

スケール I (興奮性) : 16、II (無気力) : 9、III (常同行動) : 2、IV (多動) : 20、V (不適切な言語) : 2 とサブスケール I と IV で明らかにスコアが低下していた。学校での担任の評価も、服薬前に比較すると興奮性が改善し、学校での行動障害による問題も減少し、教育面では指導がしやすくなったと報告があった。家庭でも同様の評価が見られ、総じて社会的な問題行動が抑制され、適応が向上していた。問題となるような副作用は見られなかった。

D. 考察

我が国における脆弱 X 症候群の頻度は約 10,000 人に一人(難波)と言われ、諸外国に比較すると低い。しかし症状として自閉圏障害、AD/HD などの併存が見られ、知的障害とともに、それが社会適応を悪くしている。Hagerman はそのレビューの中で (Hagerman R et al. Pediatrics 2009) AD/HD については中枢神経刺激薬としてメチルフェニデート、また α -adrenergic receptor agonist のクロニジンを推奨している、またヨーロッパでは l-acetylcarnitine の治験が報告され、効果があるとされている。自閉症に起因するパニック、衝動行動と、情緒不安定に対して現在は第一選択としてリスペリドンがよいとされている。その他 dopamine blocker であるハロペリドールなども選択される。こだわり傾向が強い場合は SSRI も選択の一つである。

近年病態解明が進むにつれ、病態に応じた治療薬の治験も開始されている。MGlur5 antagonist、AMPA receptor positive modifier などの新たな治療法の開発が望まれる。

E. 結論

FXS は遺伝性の精神遅滞としてその分子遺伝学的病態が解明されつつある重要な疾患である。病態に応じた治療が望ましいが、従来の薬物を使用しながら本症に罹患した児の社会適応を改善するには、環境整備、周囲の対応に加えて、症状に応じた薬物を使用することが望ましい。

F. 健康危険情報

総括報告書に記載

G. 研究発表

1. 論文発表

Furusawa Y, Mori-Yoshimura M, Yamamoto T, Sakamoto C, Wakita M, Kobayashi Y, Fukumoto Y, Oya Y, Fukuda T, Sugie H, Hayashi YK, Nishino I, Nonaka I, Murata M: Effects of enzyme replacement therapy on five patients with advanced late-onset glycogen storage disease type II: a 2-year follow-up study. J Inherit Metab Dis. 2011(in press)

Monden Y, Yamagata T, Kuroiwa Y, Takahashi T, Mori M, Fukuda T, Sugie H, Momoi MY: A case of ADEM with atypical MRI findings of a centrally-located long spinal cord lesion. Brain Dev. 2011 (in press)

Oguma M, Morimoto A, Takada A, Kashii Y, Fukuda T, Mori M, Yamagata T, Sugie H, Momoi MY: Another promising treatment option for neuroblastoma-associated opsoclonus-myoclonus syndrome by oral high-dose dexamethasone pulse: Lymphocyte markers as disease activity. Brain Dev. 2011 (in press)

柚木佐与, 福田冬季子, 杉江秀夫, 水田耕一, 河原崎秀雄, 桃井真里子: 生体肝移植後糖尿病の発症に関与する因子とその予後 日本小児科学会雑誌 115 巻 9 号: 1411-1417、2011

井上元子, 山形崇倫, 門田行史, 英雅世, 森雅人, 福田冬季子, 野崎靖之, 長嶋雅子, 水口雅, 杉江秀夫, 桃井真里子: 急性脳症 40 例の臨床的検討 小児科臨床 64 巻 10 号 : 2215-2223

井上元子, 山形崇倫, 門田行史, 英雅世, 森雅人, 福田冬季子, 野崎靖之, 長嶋雅子, 水口雅, 杉江秀夫, 桃井真里子: 急性脳症 40 例の臨床的検討 小児科臨床 64 巻 10 号 : 2215-2223

杉江秀夫：腎障害をきたす全身性疾患-最近
の進歩：代謝疾患 糖原病
日本内科学会雑誌 100 卷 5 号 :1213-1219

- なし
- 2. 実用新案登録
なし
- 3. その他
なし

H. 知的所有権の取得状況

- 1. 特許取得

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

精神遅滞バイオリソースでの検討、遺伝ガイドライン

分担研究者 後藤 雄一 国立精神・神経医療研究センター神経研究所 部長

本研究では、日本人脆弱 X 症候群患者の集積をめざし、国立精神・神経医療研究センターにて行われている「精神遅滞バイオリソース」事業の DNA リソースを用いて遺伝子検査を行っている。本年度は、11 月 30 日現在までで同バイオリソースに新たに 27 症例の追加登録を行った。FMR1 もしくは FMR2 遺伝子の解析施設である鳥取大学には、105 家系(115 検体)を送付した。その結果、新たな Full-mutation の症例は見いだされなかったが、Premutation を持つ家系が 1 家系、中間的な延長をもつ家系が 1 例見いだされた。この中間的な延長をもつ患者は、別な精神遅滞を来す原因遺伝子である JARID1C 上に病的変異を有しており、FMR1 遺伝子のリピート延長がどのような効果をもたらしているか不明である。

