があり、①X染色体短腕、長腕の端にあり、Y染色体にも相同領域があり、Y染色体と減数分裂時に組換えを起こす領域(偽常染色体領域；pseudoautosomal region : PAR, Xp/Yp; PAR1, Xq/Yq; PAR2)で、男性および女性とも両アレルが発現している(例、SHOX遺伝子)。②PAR外に局在し、Y染色体にも対立遺伝子があるが、組換えは起こらない領域。③Y染色体には相同領域がなく、X染色体のみ遺伝子が存在する領域、の3つに分類される。

III. X連鎖劣性遺伝(XR)(図①A, B)

1. 特徴

- ①ほとんど男性のみが発症する

Ⅲ. 染色体異常, 先天異常-22

X連鎖精神遅滞症候群

Syndromic X-linked mental retardation

和田敬仁*

WADA Takahito

① 基本病因, 発症機序

精神遅滞(mental retardation: MR; 別項(VII-1)参照)の原因は環境要因から遺伝学的要因までさまざまだが, 中等度以下のMR(IQ<50)の50%は遺伝学的要因が原因と考えられ, 一方, 軽度MRでは環境要因がより関与していると考えられている。MRの頻度は, おおむね一般人口の1~3%前後, 男女比は1.3:1であり, 男性で頻度が高い¹⁾。

X染色体上に局在する1,000個以上の遺伝子のうち, 約200遺伝子がMRにかかわると推測されている。全ゲノムの4%を占めるX染色体に, 精神遅滞の責任遺伝子の10%以上がX染色体上で見つかることから, X染色体には知能にかかわる遺伝子の頻度が常染色体に比べて2倍以上高い。このことが, X染色体を2本もっている女性に比べて, 1本しかもたない男性のほうが, X染色体上の遺伝子変異の影響を受けやすく, MRの頻度が高い要因のひとつである。MRの原因の10%はX染色体上に責任遺伝子をもつX連鎖精神遅滞(X-linked mental retardation: XLMR)と考えられ, MR男性の10~12%がX染色体上に責任遺伝子があり, 男性1,000人当たり1.83人が罹患していると推測されている。ただし, 近年, 常染色体に責任遺伝子をもつ精神遅滞の報告が増え, 相対的にX連鎖精神遅滞の頻度は低下している^{2,3)}。

② 基本病態

XLMRは, 臨床的に, MR以外に特徴的な症状を伴わない非特異的XLMR(MRX)と, MR以外に特徴的な身体所見や検査所見を伴う症候群性XLMR(MRXS)に分類される。しかし, MRXSに分類さ

* 神奈川県立こども医療センター神経内科
〒232-8555 横浜市南区六ツ川2-138-4
TEL 045-711-2351 FAX 045-721-3324
E-mail: twada@kcmc.jp

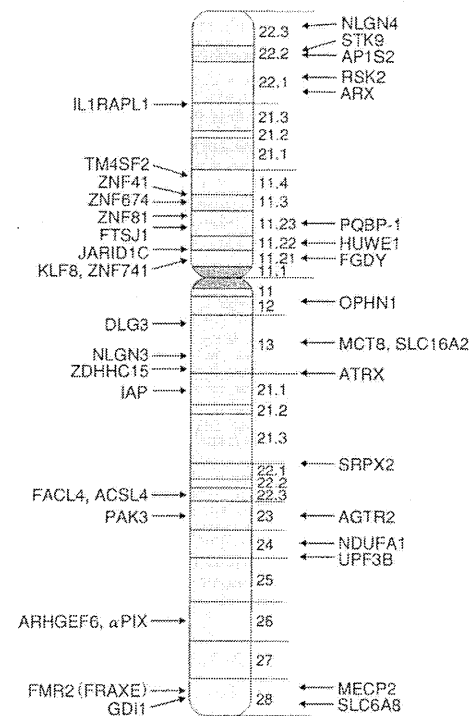


図1 非特異的X連鎖精神遅滞の責任遺伝子
左側にMRXにかかわる17遺伝子, 右側にMRXとMRXSの両方にかかわる17遺伝子を示す。
[XLMR Update (<http://www.ggc.org/xlmr.htm>)より一部
改変]

れる脆弱X症候群のように, 小児期にはMR以外の身体的特徴が明らかでない場合もあり, 両者の分類は時に困難である。ChirazziらはMRXSをさらに, ①脳以外の臓器・組織に奇形などを伴う症候群, ②奇形は伴わないが, 神経・筋症状(てんかん, ジストニア, 癱性, 筋力低下など)を伴う神経筋疾患群, の2つに分類している³⁾。

XLMRの責任遺伝子として70個の遺伝子が同定

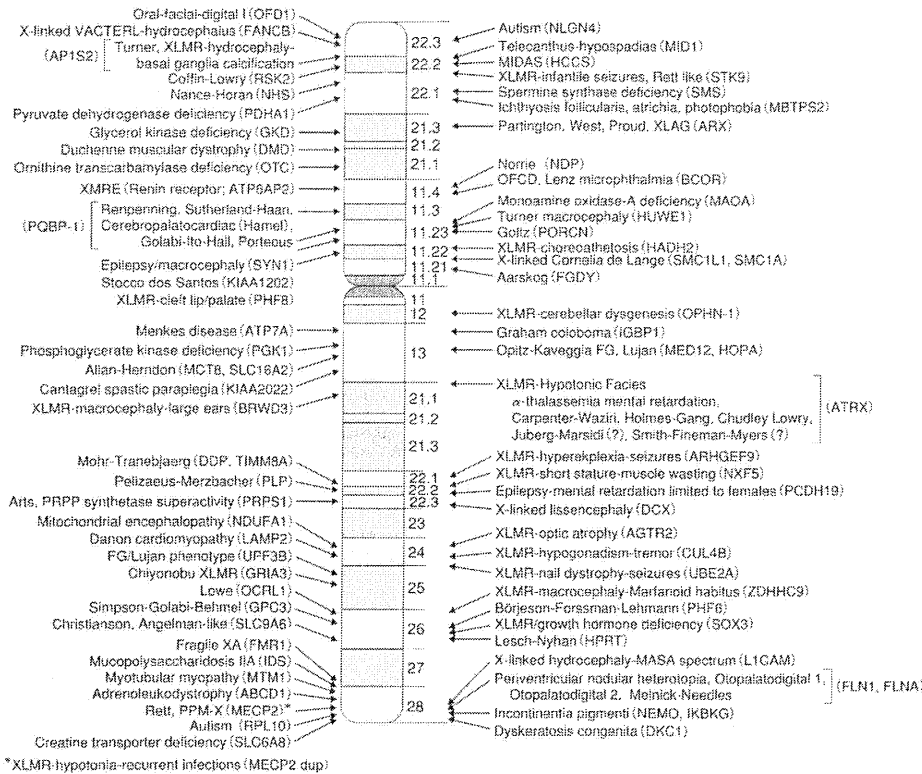


図2 X連鎖精神遅滞症候群と責任遺伝子 (XLMR Update(<http://www.ggc.org/xlmr.htm>)より一部改変)

されている(2009年5月現在;図1, 2, XLMR Update)。MRXの責任遺伝子として34遺伝子が同定されているが、そのうちの17遺伝子は、同時にMRXSの責任遺伝子でもある。また、XLMRは男性に比べ一般的に軽症ではあるが、女性でも発症しうることに注意が必要である。

これらの「知能」にかかわる遺伝子は、そのコードする蛋白の機能により、①情報伝達系にかかわる遺伝子群、②遺伝子の転写制御にかかわる遺伝子群、③代謝にかかわる遺伝子群、④その他、に大きく分けられる。

近年、X染色体の微細な領域の重複による症例の報告も増えている。

③ 病態生理からみた臨床症候

MRXSの数は多く鑑別は容易ではないが、以下の症状の有無が鑑別に有用である。

小頭症(ATTRX, MECP2, PQBP1, SMCX);口唇口蓋裂(PQBP1);先天性心疾患(PQBP1);癱瘓対麻痺(SLC16A2, ATTRX, SMCX, MECP2, SMCX);けいれん(AGTR2, SYN1, ATTRX, SLC6A8, ARX, SMCX);有意語の獲得なし(ATTRX, SLC16A2, SLC6A8);小脳低形成(OPHN1);低身長(PQBP1, SMCX);自閉症様症状(FMR1, MECP2, ATTRX, NLGN3, NLGN4, AGTR2, SLC6A8);ジストニア(ARX, SLC16A2);眼間距離(RSK2);側彎症(RSK2, ATTRX);甲状腺

機能異常症(SLC16A2)⁹⁾。

④ 病態生理からみた診断のための臨床検査

とくに重度精神遅滞を呈する男性症例に関しては、染色体分析(G分染法)、FMR1の遺伝子解析は必須である(ただし、後者の分子遺伝学的検査は保険適用はない)。また、日本国内では研究レベルであるが、CGHマイクロアレイ法を用いた微細な染色体異常の検出も近い将来必須の検査となる。ほかに、尿中クレアチン/クレアチニン比(SLC6A8)、甲状腺機能検査(SLC16A2)、末梢血液のbrilliant cresyl blue染色によるHbH検出(ATRX)は一般の検査室で可能であり、行うべきである。頭部MRIも有用である。

⑤ 各論(注:MECP2遺伝子;Rett障害は別項(VII-5)を参照)

1. FMR1 遺伝子

MRXSの代表的な疾患である脆弱X症候群(fragile X syndrome:FRX)のほかに、脆弱X関連振戦・失調症候群(fragile X tremor/ataxia syndrome:FXTAS)や早発卵巣機能不全(premature ovarian failure:POF)の3疾患の責任遺伝子である。FMR1遺伝子の5'非翻訳領域の(CGG)の3塩基繰り返し配列の伸長によって起こるFRXはXLMRの約20%を占める。FRXの患者では、CGGリピートが200回を超え、プロモーター領域のCpGがメチル化され、遺伝子発現がオフになる機能喪失型変異により発症する。FXTASやPOFの患者ではリピート数は50~200のpremutationであり、少なくともFXTASでは伸長したmRNAが毒性を獲得することによる機能獲得型変異により発症する⁹⁾。

FMRPはRNA結合蛋白であり、核と細胞質間を行き来し、特定のmRNAに結合し、その翻訳を抑制する。FMRPが機能を失うことにより、蛋白合成に依存する神経の可塑性の異常が生じることがMRの原因と考えられている。

2. ARX 遺伝子

ホメオドメイン転写制御因子をコードし、主に胎児期の前脳、膵臓、精巣で発現している。XLMRの責任遺伝子として、FMR1について頻度が高く

(XLMR家系の9.5%)、もっとも重要な遺伝子のひとつである。ARX遺伝子変異と臨床型との関係が詳細に報告されている⁷⁾。ナンセンス変異やフレームシフト変異による機能喪失変異はXLAG(外性器異常を伴うX連鎖性滑脳症)や、水無脳症や脳梁欠損などの脳奇形を呈し、女性は保因者の約半数で脳梁欠損を示す。一方、ポリアラニン配列の伸長変異は機能獲得型変異で、精神遅滞やウエスト症候群などのてんかん、ジストニア型脳性麻痺など非奇形の原因となる⁸⁾。

また、ARXはGABA作動性介在ニューロンの産生・移動・分化に関与し、ARX遺伝子変異により発症する大田原症候群や点頭てんかんに認める高いてんかん原性はGABA活性の低下が原因と考えられ、「GABA系介在神経(interneuron)の異常症(interneuropathy)」の概念が提唱されている^{9,10)}。

3. ATRX 遺伝子

ATRX遺伝子は男性の患者、重度の精神遅滞、αサラセミアの存在、特徴的顔貌、外性器異常、骨格異常、行動異常を特徴とするATR-X症候群(X-linked α-thalassemia/mental retardation syndrome)の責任遺伝子である¹¹⁾。ATR-X症候群はICF症候群(DNMT3B)、Rett症候群(MECP2)、Rubinstein-Taybi症候群(CBP)、Coffin-Lowry症候群(RST2)、Sotos症候群(NSD1)、Rett症候群(MECP2)などととも、エビジェネティクス機構の破綻が疾患の原因と考えられている。ATRXはクロマチンリモデリング因子のSNF2サブファミリーに分類されるヘリカーゼドメインと、ADD(ATRX, DNMT3b, DNMT3L)ドメインとよばれるzinc-fingerドメインが存在し、ATR-X患者のほとんどが、この機能的に重要な2つの領域に変異をもっている。現在までに200例以上が診断され、うち日本国内で約50例が診断されている¹²⁾。ATRX遺伝子は、MRXの責任遺伝子としても報告され、また、X染色体不活化の異常により、女性のMRの責任遺伝子となる可能性も報告された¹³⁾。ATRXはさまざまな蛋白と複合体を形成し、クロマチンリモデリングを介した遺伝子発現制御にかかわっている。その破綻は複数の遺伝子の発現異常をきたし、発症すると考えられている。しかし、ATRXにより発現調節を受けている標的遺伝子のう

ち明らかになっているのは16番染色体短腕に局在するαグロビン遺伝子のみである。マウスの実験により, ATRX 蛋白が神経細胞分化の早期における細胞生存に重要な役割を果たし, ATRX 遺伝子変異による神経細胞損失の増加がヒトにおける精神遅滞の原因となる可能性が示されている。また, 最近 ATRX がレット症候群の責任遺伝子 MECP2 がコードする蛋白と相互作用していることが明らかにされた¹⁴⁾。

<関連 Web site>

- ・ XLMR Update
<http://www.ggc.org/xlmr.htm>
 Greenwood Genetic Center (USA) により運営され, 最新のデータが入手できる。
- ・ GeneReviews
<http://www.geneclinics.org/>
 ワシントン大学 (USA) により運営され, 遺伝疾患の総説が入手できる。

文献

- 1) モイラ・スミス (著), 後藤雄一 (翻訳): 精神遅滞と発達遅れ, 診断と治療社, 東京, 2007
- 2) 和田敏仁: X 染色体連鎖的発達障害の分子遺伝学, 神経研究の進歩 50: 793-808, 2006
- 3) Chiurazzi P, Schwartz CE, Gecz J, et al: XLMR genes: update 2007. *Eur J Hum Genet* 16: 422-34, 2008
- 4) Ropers HH: X-linked mental retardation: many genes for a complex disorder. *Curr Opin Genet Dev* 16: 260-269, 2006
- 5) Raymond FL: X-linked mental retardation: a clinical guide. *J Med Genet* 43: 193-200, 2006

- 6) Garber KB, Gruskin D, Warren ST: FMR1 and the Fragile X Syndrome. In Epstein CJ, Erickson RP, Wynshaw-Boris A (eds): *Inborn Errors of Development*, Oxford University Press, New York, pp1126-1132, 2008
- 7) Kato M, Das S, Petras K, et al: Mutations of ARX are associated with striking pleiotropy and consistent genotype-phenotype correlation. *Hum Mutat* 23: 147-159, 2004
- 8) 加藤光広: 神経細胞移動障害の分子機構. *日小児会誌* 11: 1361-1374, 2007
- 9) Kato M, Saitoh S, Kamei A, et al: A longer poly-alanine expansion mutation in the ARX gene causes early infantile epileptic encephalopathy with suppression-burst pattern (Ohtahara syndrome). *Am J Hum Genet* 81: 361-366, 2007
- 10) Kato M: A new paradigm for West syndrome based on molecular and cell biology. *Epilepsy Res* 70 (Suppl): S87-95, 2006
- 11) Gibbons RJ, Wada T: ATRX and the X-linked α-Thalassemia Mental Retardation Syndrome. In Epstein CJ, Erickson RP, Wynshaw-Boris A (eds): *Inborn Errors of Development*, 2nd ed, Oxford University Press, New York, pp943-964, 2008
- 12) Gibbons RJ, Wada T, Fisher CA, et al: Mutations in the chromatin-associated protein ATRX. *Hum Mutat* 29: 796-802, 2008
- 13) Wada T, Sugie H, Fukushima Y, et al: Non-skewed X-inactivation may cause mental retardation in a female carrier of X-linked α-thalassemia/mental retardation syndrome (ATR-X): X-inactivation study of nine female carriers of ATR-X. *Am J Med Genet A* 138: 18-20, 2005
- 14) Nan X, Hou J, Maclean A, et al: Interaction between chromatin proteins MECP2 and ATRX is disrupted by mutations that cause inherited mental retardation. *Proc Natl Acad Sci* 104: 2709-2714, 2007

* * *

10. ATR-X 症候群とクロマチン構造変化

和田敬仁

多くの精神遅滞症候群において、エピジェネティクスのメカニズムにかかわる遺伝子の変異がその原因となっていることが次第に明らかにされている。ATR-X 症候群は精神遅滞とαサラセミアを中心とした多彩な症状を呈し、クロマチンリモデリングタンパク質 ATRX の機能低下によりエピジェネティクスのメカニズムが破綻し、α-グロビンを含む複数の遺伝子発現が異常をきたし発症すると考えられている。その病態はほとんど解明されておらず、興味深い疾患である。

はじめに

近年、精神遅滞の責任遺伝子が次々と明らかにされ、その多くがエピジェネティクスをはじめとする遺伝子発現のメカニズムにかかわる遺伝子に分類されている。ヒトの疾患において、生殖細胞系列でのエピジェネティクスの破綻は「精神遅滞」を中心とする多彩な症状を呈する症候群と、そして、体細胞でのエピジェネティクスの破綻は「悪性腫瘍」とそれぞれ関連している。また、環境的因子が、遺伝子発現に与えるメカニズムに、エピジェネティクスが中心的な役割を果たしていることも次第に明らかにされつつある。

本稿では、クロマチンリモデリングタンパク質をコードしている ATRX 遺伝子を責任遺伝子とし、エ

ピジェネティクスの破綻がその発症のメカニズムと考えられている。精神遅滞とαサラセミア^{※1}を特徴とする ATR-X 症候群 (X-linked α-thalassemia/mental retardation syndrome) について概説する¹⁾。

■ エピジェネティクスの破綻と「精神遅滞」症候群

ヒトゲノム DNA はアデニン (A)、シトシン (C)、グアニン (G)、チミン (T) の4塩基 (A/C/G/T) からなる、30億 bp により構成されている。そして、ほとんどのGのすぐ上流にあるC (5'-CpG-3') はメチル化 (-CH₃) を受けているが、遺伝子上流にある CpG が豊富な部位 (CpG アイランド) はメチル化を免れ、これは、遺伝子発現の必要条件となる。ま

【キーワード&略語】

ATR-X 症候群, αサラセミア, 精神遅滞, エピジェネティクス, クロマチンリモデリング

ADD : ATRX-DNMT3-DNMT3L

ATR : α-thalassemia & mental retardation

ATR-X 症候群 : X-linked α-thalassemia mental retardation syndrome

DNMT : DNA methyltransferase (DNA メチル基転移酵素)

PCP : partial chromosome painting

PHD : plant homeodomain

PML : promyelocytic leukemia

ATR-X syndrome and chromatin remodeling protein, ATRX
Takahito Wada : Division of Neurology, Kanagawa Children's Medical Center (神奈川県立こども医療センター神経内科)