A. 研究目的

脆弱 X 症候群（以下本症候群）は、精神遅滞や自閉症などの症状をもち、欧米では 4,000 から 6,000 人に 1 人の頻度と報告されている。原因遺伝子 *FMR1* および *FMR2* が解明され、欧米では遺伝子診断システムが確立し大規模な保因者スクリーニングが行われている。最近、モデルマウスに対し代謝型グルタミン酸受容体拮抗剤が有効との報告がなされ、治療への期待が高まっており、学会レベルではヒト患者への初期段階の治験も報告された。

我が国においては症例の蓄積が極端に少ないために、本研究ではより効率的な遺伝子診断システムを構築し、日本人症例を 50 例以上見だし、その特徴を明らかにするとともに遺伝子診断システムそのものを普及させることを目的としている。

B. 研究方法

国立精神・神経医療研究センターでは、

平成 15 年度から精神・神経疾患研究委託費を充当して、日本人「精神遅滞バイオリソース」を構築するために、患者及びその家族の血液及びリンパ芽球を収集し、同時に臨床情報を登録してきている。その中で、精神遅滞の病因の中で染色体異常に次いで多いとされる本症候群の遺伝子検査を行ってきた。本年度も同様にこのバイオリソースに登録された DNA 試料を FMR1 及び FMR2 の遺伝子検査に供する準備をした。

（倫理面への配慮）

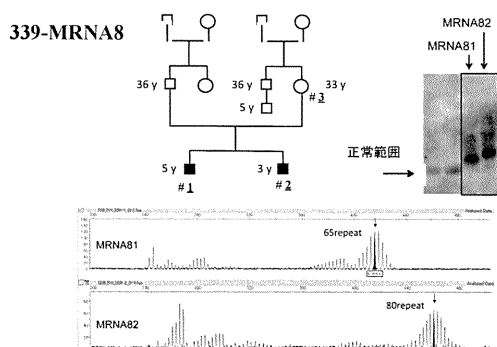
国立精神・神経医療研究センター倫理委員会に申請し、承認を得ている。

C. 研究結果

平成 23 年度は、「精神遅滞バイオリソース」に 27 家系の新たな登録があった。今年度は、DNA の解析担当の主任研究者難波先生に 105 家系(115 検体)を 6 月に送付した。また、12 月にはさらに 20 検体を追加送付した。

FMR1 遺伝子の CGG リピートに関しては、Full mutation (>200) の症例は見いだされなかったが、Premutation (50<, <200) を持つ家系が 1 家系、中間的な延長をもつ家系が 1 例見いだされた。

FMR1 Premutation の症例



D. 考察

今年度送付分 105 家系において、1 家系で保因者と考えられるリピートの延長 (65 リピートと 80 リピート) を認め、1 例で中間的な延長 (42 リピート) を認めた。

また中間的な延長を認めた症例においては、我々が独自に解析を行って遺伝子群の中で、JRAID1C 遺伝子内に 7 塩基の欠失を認め、本症例の精神遅滞の主たる原因はこの遺伝子によるものと推察された。一方で、この症例における FMR1 の CGG リピートのわずかな延長の病的意義は不明である。

しかし、同一患者で 2 つ以上の遺伝子変異が同時に存在して可能性は否定できず、網羅的な遺伝子解析の必要性を物語るものとして興味深い。

E. 結論

本年度は DNA 検索を行う準備として新たに 27 家系(11 月末日現在)の登録を行った。また保因者と考えられる家系が 1 家系見いだされた。また、中間的な延長 (42 リピー

ト) を認めた症例は他の病的変異を同時に有しており、その病的意義は不明であった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

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

2. 学会発表

(国際学会)

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

(国内学会)

なし

H. 知的所有権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金
(難治疾患克服研究事業)
平成23年度分担研究報告書

日本人の広汎性発達障害における脆弱X症候群

研究分担者 ○佐々木 司 東京大学大学院教育学研究科 健康教育学分野 教授

研究協力者 加藤佳代子 東京大学大学院教育学研究科 健康教育学分野

研究要旨： 自閉症スペクトラム障害 (Autism Spectrum Disorder: ASD)の男性当事者 79例における、脆弱X症候群の原因遺伝子領域であるFMR1 遺伝子 CCG 繰り返し領域について、その長さ、および ACG 挿入で区切られる実際の CCG 繰り返しについて検討を行った。長さ (および三塩基繰り返し数) は、全員で健常範囲におさまっていた。ACG の挿入で区切られる CCG の繰り返し数は、一部に 20 前後から 30 近くに達する例も見られたが、多くは 10 以下であった。

A. 研究目的

本分担研究の目的は、我が国の広汎性発達障害、特に自閉症、アスペルガー症候群などの自閉症スペクトラム障害 (Autism Spectrum Disorder: ASD)に、どの程度、脆弱X症候群が関連しているか、また小児の健診や自閉症スペクトラム障害当事者の診療に関わる我が国の保健・医療関係者が、脆弱X症候群に対してどの程度の知識と理解を有するかを明らかにし、広汎性発達障害当事者における脆弱X症候群の診断と将来の治療促進のための疫学的基礎知見を示すことにある。