遺伝子発現抑制系

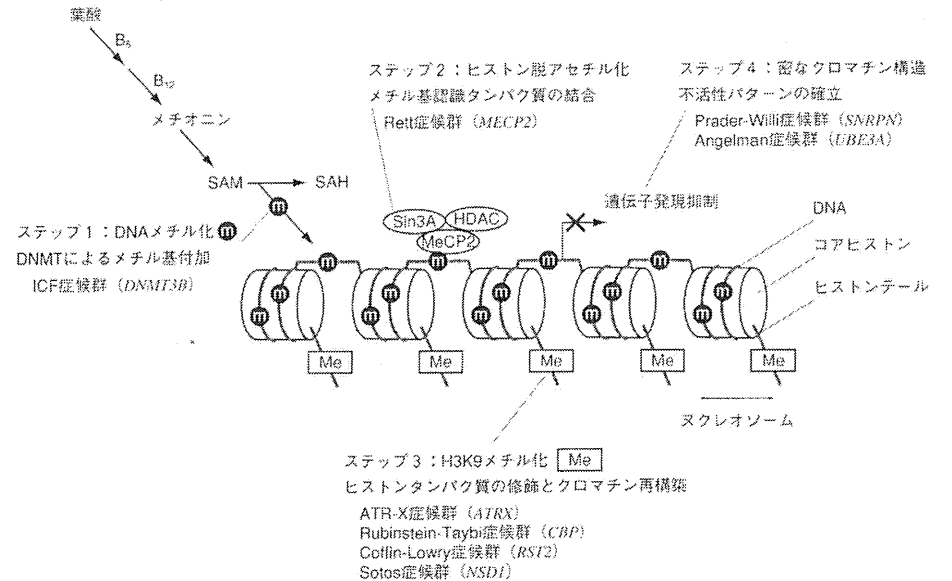


図1 エピジェネティクスにおける遺伝子発現抑制系の4つのステップ

各ステップでの破綻により発症する疾患とその責任遺伝子を示す。SAM : S-アデノシルメチオニン, SAH : S-アデノシルホモシステイン, MeCP2 : メチル化DNA結合タンパク質, HDAC : ヒストン脱アセチル化酵素, DNMT : DNAメチル基転移酵素 (文献2より、詳細は成書を参照)

た、ヒト体細胞においては、約2mのDNAが数μmの細胞核内に収納され、146塩基のDNAがヒストンH2A, H2B, H3, H4各2分子の8量体から構成されるコアヒストンに約2回転巻きついたスクレオソームを基本単位としたクロマチン構造の集合体により構築されている。ヒストンH3やH4のN末端を構成する20~30個のアミノ酸はヒストンテールと呼ばれ、リン酸化、アセチル化、メチル化などの修飾のターゲット (ヒストンコード) となる。これらのDNAのメチル化、ヒストンテールの修飾、そして、クロマチン構造の変化 (クロマチンリモデリング) はエピジェネ

ティクスのメカニズムの中心となり、遺伝子発現促進・抑制にかかわっている。相互に関連し、一方だけでは、遺伝子発現抑制系は4つのステップに分けると理解しやすい (図1)²⁾。

エピジェネティクスの破綻により発症する疾患は、このメカニズムにより発現を調節されている複数の遺伝子が不適切な発現をするために、多彩な症状を呈すると考えられ、特に厳密な遺伝子発現調節が要求されると想像される脳機能が影響を受けやすいため精神遅滞を伴いやすいと推定される。精神遅滞の責任遺伝子として、エピジェネティクスを含む遺伝子発現調節にかかわるタンパク質をコードする遺伝子群は重要な位置を占めている³⁾。

※1 αサラセミア

ヒトヘモグロビンにおける、β-グロビンに対するα-グロビンの低下による量的不均衡

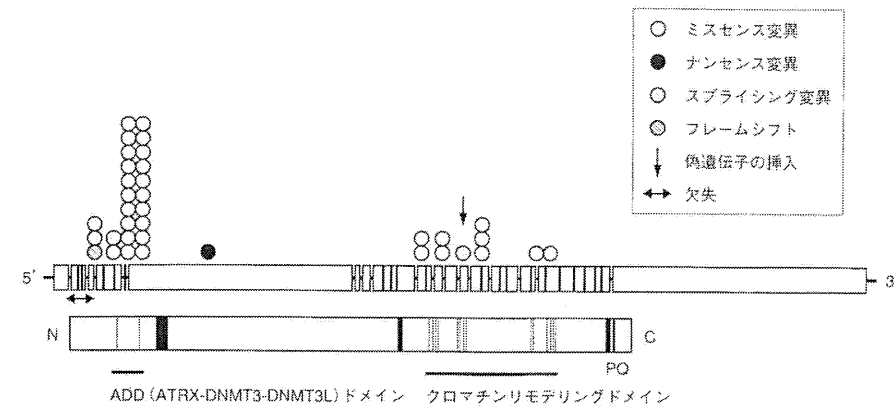


図2 日本人のATR-X症例38人で検出されたATR-X遺伝子変異

2 ATR-X症候群

1) 概念

1981年に、 α サラセミアと精神遅滞の合併例 (α -thalassemia & mental retardation: ATR) がはじめて報告されて以来、 α グロビン遺伝子が局在する第16番染色体短腕133領域 (16p13.3) を含む領域の欠失を認める隣接遺伝子症候群と考えられる症例 (ATR-16) と、欠失を認めない症例に区別された。前者は男性、女性とも罹患し、精神遅滞の程度もさまざまであるのに対し、後者は、重度の精神遅滞を伴い、特徴的顔貌を呈し、臨床的に一様であり、患者が男性のみである。このことから、責任遺伝子がX染色体上にあることが予想され、ATR-Xと名づけられ、1995年に英国のGibbonsにより責任遺伝子ATR-Xが同定された¹⁾。現在までに世界で90家系165症例以上がATR-Xと診断されており、日本でも少なくとも50家系で診断されている^{2)~5)}。

2) 臨床像

ATR-Xはその責任遺伝子ATR-XをX染色体にもつX連鎖精神遅滞症候群の1つである。典型的なATR-Xの臨床像は、男性の患者、重度の精神遅滞、 α サラセミアの存在、特徴的顔貌、外性器異常、骨格異常、行動異常といった多彩な症状を特徴とする⁶⁾。

歩行可能例は少なく、歩行可能例も十代後半で歩行

を獲得することが多い。精神遅滞は重度であり、日常生活は全介助を要することがほとんどであり、有意語の言語獲得は難しい。また、視線を合わそうとしない、常同行為を繰り返すといった自閉症的な行動を伴う頻度が高く、これはATR-X遺伝子が発達障害の責任遺伝子である可能性を示している。外性器異常は、小精巣や停滞精巣の軽症例から、女性様外性器異常を呈する症例まで幅広い。

ATR-Xの名前が示すとおり、 α サラセミアの存在は特徴的であるがHbH封入体をもつ赤血球の割合は、患者により1%未満から数十%と幅広く、また、患者の20%では検出されない。

3) ATR-X遺伝子

ATR-X遺伝子はX染色体長腕13.3領域 (Xq13.3) に局在し、300 kbpに広がり35エクソンからなる。ATR-X遺伝子は、10.5 kbの転写産物をコードしているが、選択的スプライシングにより、5'末端が異なる、少なくとも2つのタンパク質 (265 kDa, 280 kDa) が産生される。さらに、イントロン11で終止している約7 kbpの転写産物から、ATR-X_tと呼ばれるタンパク質が翻訳され、これはマウスとヒトの間で保存されている。

コードされるATR-Xタンパク質は機能上重要な領域が2つある (図2)。1つは、N末端のシステインの豊富なADD (ATRX-DNMT3-DNMT3L) ドメイ

ンと呼ばれる領域で、植物ホモドメイン様Znフィンガー (PHDフィンガー) と、そのすぐ上流の、C₂C₂モチーフからなる。このPHDフィンガーは、クロマチンを介した転写制御にかかわるタンパク質に同定され、50~80個のアミノ酸からなるZnフィンガードメイン (Cys₅₁-His-Cys₅₃) をもつ。この部位は、DNA結合タンパク質に特徴的な構造をもたず、上流のC₂C₂ドメインを介して、DNAに結合すると考えられている。この領域はヒトとマウスの間で、アミノ酸98個中1個が異なるのみで、高度に保存されており、機能的にも重要と考えられる。実際、ATR-X患者の60%で、この領域に変異を認めている¹⁰⁾。

もう1つは、中央部の7つのヘリカーゼモチーフからなる。ヒトとマウスで高度 (94%) に保存されている領域 (クロマチンリモデリングドメイン) である。この構造によりATR-Xタンパク質は、クロマチンリモデリングタンパク質のSNF2サブファミリーに分類されている。このグループに属するタンパク質は、7つの高度に保存された共直線ヘリカーゼモチーフ構造を特徴とし、転写制御 (SNF2, MOT1, brahma)、細胞周期制御 (NPSD)、DNA修復 (RAD16, RAD54, ERCC6)、細胞分裂時の染色体分離 (lodestar) といった、さまざまな細胞機能にかかわるタンパク質が属している。ATR-Xタンパク質は、この中でも特にRAD54との相同性が高いが、ATR-X患者において、臨床的に紫外線感受性や発がん性などを示す報告はなく、ATR-Xタンパク質がDNA修復にかかわっていることを直接示唆するデータはない。なお、ATR-X患者の40%はこの領域に変異をもつ。

他に、C末端には、他のSNF-2様タンパク質にも認める転写制御にかかわる領域 (P-box) と、タンパク質相互作用にかかわるグルタミンに富む領域 (Q-box) をもつ。

4) ATR-Xタンパク質とエピジェネティクス

ATR-Xタンパク質は核タンパク質であり、他のタンパク質と複合体を形成している。その1つがヘテロクロマチンタンパク質のHP1であり、ATR-Xタンパク質のADDドメインの下流で結合し、セントロメア近傍のヘテロクロマチンに共同存在している。HP1はヒストンH3K9のメチル化酵素SUV39H1を含む多くの核タンパク質と相互作用して、遺伝子発現抑制やクロマチン構造にかかわっている¹¹⁾。

また、ヒト細胞において、大部分のATR-Xが核スペckル (nuclear speckle) に存在し、転写制御因子Daxxを介してPMLボディ (promyelocytic leukemia body) と結合する¹²⁾。この分布は細胞周期におけるATR-Xタンパク質のリソ酸化状態に依存し、細胞分裂間期では核マトリックスに、細胞分裂中期ではセントロメアに関連する可能性が報告された¹³⁾。また、ヒト細胞の細胞分裂中期において、ATR-X抗体が端部着糸型染色体 (acrocentric chromosomes: 13, 14, 15, 21, 22染色体) の短腕に局在し、核オーガナイザー領域 (nucleolar organizer regions) でrDNAに結合すると考えられる転写因子 (upstream binding factor) と共同存在することが示された¹⁴⁾。

Gibbonsら¹⁵⁾により、ATR-X遺伝子に変異をもつATR-X患者の血液から抽出したDNAの解析により、DNAメチル化異常を示していることが示された。1つは、rDNA遺伝子のCpGリッチな領域であり、正常では20%程度のメチル化を認めるが、ATR-X患者では低メチル化状態であることが示された。また、Y染色体特異的リピートであるDYZ2では、正常者で約6%が非メチル化されているのに対して、ATR-X患者ではほとんどメチル化している。サブテロメア領域のリピートであるTelBam3.4でもメチル化の違いを認めている。

SWI-SNFファミリーに属している哺乳類のPASG。その植物のホモログであるDDM1の変異で繰り返し配列におけるCpGのメチル化が示されていることから、ATR-Xタンパク質のATP依存性クロマチンリモデリング活性が、DNAメチル化の確立や維持にかかわっていると考えられている。なお、DNAメチル化が起こらない*C. elegans*や*D. melanogaster*のATR-X遺伝子のホモログ遺伝子はADDドメインをもたないため、ATR-Xタンパク質はDNMT3メチル基転移酵素とADDドメインを介して相互作用している可能性がある。

ATR-Xタンパク質は、DNAメチル基転移酵素活性ドメインをもたないが、新規DNAメチル基転移酵素であるDNMT3ファミリーと共通のADDドメインをもつことから (図3)、ATR-Xがヒストン脱アセチル化酵素と結合、あるいはシークエンス特異的なDNA結合タンパク質を介して、DNAメチル化装置を導入する可能性がある¹⁶⁾。

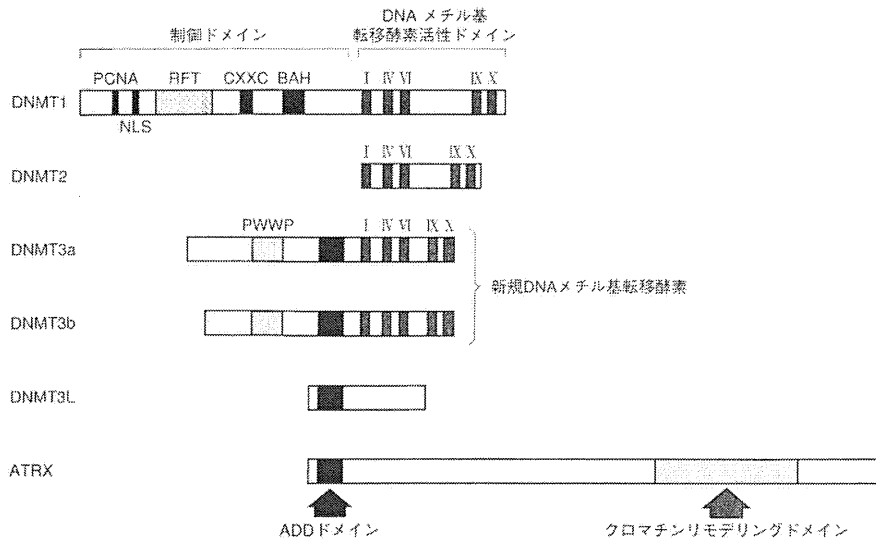


図3 ATRXタンパク質と他のDNAメチル基転移酵素の構造
 ATRXタンパク質はDNAメチル基転移酵素活性ドメインをもたない

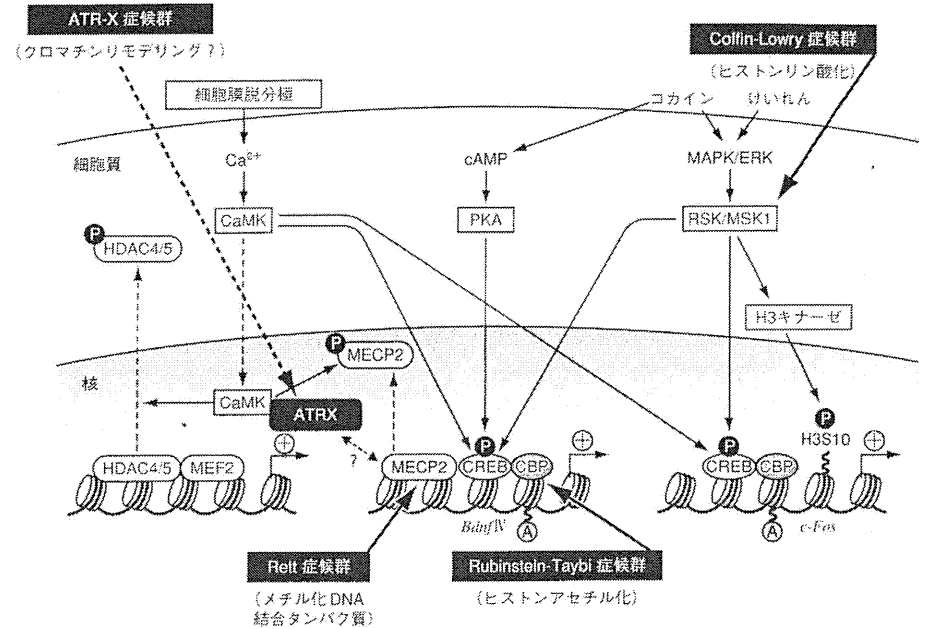


図5 細胞内シグナル伝達カスケードを介したクロマチン構造の制御
 各疾患は図1を参照。Rett症候群はメチル化したCpGに結合するタンパク質MECP2をコードするMECP2遺伝子、Rubinstein-Taybi症候群はヒストンタンパク質のアセチル化にかかわるタンパク質CBPをコードするCBP遺伝子、Coffin-Lowry症候群はヒストンタンパク質のリン酸化にかかわるRSK2遺伝子を責任遺伝子とする。CREB、CBP、PKA、CaMKs、RSK/MSK1はそれぞれcAMP、Ca²⁺、MAPK/ERKにかかわる細胞内シグナル伝達カスケードにより活性化され、転写因子CREBをリン酸化する。これが、ヒストンアセチル基転移酵素活性をもつCBPと結合する。これにより、近傍のヒストンがアセチル化され、遺伝子転写活性（例えば、c-Fos、Bdnf⁺）を促進する。CaMKs：calcium/calmodulin-activated protein kinases、cAMP：cyclic AMP、CBP：CREB binding protein、CREB：cAMP-response element binding protein、MAPK/ERK：mitogen-activated protein/extracellular signal-regulated protein kinase、MSK1：mitogen- and stress-activated protein kinase、PKA：protein kinase A、RSK：ribosomal S6 kinase（文献17より改変）

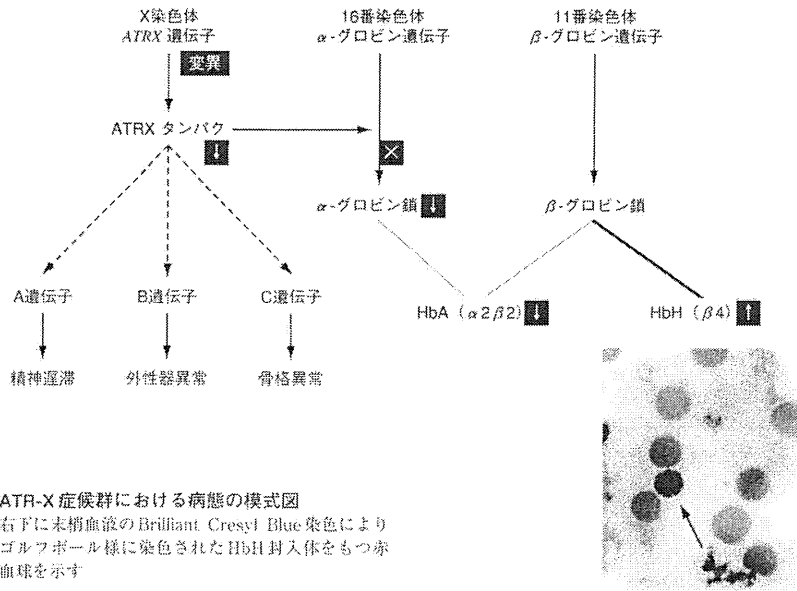


図4 ATR-X症候群における病態の模式図
 右下に末梢血液のBrilliant Blue染色によりゴルフボール様に染色されたHbH封入体をもつ赤血球を示す

5) ATRX遺伝子変異と病態

現在までに同定された変異はほとんどがミスセンス変異であり、機能的に重要な2つの領域、ADDドメインとクロマチンリモデリングドメインに集中している(図2)*。その機能喪失が病態にかかわり、その完全機能喪失は致死的と考えられている。現在のところ、遺伝子変異型と表現型の明らかな相関は認めないが、唯一、C末端の欠失をもつ症例で重症の外生殖器異常を呈しており、この領域が泌尿生殖器の発達に特異的な役割を果たしている可能性を示すとともに、ATR-Xタンパク質が性分化にかかわる遺伝子とし

ても注目される。

ATR-Xはその多彩な症状から、クロマチンリモデリングを介した複数の遺伝子の発現調節異常が想定されるが(図4)、実際のところ、ATR-Xタンパク質はクロマチンリモデリング活性がきわめて弱いことが示されており、遺伝子発現調節のメカニズムは不明である。唯一わかっている標的遺伝子はα-グロビン遺伝子であるが、そのプロモーター領域のCpGメチル化状態は正常と変わりなく、α-グロビン遺伝子の発現が抑制されるメカニズムはわかっていない(相田、未発表データ)。また、実際、図1に示したようにATR-X

タンパク質は遺伝子発現抑制系として働くのに、なぜ、*ATRX* 遺伝子変異による *ATRX* の機能喪失により、 α -グロビン遺伝子の発現が抑制されるのかは不明である。

また、精神遅滞にかかわる標的遺伝子も不明であるが、最近、Rett 症候群の責任遺伝子 *MECP2* がコードしている *MECP2* との相互作用は興味深い¹⁶⁾、エピソードエネティクスの破綻による精神遅滞症候群が共通の症状をもつことから、神経細胞におけるシナプス活性による遺伝子発現の促進・抑制に影響を与えるクロマチンリモデリングと細胞内シグナル伝達系との関連には、図5に示すような共通経路が想定されている¹⁷⁾。