H23年度は、ASD当事者における、脆弱X症候群の原因遺伝子領域であるFMR1 遺伝子 CCG 繰り返し領域について、その長さ、および領域内の ACG 挿入で区切られた CCG 反復数の分布を検討した。

B. 研究方法

ASD と診断される日本人男性当事者で、脆

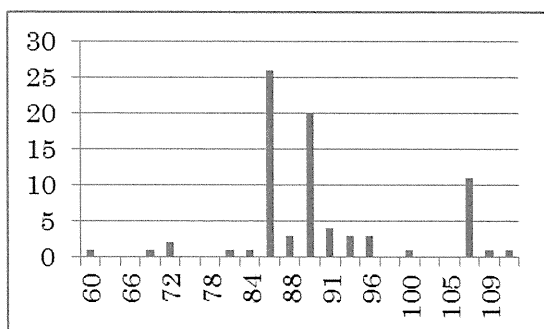
弱X症候群の原因遺伝子であるFMR1 遺伝子の CCG 繰り返し配列がどのような特徴を示すか、1) 特に脆弱X症候群が顕在化しない保因者レベルでの伸張がどの程度みられるか、2) また ACG による区切りごとにみた CCG 繰り返し数にどのような分布がみられるかを調べた。具体的には男性当事者から得られた抹消血由来のDNAで、CCG 繰り返し配列の領域をPCRで増幅、サンガーシーケンスにより配列を調べた。

C. 研究結果

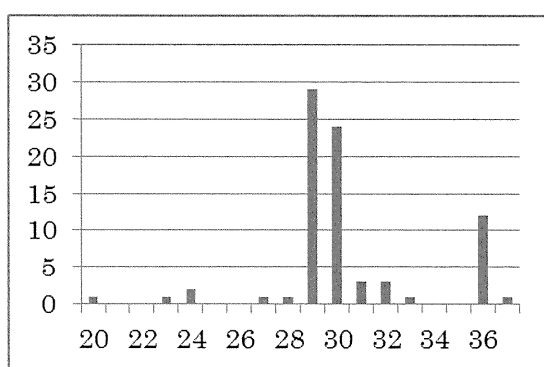
男子ASD当事者79例における、FMR1 遺伝子 CCG 繰り返し領域の長さの分布を、サンガーシーケンスの読み取り結果に従って図1に示す(横軸: bp, 縦軸: 人数)。「長さ」には一部、一塩基の挿入などによる3の倍数以外の長さも見られた(88bp, 91bp, 100bp および 109bp)。図1ではそのまま示してある。また、この繰り返し領域内には CCG 繰り返し以外に、ACG の挿入も複数見ら

れたが、この「長さ」は、それも含めたものである。これを三塩基繰り返し数に換算すると、図 2 の分布となる (88bp, 91bp, 100bp, 109bp は、それぞれ 29, 30, 33, 36 回繰り返りに含めてある)。

(図 1) 男性 ASD 当事者 79 名での FMR1 遺伝子 CCG 繰り返し領域の長さの分布 (人)



(図 2) 男性 ASD 当事者 79 名の FMR1 遺伝子の CCG 繰り返し領域における三塩基繰り返し数の分布 (人)



ACG の挿入で区切られた CCG の反復数は、多くの場合 10 回以下であったが、一部に 20 回前後から 30 回近くに達すると見られる例が観察された。具体的には、
 (CCG)8-ACG-(CCG)9-ACG-(CCG)16
 (CCG)9-ACG-(CCG)16-ACG-(CCG)9
 (CCG)10-ACG-(CCG)17
 (CCG)10-ACG-(CCG)18 (CCG)20-ACG-(CCG)9

(CCG)10-ACG-(CCG)20
 (CCG)10-ACG-(CCG)21
 (CCG)10-ACG-(CCG)26
 (CCG)29

などのパターンが 1-2 例ずつで見られた (最後のパターンについては再確認中)。

D. 考察

79 例と比較的少数例ではあるが、ASD 男性当事者における脆弱 X 症候群の原因遺伝子領域である FMR1 遺伝子 CCG 繰り返し領域について、その長さを検討した結果、全員が健常範囲におさまっていた。Full mutation のレベルや carrier レベル (gray zone) での伸長はいずれも観察されなかった。

また ACG の挿入で区切られる実際の CCG の繰り返し数は、一部に 20 前後から 30 近くに達する例も見られたが、多くは 10 以下であった。

今回 79 例と比較的少数であるが、末梢血由来 DNA を調べた結果では、日本人 ASD 男性当事者の FMR1 遺伝子では CCG の異常な伸長傾向を示す証拠は得られなかった。

F. 健康危険情報： 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表： Shimada T Kitamoto A, Ohtsu H, Kano Y, Kasai K, Kato N, Sasaki T 他 . Parental age and assisted reproductive technology in autism spectrum disorders, attention deficit hyperactivity disorder, and tourette syndrome in a Japanese population. Research in Autism Spectrum Disorder (in press)

Kawamura Y, Liu X, Shimada T, Otowa T, Kakiuchi C, Akiyama T, Umekage T, Sasaki T, (2011) Association between oxytocin receptor gene polymorphisms and autistic traits as measured by the Autism-Spectrum Quotient in a

non-clinical Japanese population. Asia Pac Psychiatry 3:128-136.

2. 学会発表：なし

H. 知的財産権の出願・登録状況：なし

厚生労働科学研究補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

鳥取県の脆弱 X 症候群およびその関連疾患についての研究

分担研究者：大野耕策 鳥取大学・医学部・教授

【研究要旨】

鳥取県では過去 40 年間で 4 家系 6 例の脆弱 X 症候群男性と 7 例の女性保因者を補足してきた。昨年度はこれらの症例を詳細に検討し、早期診断・早期治療にあたり、従来言われている大きな耳、大きな睾丸に加え、大柄または小柄な知的障害で、手指過伸展のある例を疑う必要があることを報告した。今年度この臨床的基準をもとに脆弱 X 症候群のスクリーニング検査を行ってきたが新規患者を見出すことは出来なかった。自閉症スペクトラム障害と知的障害を示す疾患の中で結節性硬化症、脆弱 X 症候群、*PTEN* 遺伝子異常は mTOR シグナルが関与し、将来治療が出来る可能性がある互いに関連のある疾患である。結節性硬化症はすでに難治性疾患克服事業「神経皮膚症候群調査研究」の対象疾患であるが、*PTEN* 遺伝子異常の日本人での頻度は明らかでなく、*PTEN* 遺伝子異常を示す患者のスクリーニングを開始した。

研究協力者

戸川雅美・鳥取大学医学部附属病院・助教
白井謙太郎・鳥取大学医学部・助教

診察し、*fMRI* 遺伝子の検査を行うようにする必要があると報告した。

今年度、これらの特徴を示す患者の *fMRI* 遺伝子検査を行い、鳥取県で見逃されている可能性のある脆弱 X 症候群を調査研究することを目的とした。

A. 研究目的

結節性硬化症の頻度は鳥取県米子市で 39 歳以下人口の 7000 人に 1 人の頻度で見られる優性遺伝性疾患で、脆弱 X 症候群は本研究斑での日本人の頻度は男性 1 万人に 1 人の頻度で見られる伴性劣性遺伝病と推計されている。

脆弱 X 症候群は過去 40 年間で 4 家系で男性患者 7 名、女性保因者 7 名が補足されている。昨年度、男性患者 7 名中 6 名の臨床情報が得られ、X 連鎖性の軽度～重度の知的障害で、過成長、成長障害、大頭～小頭、大きい耳介、手指関節の過伸展を注意して

B. 研究方法

鳥取大学医学部附属病院脳神経小児科は地域の知的障害、てんかん、脳性麻痺などの小児神経疾患の専門講座であり、自閉性スペクトラム障害も多く受診している。これらの中で、X 連鎖性の軽度～重度の知的障害で、過成長、成長障害、大頭～小頭、大きい耳介、手指関節の過伸展の見られる児について、患者家族の承諾を得て、鳥取大学生命機能研究支援センターの難波栄二

教授のもとに送り、FMR1 遺伝子の検索を行った。

C. 結果

X 連鎖性の軽度～重度の知的障害で、過成長、成長障害、大頭～小頭、大きい耳介、手指関節の過伸展の見られる児 8 例の FMR1 遺伝子解析を行ったが、FMR1 遺伝子異常を示す例はなかった。

D. 考察

昨年度の報告で、鳥取県では人口 10 万人当たり少なくとも 0.68 の患者と 0.85 人の保因者がいると推計し、この値からは男子 7 万人に 1 人となる。日本人の頻度は男性 1 万人に 1 人の頻度で見られるという本班での報告と比較して、鳥取県の頻度は少なく、見逃しがあると考えられたが、新たな患者を発見することは出来なかった。

結節性硬化症、脆弱 X 症候群、*PTEN* 遺伝子異常は mTOR シグナルに影響がおよぶ。結節性硬化症では mTOR 阻害剤によって、腫瘍性病変が改善し、てんかん、自閉症状の改善が見られることが知られている。脆弱 X 症候群の関連疾患として、結節性硬化症と *PTEN* 遺伝子異常はともに知的障害、自閉性障害をきたし、mTOR シグナルが関連する点で共通している。結節性硬化症は難治性疾患克服事業「神経皮膚症候群の調査研究」班の対象疾患で、鳥取県米子市の 39 歳以下人口 7000 人に 1 人の頻度で見られることが明らかになっており、病態研究、モデルマウス（ラット）を用いた治療研究が始まっている。

一方、*PTEN* 遺伝子異常は調べたかぎりでは日本人での報告はない。一方欧米では、

自閉性スペクトラム障害の 60 人中 5 人 (Varga EA, et al. Genet Med 11:111-117, 2009)、99 人中 7 人 (McBride KL, et al. Autism Res 3: 137-41, 2010)、知的障害発達障害の 49 人中 6 人、100 人中 8 人の頻度 (Varga EA, et al. Genet Med 11:111-117, 2009; McBride KL, et al. Autism Res 3: 137-41, 2010) で見られることが報告され、*PTEN* 遺伝子異常を持つ患者は全て +2.0SD 以上の大頭を示すことが明らかになっている。