3 クロマチンリモデリングタンパク質と染色体テリトリー

最近、染色体の核内における空間的配置（染色体テリトリー）が、遺伝子発現や核高次構造に関連することが示されてきている¹⁸⁾、われわれは「クロマチンリモデリング因子 *ATRX* の機能喪失が染色体テリトリーに影響を与え、複数の遺伝子発現調節の破綻の原因となっている」という仮説を立て、3D (三次元)-FISH 法を用いて、核内における染色体テリトリーと遺伝子発現との関連の検討を行っている（総合研究大学 田辺秀之教授、信州大学 浦井敬子助教との共同研究）。

1) 対象

遺伝子変異が確認され染色体異常を伴わない *ATR-X* 症候群患者2名と正常コントロール1名のBリンパ芽球種細胞株 (LCL) を用いて、3D 解析用標本を作製した。

2) 方法

ATRX 遺伝子の局在するX染色体長腕、刷り込み領域が存在する第15番染色体長腕、*ATRX* タンパク質より発現調節を受けることが唯一明らかになっている α -グロビン遺伝子が局在する第16番染色体短腕を対象染色体領域として、各 Partial chromosome painting (PCP) プローブDNAを準備し、それぞれ異なる色調で検出するために標識。共焦点レーザーキャン顕微鏡で観察し、3D 画像を取得した。画像解析ソフトにより、各細胞核ごとに対象の染色体について相対間距離の実測値の計測した (図6)。

3) 結果

シグナル間の中心間距離 (center)、シグナル領域

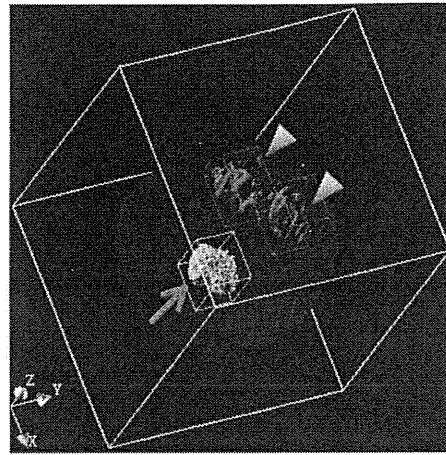


図6 PCP X染色体長腕 (矢印) とPCP第16番染色体短腕 (矢頭) プローブを用いた、*ATR-X* 症候群患者の細胞核3D-FISH画像 (巻頭カラー図13参照)
信州大学医学部河村理恵氏作成

間の距離 (territory)、核膜までの最短距離 (nuclear membrane) を計測し実測値を得たが、2名の患者と正常コントロールの間で、有意な差は認めなかった。今後、細胞周期、細胞種類との検討を重ねていく予定である。

おわりに

以上、クロマチンリモデリングタンパク質 *ATRX* をコードする *ATRX* 遺伝子を責任遺伝子とする *ATR-X* 症候群について概説した。1990年に疾患が発見され、1995年に責任遺伝子が同定されたが、病態についてはほとんど解明されていない。本誌を愛読されている1人でも多くの研究者の皆さんがこの疾患に興味をもっていただき、病態解明への突破口となれば幸いである。

文献

- 1) Gibbons, R. J. & Wada, T.: "Inborn Errors of Development" (Epstein, C. J. et al. eds.), pp 943-954. Oxford University Press, 2008
- 2) 久保田健夫: 医学のあゆみ, 215: 107-111, 2005
- 3) 和田敬仁: 神経研究の進歩, 50: 793-808, 2006
- 4) Gibbons, R. J.: Cell, 80: 837-843, 1995

- 5) Wada, T. et al.: Am. J. Med. Genet., 94: 242-248, 2000
- 6) 和田敬仁, 他: 脳と発達, 30: 283-289, 1998
- 7) Wada, T. et al.: Am. J. Med. Genet., A 138: 18-20, 2005
- 8) Gibbons, R. J. et al.: Hum. Mutat., 29: 796-802, 2008
- 9) Wada, T. & Gibbons, R. J.: "Genetics and genomics of Neurobehavioral Disorders" (Pisch, G. S. eds.), pp 309-334. Humana press, 2003
- 10) Picketts, D. J. et al.: Hum. Mol. Genet., 5: 1899-1907, 1996
- 11) McDowell, T. L. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96: 13983-13988, 1999
- 12) Xue Y. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100: 10635-10640, 2003
- 13) Berube, N. G. et al.: Hum. Mol. Genet., 9: 539-547, 2000
- 14) Gibbons, R. J.: Nat. Genet., 17: 146-148, 1997

- 15) Argentaro, A. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104: 11939-11944, 2007
- 16) Nan, X. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104: 2700-2714, 2007
- 17) Tsankova, N. et al.: Nat. Rev. Neurosci., 8: 355-367, 2007
- 18) Heard, E. & Bickmore, W.: Curr. Opin. Cell Biol., 19: 311-316, 2007

<著者プロフィール>

和田敬仁: 神奈川県立こども医療センター神経内科, 1990年, 北海道大学医学部卒業, 同小児科学教室に入局, 2000~'02年, 英国オックスフォード大学 Weatherall Institute of Molecular Medicine (Gibbons, R. 博士) に留学, '01年, 北海道大学大学院博士課程修了, '02年, 信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座助教, '08年, 同学部衛生学公衆衛生学講座准教授, '09年4月より現職, *ATR-X* 症候群の病態を解明したい。

▷トピックス：注目される新しい病態・疾患概念と臨床検査—血液疾患編—(4) <

X連鎖αサラセミア・精神遅滞症候群(ATR-X症候群)

和田 敬仁*

X-Linked α-Thalassemia/Mental Retardation Syndrome

Takahito WADA*

X-linked α-thalassemia/mental retardation syndrome (ATR-X syndrome, OMIM #301040) is one of the syndromes associated with abnormal epigenetic gene regulation, including ICF (*DNMT3B*), Rett (*MECP2*), Rubinstein-Taybi (*CBP*), Coffin-Lowry (*RSK2*), and Sotos (*NSD1*) syndromes.

It is a syndromic form of X-linked mental retardation, which affects males and is characterized by profound mental retardation, mild HbH disease (α-thalassemia), facial dysmorphism, skeletal abnormalities, and autistic behavior. ATR-X syndrome is caused by a mutation in the *ATR-X* gene on the X chromosome (Xq13), which encodes ATRX protein, belonging to the SNF2 family of chromatin-remodeling proteins. The protein has two functionally important domains: an ADD (*ATR-X-DNMT3-DNMT3L*) domain at the N-terminus, and chromatin-remodeling domain in the C-terminal half, where the *ATR-X* gene mutations of most ATR-X patients reside.

Perturbation in DNA methylation in the rDNA genes was reported in ATR-X patients, and ATRX protein is presumed to be involved in the establishment and maintenance of DNA methylation. Based on its various clinical phenotypes, the expressions of many genes, including α globin genes, seem to be abnormally regulated in ATR-X patients. However, the precise mechanism involving ATRX protein remains to be elucidated.

Epigenetics can link environmental and genetic causes of many pathological conditions. The genes, which are abnormally regulated by a perturbed epigenetic mechanism, are, in themselves, structurally normal, and the elucidation of their mechanism may lead to the development of appropriate therapy.

[Rinsho Byori 57: 382~390, 2009]

Corresponding author: Takahito WADA, Department of Preventive Medicine and Public Health, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto 390-8621, Japan. E-mail: twada@shinshu-u.ac.jp

[Key Words] ATR-X syndrome (ATR-X 症候群), α-thalassemia (α サラセミア), MDS (骨髄異形成症候群), mental retardation (精神遅滞), epigenetics (エピジェネティクス), chromatin remodeling (クロマチンリモデリング)

ヒトゲノム DNA はアデニン (A), シトシン (C), グアニン (G), チミン (T) の 4 塩基 (A/C/G/T) からなる, 30 億塩基対により構成されている。蛋白をコードするヒトの遺伝子数は, 2.0~2.5 万個前後である

と推定されている。ヒトの体は 200 種類, 60 兆個の細胞からなるが, その遺伝情報は, リンパ球などの一部の細胞を除き, 受精卵と同じである。正常な分化, 増殖, 機能を行うためには, 時間的にも空間的

にも, 遺伝子発現が精密に調節されなければならない。

同じ遺伝情報を持つ多彩な細胞がそれぞれ機能するには, A/C/G/T 以外の遺伝情報が必要であり, これをエピジェネティクスとよぶ。

ヒトの疾患において, 生殖細胞系列でのエピジェネティクスの破綻は「精神遅滞」, 体細胞でのエピジェネティクスの破綻は「悪性腫瘍」と関連する。また, エピジェネティクスは様々な疾患における環境的因子と遺伝学的因子を結びつけるものでもあり, 注目されている領域である。

本稿では, 精神遅滞と α サラセミアを特徴とする ATR-X 症候群 (X-linked α-thalassemia/mental retardation syndrome, MIM# 301040) について概説する¹⁾。

I. エピジェネティクスの仕組み

ヒト体細胞において, 約 2m の DNA が数 μm の細胞核内に収納されるために, 146 塩基の DNA がヒストン H2A, H2B, H3, H4 各 2 分子の 8 量体から構成されるコアヒストンに約 2 回転巻きついたヌクレオソームを基本単位としたクロマチン構造の集合体により構築されている。ヒストン H3 や H4 の N 末端を構成する 20~30 個のアミノ酸はヒストンテールと呼ばれ, リン酸化, アセチル化, メチル化などの修飾のターゲットとなる。

エピジェネティクスのメカニズムには, ゲノム DNA のメチル化, ヒストンテールの修飾, RNA, それらに伴うクロマチン構造の変化があり, 遺伝子発現促進あるいは抑制と関係している。これらは相互に関連し, 一方方向ではないが, 遺伝子発現抑制を 4 つのステップに分けると理解しやすい (Fig. 1)²⁾。

A. ステップ 1: DNA のメチル化

ヒトゲノムにおいては, 5'-CpG-3' (シトシン-ホスホジエステル結合-グアニン) のシトシンがメチル化のターゲットとなる。ほとんどの CpG はメチル化されているが, 約 1kb に及ぶ CpG の割合が高い領域 (CpG island) があり, これは 6 割程度の遺伝子のプロモーター領域に存在し, 通常, メチル化されていない。遺伝子の正常発現にはこのプロモーター領域の CpG がメチル化されていないことが必要条件となる。CpG のメチル化は, 葉酸やメチオニンなど基質とする反応系により産生される S-adenosyl-methionine がメチル基供与体となり, DNA メチル基転移酵素 (DNMT) により反応が進む。メチル化