今後、脆弱 X 症候群だけでなく、大頭を示す自閉性スペクトラム障害、知的障害、発達障害の中での *PTEN* 遺伝子異常のスクリーニングを行い、日本人集団での *PTEN* 遺伝子異常の頻度を求めて検討していく。

E. 結論

鳥取県では脆弱 X 症候群の臨床的特徴を再評価し、その評価に従って脆弱 X 症候群の新しい患者を見出す試みを行ったが、新しい患者は見出せなかった。

今後さらに新しい患者のスクリーニングとともに *PTEN* 遺伝子異常を持つ患者の頻度を求め、脆弱 X 症候群および *PTEN* 遺伝子異常の治療法開発に向けた基礎的研究を行っていく。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shimojima K, Isidor B, Caignec CL, Kondo A, Sakata S, Ohno K, Yamamoto T. New microdeletion syndrome of 5q31.3 characterized by severe developmental delays, distinctive

facial features and delayed
myelination. Am J Med Genet 155A:
532-6, 2011

- 2) Ueda M, Sugiura C, Ohno K, Kakita A,
Hori A, Ohama E, Vinters HV, Miyata
H. Immunohistochemical expression
of fibroblast growth factor 2 in
developing human cerebrum and

epilepsy-associated malformations
of cortical development.
Neuropathology 36:589-598, 2011

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

FXTAS とパーキンソン病に関する研究

研究分担者 中島 健二 鳥取大学医学部医学科脳神経医科学講座脳神経内科学分野教授
研究協力者 瀧川 洋史 鳥取大学医学部附属病院神経内科助教

研究要旨

脆弱 X 症候群は知的障害をきたす神経疾患であり、発症者では、原因遺伝子である FMR1 の CGG 繰り返し配列が 200 以上に伸張することが明らかとなっている。FXTAS (Fragile X associated Tremor/Ataxia Syndrome) は CGG 繰り返し配列が 55~200 の保因者をもつ男性において発症し、進行性の小脳失調・振戦を呈し、パーキンソン病 (PD) との関連が注目されている。本研究においては、FXTAS と PD について検討することを目的に、PD 症例のゲノム収集を行い、FMR1 遺伝子解析を行った。

A. 研究目的

脆弱 X 症候群は、精神遅滞や自閉症などの知的障害の原因となり、原因遺伝子として FMR1、および、FMR2 が明らかとなっている。FMR1 遺伝子の CGG 繰り返し配列が、正常では 6-40 回、中間型では 40-54 回であり、脆弱性 X 症候群は、FMR1 遺伝子の CGG 繰り返し配列が 200 以上 (full mutation) において発症し、繰り返し配列が 55~200

(premutation) を持つ保因者から生まれる。FXTAS (Fragile X associated Tremor/Ataxia Syndrome) は、full mutation の脆弱 X 症候群の類縁疾患で、FMR1 遺伝子の CGG リピートが 55-200 回程度の男性で発症する。成人期発症、進行性の小脳失調、企図振戦を 2 つの大臨床所見として、実行機能障害、認知障害、末梢神経障害、下肢近位筋の筋力低下、自律神経障害などを認める場合がある。そのため、パーキンソン病 (PD) と診断されている集団の中にまぎれている可能性があり、PD の病態を解明す

るうえで、その関連が注目されている。

本研究では、PD 症例の遺伝子解析を行い、FXTAS との関連性を検討し、ひいては、PD の病態解明に寄与することを目的としており、正確な臨床情報の整った PD 症例のゲノムを収集し、解析する。

B. 研究方法

1) PD ゲノム収集

鳥取大学医学部附属病院神経内科にて、外来、ならびに、入院診療を受けた PD 症例を対象とし、書面による同意が得られた症例から臨床情報と共にゲノムを収集した。

2) FMR1 遺伝子解析

鳥取大学生命機能研究支援センター遺伝子探索分野にて、キャピラリー DNA シークエンサーを用いて収集したゲノムを解析した。

(倫理面での配慮)

「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する

倫理指針」、「疫学研究に関する倫理指針」を遵守して研究を実施した。本研究について鳥取大学医学部倫理委員会の承認を得、本研究への参加者には、文書により研究内容や倫理的配慮について詳細に説明した後、書面にて同意を得て研究を実施した。

C. 研究結果

1) PD ゲノム収集

2011年4月から2012年3月までに、31例のPD症例のゲノムを収集した。

2) FMR1 遺伝子解析

PD111症例のゲノムを解析したところ110例は正常型であり、1例においてCGG繰り返し配列が42回と中間型であった。

D. 考察

1) 達成度について

鳥取大学医学部附属病院神経内科にて、外来、ならびに、入院診療を受けたPD症例を対象として、ゲノム収集を行い、FMR1遺伝子解析を行った。

この1年間の研究期間としての研究目標は、ほぼ達成できたと考える。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

PDとFXTASの遺伝子解析が進めば、PDの病態解明、治療薬の開発など国際的にも意義ある研究が可能となり、本研究を継続することにより、国際的研究に発展するものとする。

3) 今後の課題について

さらに多数例のゲノム収集を進める必要がある、多施設共同研究による研究の発展が望まれる。

4) 研究内容の効率性について

短期間の研究であったが一定の成果が得られ、ゲノム収集、遺伝子解析を開始でき、効率的に研究を進めることができた。

E. 結論

PDとFXTASとの遺伝子解析を行うためにゲノム収集を行い、キャピラリーDNAシーケンスを用いて解析した。1例においてFMR1遺伝子のCGG繰り返し配列が42回と中間型であった。

今後、本研究をさらに推進することにより、多数例でのゲノム解析が望まれる。

G. 研究発表

1. 論文発表

Uemura Y, et al. Mild Parkinsonian signs in a community-swelling elderly population. *Journal of the Neurological Sciences* 304: 61-66, 2011.

Nomura T, et al. Utility of the REM sleep behavior disorder screening questionnaire (RBDSQ) in parkinson's disease patients. *Sleep Medicine* 12: 711-713, 2011.

中下聡子, ほか. 多発性の脳微小出血を認めたパーキンソンニズム. *神経内科* 74: 324-326, 2011.

和田健二, ほか. レビー小体型認知症. *臨床と研究* 88: 9-12, 2011.

古和久典, ほか. Parkinson病患者における葉酸・ビタミンB12補充療法による高ホモシス테인血漿是正効果の臨床薬理的

検討—栄養障害関連因子の検討を含めて—
臨床薬理の進歩 32: 46-52, 2011.

和田健二, ほか. レビー小体型認知症
(DLB)・認知症を伴うパーキンソン病(PDD)
の治療. Geriatric Medicine 49: 787-794,
2011.

野村哲志, ほか. レム睡眠行動異常症の原
因とその対策. 水野美邦, 近藤智善, 監. よ
くわかるパーキンソン病のすべて. 改定 2
版, 大阪: 永井書店; 2011. p. 136-144.

古和久典, ほか. パーキンソン病における
認知症の臨床的特徴. 山本光利, 編.
Parkinson' s disease 2011. 東京: アルタ
出版; 2011. p. 51-59.

2. 学会発表

Takigawa H, et al. Prevalence of
Progressive Supranuclear Palsy in Yonago,
Japan.
15th EFNS congress

Nakashita S, et al. Parkinsonism in a
community-dwelling elderly population
sample in Japan.
15th EFNS congress

Nomura T, et al. Comparison of
polysomnographic findings and REM sleep
behavior disorder related symptoms
between patients with progressive
supranuclear palsy and those with
Parkinson' s disease.
World sleep 2011

Nomura T, et al. Update on RBD
Significance of REM sleep behavior
disorders in synucleinopathies such as
Parkinson' s disease.
World sleep 2011

Nomura T, et al. Difference in RBD
manifestation between tauopathy and
alpha-synucleinopathy.
The 5th International REM Sleep Behavior
Disorder Symposium

Takigawa H, et al. Plasma 25-(OH) vitamin
D levels in the patients with Parkinson
syndrome.
Advances and Controversies in B-Vitamins
and Choline

Kowa H, et al. Hyperhomocysteinemia and
cognitive dysfunction in Parkinson' s
disease
Advances and Controversies in B-Vitamins
and Choline

中下聡子, 他. 地域住民におけるパーキン
ソニズムの原因疾患についての検討
第 52 回日本神経学会総会

古和久典, 他. Parkinson 病における骨粗
鬆症関連マーカーの検討
第 52 回日本神経学会総会

瀧川洋史, 他. 鳥取県米子市における進行
性核上性麻痺 (PSP) の疫学的検討 第 2 報
第 52 回日本神経学会総会

田中健一郎, 他. 多様な精神症状を示した
若年発症パーキンソン病の1例
第104回日本内科学会中国地方会

河瀬真也, 他. 夜間発汗異常を呈したパー
キンソン病の1例
第90回日本神経学会中国四国地方会

田中健一郎, 他. 長期間のせん妄状態によ
り多様な精神症状を呈したと考えられた若
年発症パーキンソン病の1例
第5回パーキンソン病・運動障害疾患コン
グレス (MDSJ 学術集会)