CpG による遺伝子発現の抑制は, メチル化により転写因子がプロモーターに結合できなくなる直接作用と, ステップ 2 以下に示す間接作用がある。

B. ステップ 2: メチル化 DNA への蛋白の結合

メチル化 CpG をターゲットとしてメチル化 DNA 結合蛋白 (例: MeCP2 など) が結合し, これに様々な蛋白を介して, ヒストンテールを修飾する蛋白 (例: ヒストン脱アセチル化酵素, ヒストンメチル化酵素など) が次々と結合する。

C. ステップ 3: ヒストンテールの修飾

一般にヒストン H3, H4 のアセチル化は転写促進, 脱アセチル化は転写抑制に関与する。ヒストン H3 の 9 番目のリジン (H3-K9) のメチル化は転写抑制に, 一方, 4 番目のリジン (H3-K4) のメチル化は転写促進に働く。特に, DNA のメチル化, ヒストンの脱アセチル化, ヒストン H3-K9 のメチル化は互いに誘導し合い, 遺伝子不活化のループを作っていると考えられている。これらの因子と連動して, クロマチン再構築 (リモデリング) 因子が, ATP 加水分解によるエネルギーを用いて, クロマチン構造を変えることにより, 遺伝子発現を調節する。

D. ステップ 4: 不活化パターンの確立

DNA の高次構造が密な状態となり遺伝子不活化パターンが確立する。

以上に示した, DNA メチル化, ヒストン蛋白の修飾あるいはクロマチン再構築に関わる遺伝子の変異が, 精神遅滞を中心とする多彩な症状を呈する症候群の原因となっている。転写抑制機構の異常に起因する疾患として, 新規 DNA メチル化酵素 DNMT3b をコードする *DNMT3B* 遺伝子を責任遺伝子とする ICF (Immunodeficiency, Centromeric instability, and Facial anomalies) 症候群, メチル化した CpG に結合する蛋白 MECP2 をコードする *MECP2* 遺伝子を責任遺伝子とする Rett 症候群, そして, クロマチン再構築に関わる蛋白 ATRX をコードする *ATR-X* 遺伝子を責任遺伝子とする ATR-X が挙げられる。一方, 転写促進機構の異常に起因する疾患として, ヒストン蛋白のアセチル化に関わる蛋白 CBP をコードする *CBP* 遺伝子を責任遺伝子とする Rubinstein-Taybi 症候群, ヒストン蛋白のリン酸化に関わる *RSK2* 遺伝子を責任遺伝子とする Coffin-Lowry 症候群等が挙げられる。また, 最近, 日本人研究者によって明らかにされた過成長, 精神遅滞, 特異顔貌を主症状とする Sotos 症候群の責任遺伝子

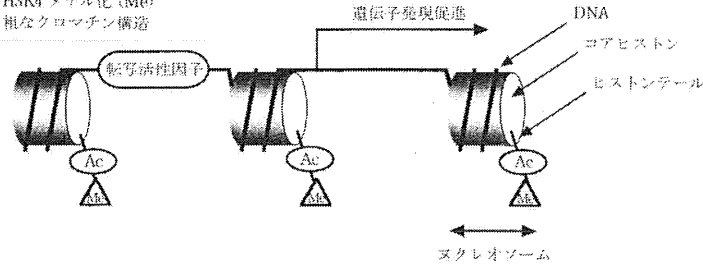
*信州大学医学部衛生学公衆衛生学講座 (〒390-8621 松本市旭 3-1-1)

*現在: 神奈川県立こども医療センター神経内科 〒232-8555 神奈川県横浜南区六ツ川 2-138-4)

E-mail: twada@kcmc.jp

遺伝子発現促進

1. DNA の非メチル化
2. ヒストンアセチル化 (Ac)
3. H3K4 メチル化 (Me)
4. 粗なクロマチン構造



遺伝子発現抑制

1. DNA メチル化 (m)
2. ヒストン脱アセチル化
3. H3K9 メチル化 (Me)
4. 密なクロマチン構造

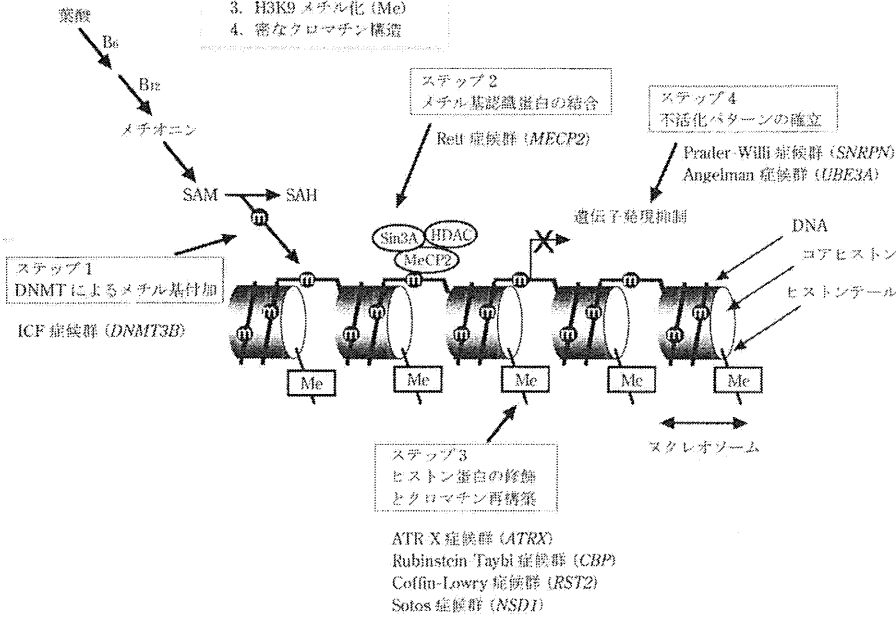


Figure 1 遺伝子発現とクロマチン構造

上図：遺伝子発現促進系

下図：遺伝子発現抑制系の4つのステップと疾患

SAM：S-アデノシルメチオニン；SAH：S-アデノシルホモシステニン；
MeCP2：メチル化DNA結合蛋白；HDAC：ヒストン脱アセチル化酵素

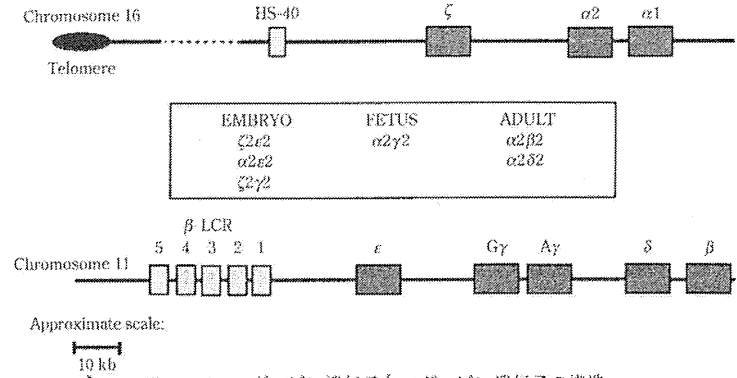


Figure 2 α グロビン遺伝子と β グロビン遺伝子の構造

である *NSD1* は、ヒストンのメチル化酵素をコードし、転写抑制系に関わると考えられている³⁾。

すなわち、エピジェネティクスの破綻により発症する疾患は、このメカニズムにより発現を調節されている複数の遺伝子が不適切な発現をするために、多彩な症状を呈すると考えられ、特に厳密な遺伝子発現調節が要求されると考えられる脳機能が影響を受けやすいため、精神遅滞を伴いやすいと推定される。精神遅滞の責任遺伝子として、エピジェネティクスを含む遺伝子発現調節に関わる蛋白をコードする遺伝子群は重要な位置を占めている。

II. α サラセミアとは

脊椎動物の赤血球における酸素運搬体であるヘモグロビンは、グロビン鎖とヘムで構成されている。ヒトのヘモグロビン (Hb) は α 鎖と非 α 鎖 (γ, δ, β) 各 2 分子ずつからなる 4 量体で、胎児期の主要な Hb である HbF ($\alpha 2\gamma 2$) は生後半年ほどで成人値まで落ち、成人の HbA ($\alpha 2\beta 2$)、HbA2 ($\alpha 2\delta 2$) に置き換わり、1 歳以降の小児、成人では HbF (<1%)、HbA (96%)、HbA2 (2.5~3.5%) の割合となる。 α 鎖、非 α 鎖 (γ, δ, β) の遺伝子群はそれぞれ第 16、11 染色体の短腕 (16p13.3, 11p15.5) に局在し、発生の段階における、種々のグロビン遺伝子の発現の変化は、グロビンスイッチングと呼ばれており、各々のクラスターの遺伝子は発生段階で発現する順番と同じ順序で並んでいる (Fig. 2)⁴⁾。

正常では骨髄の赤芽球で α 、 β グロビン鎖はバランスよく産生されているが、この量的不均衡はサラ

セミアと呼ばれ、 α サラセミアでは α グロビン鎖の、 β サラセミアでは β グロビン鎖の生成量が低下する。

α サラセミアの原因はその大部分が α グロビン遺伝子の欠失による。 α グロビン遺伝子は染色体上に隣接して 2 個存在し、父母から 1 本ずつ受け継ぐため、合計 4 個 ($\alpha\alpha\alpha\alpha$) をもつ。遺伝子の欠失が 1 個 (遺伝子型は $\alpha\alpha'-\alpha$) の場合、表現型は正常 (無症候性保因者)、2 個 ($-\alpha'-\alpha$ 、 $-\alpha\alpha$) の場合は軽症型 (保因者)、3 個欠失の場合 ($---\alpha$) は中間型 (HbH 病)、4 個欠失は重症型 (死産、Hb Bart's, 胎児水腫) となる。