野村哲志, 他. 睡眠医学と神経学 RLS と
RBD
日本睡眠学会第36回定期学術集会

野村哲志, 他. レム睡眠行動障害合併多系
統萎縮症とパーキンソン病でのMIBG心筋
シンチの相違

第64回日本自律神経学会

野村哲志, 他. パーキンソン病, 多系統萎
縮症におけるREM睡眠行動障害の経過
第41回日本臨床神経生理学学会

瀧川洋史, 他. パーキンソン病における基
礎代謝率とGhrelinおよびLeptinに関する
検討

第27回日本静脈経腸栄養学会

瀧川洋史, 他. パーキンソン症候群におけ
る25-(OH)ビタミンDに関する検討
第27回日本静脈経腸栄養学会

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
（分担）研究報告書

日本人脆弱X症候群および関連疾患の診断・治療推進の研究

研究分担者 石塚文平（聖マリアンナ医科大学産婦人科教授）

研究要旨：

早発卵巣不全（primary ovarian insufficiency ; POI）は40歳以下での続発性無月経で、不妊及び閉経後と同じ内分泌動態を示す卵巣機能不全である。現在までの研究でFMR1遺伝子5'UTR領域にあるCGGリピートの伸長が深刻な早発性卵巣老化及びPOFに広く関わっている可能性が示唆されているが、日本人のPOI患者におけるこれらのデータは未だ示されていない。そこで本研究では、日本人POI患者におけるCGGリピート数を調べ健康女性との比較検討を行った。その結果、日本人POF患者においても、CGGリピートの増加がPOIの病因に関与している可能性を示した。更に我々は、CGGリピートの増加に伴いFMR1のmRNA及びタンパク質量が変動することを背景に、それらの変動が卵巣機能に及ぼす影響を検討した。それらを明らかにするため、我々はまずFMR1の卵巣内機能についてFMR1ノックアウトマウスを用いてプロテオーム解析を行った。その結果、FMR1が欠落することで発現に差がある13タンパク質が同定された。このことから、これらのタンパク質がFMR1発現量の変動に伴い、卵巣内で増減している可能性が示唆された。

A. 研究目的

POI発症におけるFMR1の関与、さらに卵胞機能におけるFMR1の生理的役割の解明

B. 研究方法

POI患者の血液サンプルより、ゲノムDNAを抽出。ダイレクトシーケンスにてゲノムDNA上のCGGリピートの数をカウントした。本研究で用いた血液サンプルは、十分なインフォームド・コンセントを得た上で回収した。本研究は全て聖マリアンナ医科大学ヒトゲノム・遺伝子解析倫理委員会の承認を得て行われた。加えて、FMR1ノックアウトマウスの卵巣からタンパク質を抽出及び精製、トリプシン処理を行ったのちLC/MS/MSにてタンパク同定した。比較対象として、ヘテロノックアウトマウス及びWTマウスを用いた。

C. 研究結果

40以上に伸長したCGGリピートを有する割合が、健康女性の1.0%に比べPOI患者で

4.3%と有意に増加していることが示された（ $P < 0.05$ ）。POI症例の検討でCGGリピート38以上の症例はそれ以下のリピート数の症例と比較し発症年齢（閉経年齢）が有意に若かった。LC/MS/MSによる解析の結果、FMR1ノックアウトマウスとWTマウスの間で発現に差がある13タンパク質が同定された。

D. 考察

POI患者において、38~40以上に伸長したCGGリピートを有する割合が増加していたことから、38~40以上に伸長したCGGリピートがPOFの病因に付加的に関与している可能性が示唆された。今後さらに詳細な検討を加えることで、POI発症リスクの早期診断として使用できるかもしれない。また、FMR1が欠落することで発症が変動するタンパク機能を詳細に解析することで、卵巣内におけるFMR1の機能を明らかにし、POI発症とFMR1の関係について検討を加える。

E. 結論

FMR1 は卵巣機能の維持に関与していることが示唆された。

Number of CGG repeats in the FMR1 gene of Japanese patients with primary ovarian insufficiency. Fertil Steril, in press

F. 研究発表

[論文発表]

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

分担研究報告書

日本人脆弱 X 症候群および関連疾患の診断・治療推進の研究

SCA36 の RNA 病態メカニズム解析

分担研究者	松浦 徹	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	脳神経内科学
研究協力者	明地雄司	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	脳神経内科学
	池田佳生	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	脳神経内科学
	阿部康二	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	脳神経内科学
	小林 果	京都大学大学院医学研究科環境衛生学	
	小泉昭夫	京都大学大学院医学研究科環境衛生学	

研究要旨

遺伝性脊髄小脳変性症の遺伝子変異としてはマイクロサテライトリピートの異常伸長に起因する病型が多いことが判明している。我々が新たに同定した、小脳失調症と運動ニューロン疾患の特徴を併せ持つ新たな優性遺伝性脊髄小脳失調症 SCA36 (spinocerebellar ataxia type 36) の遺伝子変異は NOP56 (ribonucleoprotein homolog (yeast)) 遺伝子イントロン 1 内にある GGCCTG リピート異常伸長 (1700-2300 リピート) である。伸長 GGCCUG リピート転写産物が RNA レベルで分子病態に関与しているものと考え、検討を行った。SCA36 患者由来リンパ芽球を用いて伸長 AUUCU リピートの核内凝集体 (GGCCUG RNA foci) を確認し、さらに GGCCUG foci の核内局在について解析を加え、splicing speckle との共局在を認めた。また、伸長 GGCCUG リピート結合タンパクの検索を行い、スプライシング因子の一つである SRSF2 (serine/arginine-rich splicing factor 2) を同定した。SCA36 は FXTAS と同じく GC-rich RNA expansion disorder であり、共通の病態メカニズムが示唆される。

A. 研究目的

我々が最近同定した、小脳失調症と運動ニューロン疾患の特徴を併せ持つ新たな優性遺伝性脊髄小脳失調症 SCA36 (spinocerebellar ataxia type 36) の遺伝子変異は NOP56 (ribonucleoprotein homolog (yeast)) 遺伝子イントロン 1 内にある GGCCTG リピート異常伸長 (1700-2300 リピート) である(文献②)。この非翻訳領域リピート伸長が、何故ど