ATR-X 症候群は、この α グロビン遺伝子の欠失を伴わない α サラセミアとして発見された。

III. ATR-X 症候群

A. 概念

1981 年に、 α サラセミアと精神遅滞の合併例 (ATR: α -thalassemia & mental retardation) が初めて報告され、 α グロビン遺伝子が局在する 16p13.3 を含む領域の欠失を認める隣接遺伝子症候群と考えられる症例 (ATR-16) と、欠失を認めない症例に区別された。前者は男性、女性とも罹患し、精神遅滞の程度も様々であるのに対し、後者は、重度の精神遅滞を伴い、特徴的顔貌を呈し、臨床的に一様であり、患者が男性のみであることから、責任遺伝子が X 染色体上にあることが予想され、ATR-X と名付けられ、1995 年に英国の Gibbons⁵⁾ により責任遺伝子 *ATRX* が同定された。現在までに世界で 90 家系 165 症例以上が ATR-X と診断されており、日本でも少

なくとも40家系で診断されている^{9,10)}。

B. 臨床像

ATR-Xの責任遺伝子 *ATRX* はX染色体上(Xq13.3)に局在し、その変異はX染色体に責任遺伝子を持つX連鎖精神遅滞(XMR: X-linked Mental Retardation)の原因の一つとなる。XMRは臨床的に精神遅滞以外に特徴的な臨床症状のない非特異的XMRと、精神遅滞以外にも身体症状、生化学的所見など示す症候群性XMRに分類され、ATR-Xは後者に分類されるが、*ATRX* 遺伝子は非特異的XMRの原因遺伝子としても報告されている¹⁰⁾。また、一般にX染色体に責任遺伝子を持つ疾患は男性のみが発症し、変異をヘテロに持つ女性では症状を呈さない健康な保因者となることが多いが、*ATRX* 遺伝子の変異による女性の精神遅滞例も報告されている。ちなみに、*ATRX* 遺伝子は他の症候群(Juberg-Marsidi症候群、Carpenter-Waziri症候群、Holmes-Ganggs症候群、Smith-Fineman-Myers症候群、XMR with spastic paraplegia)の責任遺伝子として報告されているが、それらは別の疾患というよりも、ATR-Xの幅広い臨床症状を示していると考え方が妥当である。

典型的なATR-Xの臨床像は、男性の患者、重度の精神遅滞、 α サラセミアの存在、特徴的顔貌、外性器異常、骨格異常、行動異常を特徴とする¹¹⁾。

歩行可能例は少なく、歩行可能例も10代後半で歩行を獲得することが多いが、3歳前後で歩行を獲得する軽症例も存在する。

精神遅滞は重度であり、日常生活は全介助を要することがほとんどであり、有意語の言語獲得は難しい。しかし、ジェスチャーなどでコミュニケーション可能で、日常生活がほぼ自立している症例も存在する。

また、本症例の成人例を調査すると、同程度の精神遅滞を伴う症例と比較すると、視線を合わそうとしない、常同行為を繰り返すといった自閉症的な行動を伴う頻度が高く、*ATRX* 遺伝子の発達障害の責任遺伝子としての可能性を示している。外性器異常は、小精巣や停留精巣の軽症例から、女性様外性器異常を呈する症例まで幅広く、女性として育てられた症例もいる。

ATR-Xの名前が示す通り、 α サラセミアの存在は特徴的であり、新鮮末梢血液をbrilliant cresyl blueで室温下、数時間染色し、ゴルフボール状に染まる赤血球の存在により診断される(Fig. 3)。HbH封入

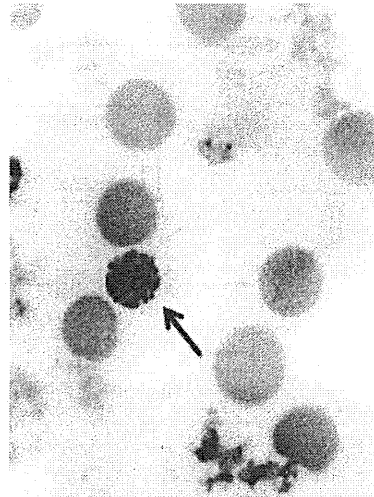


Figure 3 末梢血液のBrilliant Cresyl Blue染色によりゴルフボール様に染色されたHbH封入体を持つ赤血球

体をもつ赤血球の割合は、患者により1%未満から数十%と幅広く、また、患者の20%では検出されないことに注意が必要であり、HbHが検出されないからといって、ATR-Xの診断を否定することは出来ず、他の臨床症状からATR-Xが疑われる場合は、遺伝子診断を行うことが必要である。

患者の母親の約7割は変異遺伝子をヘテロにもつ保因者である。これはジストロフィン遺伝子を責任遺伝子とするドゥシャンヌ型筋ジストロフィーの場合と同程度であり、男性患者が成人になって次世代の子孫を授かる可能性がほとんどない(ゼロフィットネス)ことによる。通常、2本のX染色体のうち、変異遺伝子をもつX染色体が選択的に不活化(skewed X-inactivation)を受けているため、無症状である。しかし、前述した通り、最近、X不活化の異常により、*ATRX* 遺伝子変異は女性のMRの原因となり得ることが報告された⁹⁾。

C. *ATRX* 遺伝子と ATRX 蛋白

ATRX 遺伝子はXq13.3に局在し、300kbに広がり35エクソンからなる。コードされるATR-X蛋白は機能上重要な領域が2つある(Fig. 4)。

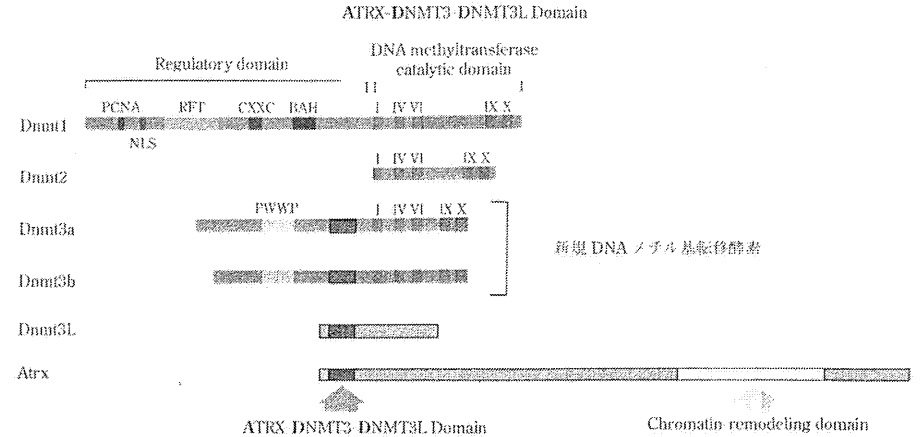


Figure 4 ATRX蛋白とDNAメチル基転移酵素の構造

一つは、N末端のシステインの豊富なADD(ATRX-DNMT3b-DNMT3L)ドメインと呼ばれる領域で、その一部はPHD fingerドメインに酷似し、これは、50~80個のアミノ酸からなるzinc-fingerドメイン(Cys4 His Cys3)であり、クロマチンを介した転写制御に関わる蛋白に同定されている。この領域はヒトとマウスの間でも高度に保存されており、機能的にも重要と考えられ、ATR-Xの患者の60%でこの領域に変異を認めている¹²⁾。DNMT3bはDNAにメチル基を付加する新規DNAメチル化酵素である。ATR-X蛋白自体にはこの酵素活性はないが、後述するように、DNAメチル化の確立や維持に重要と考えられている。

もう一つは、中央部のヒトとマウスで高度に保存されている7つのhelicase motifからなる領域であり、この構造によりATR-Xはクロマチンリモデリング蛋白のSNF2サブファミリーに分類されている¹³⁾。このグループに属する蛋白は、転写制御、細胞周期制御、DNA修復、細胞分裂時の染色体分離に関わっているが、ATR-Xの患者において、臨床的に紫外線感受性や発癌性などを示す報告はない。

他に、C末端には、P boxと呼ばれる、他のSNF-2様蛋白にも認める転写制御に関わる領域と、蛋白-蛋白相互作用に関わるglutamine-richな領域(Q)をもつ。

D. ATRX 蛋白とエピジェネティクス

Gibbonsら¹⁴⁾は、正常では20%程度のメチル化を認めるrDNA遺伝子のCpG richな領域において、

ATR-X患者では低メチル化状態であることを示した。Y染色体特異的リピートであるDY2や、サブテロメア領域のリピートであるTelBam3.4でもメチル化の違いを認めている。前述したように、ATR-XのADDドメインは、新規DNAメチル基転移酵素であるDNMT3ファミリーにも認め、ATR-X自身はDNAメチル基転移酵素活性部位を持たないが、ATR-Xがヒストン脱アセチル化酵素と結合、あるいはシーケンス特異的なDNA結合蛋白を介して、DNAメチル化装置を導入する可能性を示している¹⁵⁾。最近、ATR-X蛋白と同様のATP依存性クロマチンリモデリング複合体の一つであるSWI/SNF複合体が、Rett症候群の責任遺伝子によりコードされメチル化DNA結合蛋白の一つであるMeCP2を介して、遺伝子転写抑制に働くことが報告され、興味深い¹⁶⁾。

また、ATR-Xは、他の蛋白と複合体を形成しており、その一つがヘテロクロマチン蛋白のHP1である。HP1はクロマチン結合蛋白であり、ヒストンH3-K9のメチル化酵素SUV39H1を含む多くの核蛋白と相互作用することが分かっている¹⁷⁾。よって、ATR-XとHP1の相互作用は、蛋白-蛋白相互作用によってヘテロクロマチン領域でATR-Xが共存するのに必要であることが予想されている。

E. *ATRX* 遺伝子変異と病態

現在までに同定された変異はほとんどがミスセンス変異であり、機能的に重要な2つの領域、ADDドメインとhelicaseドメインに集中している(Fig. 5)⁹⁾。

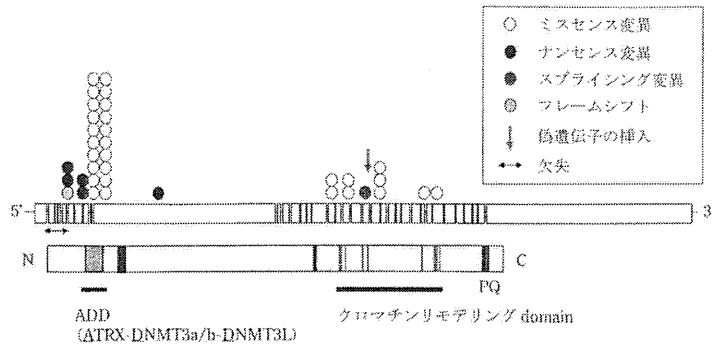


Figure 5 日本人の ATR-X 症例 38 人で検出された ATRX 遺伝子変異

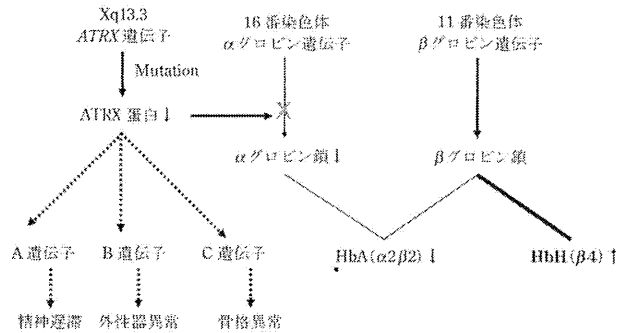


Figure 6 ATR-X 症候群における病態

その機能喪失が、病態に関わり、その完全機能喪失は致死的と考えられている。現在のところ、遺伝子変異型と表現型の明らかな相関は認めていないが、唯一、C末端の欠失を持つ症例で重症の外性器異常を呈しており、この領域が泌尿器外性器の発達に特異的な役割を果たしている可能性を示し、ATRXが性分化に関わる遺伝子としても注目される¹⁹⁾。

ATRXはその多彩な症状から、クロマチンリモデリングを介した複数の遺伝子の発現調節異常が想定される (Fig. 6)。唯一分かっている標的遺伝子は α グロビン遺伝子であるが、そのプロモーター領域の CpG メチル化状態は正常と変わりなく、 α グロビン遺伝子の発現が抑制されるメカニズムは分かっていない。筆者らは、患者における α グロビン遺伝子のメチル化状態を解析したが、そのプロモーター領域の異常メチル化が α グロビンの発現低下に関わっ

ているというデータは得られなかった。また、実際、Fig. 1 に示したように ATRX 蛋白は遺伝子発現抑制系として働くのに、なぜ、ATRX 遺伝子変異による ATRX の機能喪失により、 α グロビン遺伝子の発現が抑制されるのかは不明である。しかし、 α サラセミアを合併する骨髄異形成症候群 (ATMDS) の患者において、腫瘍細胞における ATRX 遺伝子の体細胞変異が検出され、ATRX 蛋白が α グロビンの発現に重要であることは間違いない¹⁹⁾。

精神遅滞に関わる標的遺伝子も不明であるが、最近、Berube ら²⁰⁾ は、マウスの実験により、ATRX 蛋白が神経細胞分化の早期における細胞生存に重要な役割を果たし、ATRX 遺伝子変異による神経細胞損失の増加がヒトにおける精神遅滞の原因となる可能性を示した。

IV. 最後

エピジェネティクスの関わる疾患は、発現調節異常を来している標的遺伝子が同定されると、その標的遺伝子自体には構造異常がないため、DNA のメチル化阻害剤、あるいは、ヒストンの脱アセチル化阻害剤などの薬剤療法により、遺伝子発現を正常化させることが、治療につながる。ATRX により発現調節を受ける遺伝子の発見、そしてそのメカニズムの解明により、エピジェネティクスと精神遅滞との関連が明らかになるばかりでなく、悪性腫瘍も含めたエピジェネティクス治療の開発に結びつくことが期待される。

動物実験ではあるが、ヒトと同じ哺乳類であるマウスで、母親から生後 3 週間引き離された子どもの脳の海馬で、グルココルチコイド受容体遺伝子がメチル化されることにより発現低下し、その後の行動障害の原因となり、たとえ短期間でも母親の養育態度によりエピジェネティクスの変化を介して子どもの一生の行動パターンを決定しようという論文が 2004 年に報告された²¹⁾。

また、ゲノム情報量は同一である雌のミツバチがロイヤルゼリーの摂取により妊孕性のある女王蜂になるか、あるいは不妊の働き蜂になるかの運命が決まることは知られていたが、そのメカニズムはロイヤルゼリー摂取による *Dnmt3* (DNA メチル基転移酵素) 遺伝子のメチル化であり、特定の栄養素摂取が発生の運命を変えることが 2008 年に報告された²²⁾。

一方で、ヒトにおいては、体外受精 (IVF) や卵細胞室内精子注入法 (ICSD) などの生殖補助医療とエピジェネティクス異常、特にインプリンティング関連疾患との関係が指摘され、非生理的な受精卵や胚の環境がエピジェネティクス機構の障害を惹き起こす可能性が示されている²³⁾。

本項で示したようにエピジェネティクスの破綻による疾患の多くが、ATR-X 症候群をはじめとする精神遅滞や自閉症などの発達障害を呈していることから、エピジェネティクスの破綻による脳における緻密な遺伝子発現の調節異常が精神・神経疾患の病態に関わっている可能性がある。遺伝学的要因だけでは説明の出来ない近年の発達障害児の増加には、何らかの環境因子によるエピジェネティクスへの影響も考慮しなければならぬのかもしれない。

エピジェネティクスはヒトの疾患における環境的

要因と遺伝的要因を結びつけるキーとなっている。

文献

- Gibbons RJ, Wada T. ATRX and ATR-X. In: Epstein CJ, Erickson RP, Wynshaw-Boris A, editors. *Inborn Errors of Development*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press; 2008. p.943-54.
- 久保田健夫. エピジェネティクス疾患研究の現状. *医学のあゆみ* 2005; 215: 107-11.
- Kurotaki N, Imaizumi K, Harada N, Masuno M, Kondoh T, Nagai T, et al. Haploinsufficiency of NSD1 causes Sotos syndrome. *Nat Genet* 2002; 30: 365-6.
- Higgs DR. Gene regulation in haematopoiesis: new lessons from thalassemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2004; 1-13.
- Gibbons RJ. Mutations in a putative global transcriptional regulator cause X-linked mental retardation with alpha-thalassemia (ATR-X syndrome). *Cell* 1995; 80: 837-45.
- Wada T, Kubota T, Fukushima Y, Saitoh S. Molecular genetic study of Japanese patients with ATR-X. *Am J Med Genet* 2000; 94: 242-8.
- 和田敬仁, 中村美保子, 松下友子, 山田美智子, 山下純正, 岩本弘子, 他. X-linked α -thalassaemia/mental retardation syndrome (ATR-X) の 3 症例. *脳と発達* 1998; 30: 283-9.
- Wada T, Sugie H, Fukushima Y, Saitoh S. Non-skewed X-inactivation may Cause Mental Retardation in a Female Carrier of ATR-X; X-inactivation Study of Nine Female Carriers of ATR-X. *Am J Med Genet A* 2005; 138: 18-20.
- Gibbons RJ, Wada T, Fisher CA, Malik N, Mitson MJ, Steensma DP, et al. Mutations in the chromatin-associated protein ATRX. *Hum Mutat* 2008; 29: 796-802.
- Yntema HG, Poppelaars FA, Derksen E, Oudakker AR, van Roosmalen T, Jacobs A, et al. Expanding phenotype of XNP mutations: mild to moderate mental retardation. *Am J Med Genet* 2002; 110: 243-7.
- Wada T, Gibbons RJ. ATR-X syndrome. In: Fisch GS, editor. *Genetics and Genomics of Neurobehavioral Disorders*. Totowa: Humana press; 2003. p.309-34.
- Gibbons RJ, Bachoo S, Picketts DJ, Aftimos S, Asenbauer B, Bergoffen J, et al. Mutations in tran-

- scriptional regulator ATRX establish the functional significance of a PHD-like domain. *Nat Genet* 1997; 17: 146-8.
- 13) Picketts DJ, Tastan AO, Higgs DR, Gibbons RJ. Comparison of the human and murine ATRX gene identifies highly conserved, functionally important domains. *Mamm Genome* 1998; 9: 400-3.
- 14) Gibbons RJ, McDowell TL, Raman S, O'Rourke DM, Garrick D, Ayyub H, et al. Mutations in ATRX, encoding a SWI/SNF-like protein, cause diverse changes in the pattern of DNA methylation. *Nat Genet* 2000; 24: 368-71.
- 15) Xie S, Wang Z, Okano M, Nogami M, Li Y, He WW, et al. Cloning, expression and chromosome locations of the human DNMT3 gene family. *Gene* 1999; 236: 87-95.
- 16) Hari Krishnan KN, Chow MZ, Baker EK, Pal S, Bassal S, Brasacchio D, et al. Brahma links the SWI/SNF chromatin-remodeling complex with MeCP2-dependent transcriptional silencing. *Nat Genet* 2005; 37: 254-64.
- 17) Bannister AJ, Zegerman P, Partridge JF, Miska EA, Thomas JO, Allshire RC, et al. Selective recognition on methylated lysine 9 on histone H3 by the HP1 chromo domain. *Nature* 2001; 410: 120-4.
- 18) Tang P, Park DJ, Marshall Graves JA, Harley VR. ATRX and sex differentiation. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15: 339-44.
- 19) Gibbons RJ, Pellagatti A, Garrick D, Wood WG, Malik N, Ayyub H, et al. Identification of acquired somatic mutations in the gene encoding chromatin-remodeling factor ATRX in the alpha-thalassemia myelodysplasia syndrome (ATMDS). *Nat Genet* 2003; 34: 446-9.
- 20) Berube NG, Mangelsdorf M, Jagla M, Vanderluit J, Garrick D, Gibbons RJ, et al. The chromatin-remodeling protein ATRX is critical for neuronal survival during corticogenesis. *J Clin Invest* 2005; 115: 258-67.
- 21) Weaver IC, Cervoni N, Champagne FA, et al. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci* 2004; 7: 847-54.
- 22) Kucharski R, Maleszka J, Foret S, et al. Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. *Science* 2008; 319: 1827-30.
- 23) Wilkins-Haug L. Assisted reproductive technology, congenital malformations, and epigenetic disease. *Clin Obstet Gynecol* 2008; 51: 96-105.