のように優性遺伝様式で病気を発症させるのかは十分に解明されていない。近年、同じく非翻訳領域にリピート異常伸長をもつ筋強直性ジストロフィーや脆弱 X 随伴振戦/失調症候群 (FXTAS) の RNA 病態が明らかになってきた。すなわち、伸長リピートが RNA に転写され、リピート転写産物が核内蛋白と RNA 凝集体 (RNA foci) を形成することにより、核内 RNA 蛋白制御不全をもたらすという

ものである。我々は、SCA36においても同様の病態が存在することを想定し、SCA36 RNA 病態を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

1) GGCCUG RNA foci 核内局在の解析

SCA36 リンパ芽球を用いて RNA-FISH で核内 GGCCUG foci 検出後、その核内局在を明らかにするために免疫蛍光法 (IF) を組み合わせ、核膜 (抗 Lamin B1 抗体)、核小体 (抗 nucleolin 抗体)、PML 小体 (抗 PML 抗体)、Cajal 小体 (抗 Coilin 抗体)、スペックル (抗 SC35 抗体)、傍核小体 (抗 CUGBP1 抗体) 等との共局在を FISH-IF により共焦点レーザー顕微鏡で観察した。疾患コントロールとして DM1、DM2、SCA10 細胞を用いた。

2) GGCCUG リピート結合タンパク同定

ESE (exonic splicing enhancer) finder を用いて GGCCUG 結合タンパクを探索し、SCA36 細胞での GGCCUG との共局在を FISH-IF で、*in vitro* では gel-shift assay (GSA) で検討した、

(倫理面への配慮)

本研究は 3 省指針を遵守し、文書による同意を得て行われている。

C. 研究結果

1) GGCCUG foci は splicing speckle に局在していた。疾患コントロールの DM1、DM2、SCA10 における CUG、CCUG、AUUCU foci とはその局在が異なった。

2) ESE finder 検索の結果、GGCCUG リピート結合タンパクとして SRSF2 (serine/arginine-rich splicing

factor 2) が候補タンパクとして考えられた。

FISH-IF の結果、SCA10 リンパ芽球において上記の 4 因子は、GGCCUG foci と共局在していた。GSA の結果、SRSF2 は用量依存性に GGCCUG と結合しており (CUG とは結合を示さず)、特異的結合が示された。

D. 研究発表

1. 論文発表

- ① Kaneko H, Kitoh H, Matsuura T Masuda A, Ito M, Mottes M, Rauch F, Ishiguro N, Ohno K. Hyperuricemia cosegregating with osteogenesis imperfecta is associated with a mutation in *GPATCH8*. *Hum Genet* 2011; 130:671-83.
 - ② #Kobayashi H #Abe K #Matsuura T (#equally contributed), Ikeda Y, Hitomi T, Akechi Y, Habu T, Yang LW, Okuda H, Koizumi A. Expansion of intronic GGCTG hexanucleotide repeat in NOP56 causes a type of spinocerebellar ataxia (SCA36) accompanied by motor neuron involvement. *Am J Hum Genet* 2011; 89:121-130.
 - ③ Ikeda Y, Nagai M, Kurata T, Yamashita T, Ohta Y, Nagotani S, Deguchi K, Takehisa Y, Shiro Y, Matsuura T, Abe K. Comparisons of acoustic function in SCA31 and other forms of ataxias. *Neurol Res* 2011; 33:427-432.
 - ④ Matsuura T, Minami N, Arahata H, Ohno K, Abe K, Hayashi YK, Nishino I. Myotonic dystrophy type 2 (DM2) is rare in the Japanese population. *J Hum Genet* 2011 in press
- ### 2. 学会発表
- なし。

E. 知的財産権の出願・登録状況（予定含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
杉江秀夫	オブスクローヌスミオクローヌス症候群	井村裕夫	症候群ハンドブック	中山書店	東京	2011	pp. 123
森雅人 杉江秀夫	ミトコンドリア病	小林祥泰 水澤英洋	神経疾患最新の治療 2012-2014	南江堂	東京	2012	pp. 340-4.
野村哲志, ほか	レム睡眠行動異常症の原因とその対策	水野美邦/ 近藤智善	改訂第2版 よくわかるパーキンソン病のすべて	永井書店	大阪	2011	136-144
古和久典, ほか	パーキンソン病における認知症の臨床的特徴	山本光利	Parkinson's disease 2011	アルタ出版	東京	2011	51-59

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
難波栄二	脆弱X症候群の分子機構と治療：医学のあゆみ	精神発達遅延・自閉症の分子医学	Vol. 239 No. 6	633-638	2011
Horiuchi Y, Iida S, Koga M, Ishiguro H, Iijima Y, Inada T, Watanabe Y, Someya T, Ujike H, Iwata N, Ozaki N, Kunugi H, Tochigi M, Itokawa M, Arai M, Niizato K, Iritani S, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, <u>Arinami</u>	Association of SNPs linked to increased expression of SLC1A1 with schizophrenia.	Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.	159B(1)	30-37	2012