

201128086B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

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

平成 22～23 年度 総合研究報告書

研究代表者 難波栄二

平成 24 年 (2012) 5 月

目次

I. 総括研究報告

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	1
難波栄二	
（資料 1）班員名簿	8
（資料 2）医師用 アンケート用紙	9
（資料 3）保健所用 アンケート用紙	10
（資料 4）小児神経学会会員からのアンケート集計	11
（資料 5）国際シンポジウム	12

II. 分担研究報告

1. 脆弱 X 症候群日本人高齢患者に関する研究	21
有波 忠雄	
2. 日本人脆弱 X 症候群の実態調査研究	24
杉江 秀夫	
3. 精神遅滞バイオリソースでの検討、遺伝ガイドライン	28
後藤 雄一	
4. 日本人の広汎性発達障害における脆弱 X 症候群	31
佐々木 司	
5. 鳥取県の脆弱 X 症候群および関連疾患についての研究	36
大野 耕策	
6. FXTAS とパーキンソン病に関する研究	39
中島 健二	
7. 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	44
松浦 徹	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	47
---------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	57
-----------------------	----

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

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

研究代表者 難波 栄二

鳥取大学 生命機能研究支援センター 遺伝子探索分野 センター長・教授

【研究要旨】

脆弱 X 症候群は知的障害の原因として重要であり、近年治療法の開発が進んでおり、近い将来実用化される可能性が高まっている。本研究では、1) 関連学会への大規模調査、鳥取県、東京大学こころの診療部などの調査から、広汎性発達障害の検査において検査が行われていないために脆弱 X 症候群が見つかっていないことが明らかになり、今回作られたスコア化された臨床スクリーニングなどで検査対象を広げることが重要、2) 中高齢の脆弱 X 症候群は健康上比較的安定しているが、心リズム異常に注意する必要がある、3) 42 例の患者が把握でき、臨床治療研究のため二次調査を進めている、4) リスペリドンが効果のある患者があり、症例ごとに効果的な治療が出来る体制が必要、5) パーキンソン病患者からは FXTAS は見つからなかったが、POI では CGG リピートが軽度延長している患者さんが多い、6) CGG 繰り返し配列延長モデルの作成を開始し、エピゲノムに注目した治療法の研究も開始、7) 小児神経学会と連携した研究を行い、国際シンポジウムを開催、などの研究活動を行った。今後、さらに脆弱 X 症候群の診断を普及し治療研究を推進することが重要である。

A. 研究目的

知的障害や自閉症の症状を呈する脆弱 X 症候群は原因遺伝子が解明され、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。さらに、臨床的治療法の開発が行われている。

平成 21 年度「日本人脆弱 X 症候群の実態調査研究」(厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業))の結果、

1) 日本人の脆弱 X 症候群の頻度は、男性 1 万人に 1 人程度、2) 日本での患者の把握は不十分で遺伝子検査の充実が必要、3) 日本人初の脆弱 X 関連振戦/運動失調症候群(FXTAS)患者の発見、そして4) さらに研究を推進し治療研究体制を作ることが重要との結論を得た。

そこで、本研究では新たに 3 名の研究者(中島、石塚、松浦)に参加していただき、

1. 患者の調査ならびに発掘のための検討、2. 遺伝子検査ならびに二次調査、3. 関連疾患(FXTAS、早期卵巣不全(POI))の検討、4. 病態解明ならびに治療法の検討、の研究を行い、5. 学会と連携し国際シンポジウムを開催することで治療研究の体制整備を図った。

B. 研究方法

1. 患者の調査ならびに発掘のための検討

(ア) 関連学会への調査(佐々木、難波): 小児神経学会小児神経専門医(1,022 名)、日本児童青年精神医学会(1,831 名)および日本小児精神神経学会(620 名)、さらに全国の保健所 653 施設に所属する保健師を対象にした。

(イ) 未診断例発掘のためのスコア化されたスクリーニング方法の検討(杉江): Randi Hagerman のチェックリストなどを参考に、日本人に向くリスト作成を試みた。

(ウ) 高齢脆弱 X 症候群患者の調査(有波): 遺伝子検査で診断が確定(FMR1 の full mutation)し、1984 年での年齢が 20 歳~51 歳の男性 11 人、女性 2 人が対象。長期経過観察の年齢は 45 歳~76 歳(平均 59.6

歳)。

(エ) 鳥取大学脳神経小児科(大野)、東京大学医学部附属病院こころの発達診療部における調査(佐々木): 鳥取大学脳神経小児科 40 年間の患者台帳、東京大学医学部附属病院こころの発達診療部のカルテから患者抽出を行った。さらに症状から疑われる児の遺伝子検査を行った。また、児童精神、小児精神の専門医に質問紙による調査も行った。

2. 遺伝子検査、二次調査、患者さんへの対応の検討

(ア) 本研究ならびに「精神遅滞バイオリソース」検体での検討(後藤、難波): 平成 15 年度に設立された日本人「精神遅滞バイオリソース」(国立精神・神経医療研究センター)の検体ならびに全国から送付された検体の解析を行った。

(イ) 二次調査の進行状況(難波): 遺伝子検査陽性例の二次調査を行なっている。

(ウ) 脆弱 X 症候群症例に対する教育機関との連携と薬物療法の検討(杉江): 対象は 8 歳男児。3 歳で言語発達遅滞、多動。症状は、やや大きい耳、腫れぼったい目、長い顔、斜視、時折、手を合わせて叩く常同行動。行動パターンは衝動行動、奇声。染色体検査、遺伝子検査で脆弱 X 症候群と診断。学校では、他児への他害行動、衝動行動があり、教員もその対応に苦慮。家庭でも時にパニックとなり、両親もその対応に難渋。睡眠障害あり。評価は Maes の報告した 28 項目のチェックリストをもとに一部修正した脆弱 X 症候群のチェックリストを使用。薬物療法前後で ABC-J で評価。

3. 関連疾患の検討(FXTAS と POI)

(ア) FXTAS 発掘のためパーキンソン病における遺伝子解析(中島): パーキンソン病 111 例を対象に遺伝子解析を行った。

(イ) 早発卵巣不全(POI)における FMR1 遺伝子解析(石塚): POF 患者の血液サンプルより、ゲノム DNA を抽出。健常女性

のゲノム DNA サンプルは医薬基盤研究所生物資源バンクより得た。ダイレクトシーケンスにて CGG リピートの数をカウントした。さらに、病態研究のため FMR1 ノックアウトマウス卵巣からタンパク質を抽出・精製、トリプシン処理を行い LC/MS/MS 分析を行った。

4. 病態解明ならびに治療法の検討

(ア) 人工染色体技術を使った脆弱 X 症候群の CGG 繰り返し配列の延長メカニズムの検討 (難波) : Anticipation 解明のため、延長したリピートをもつヒト X 染色体をもつマウス胚性幹 (ES) 細胞の樹立を目指し、米国 CCR (Corriell Cell Repositories) より購入した患者または保因者の細胞の X 染色体を人工染色体技術によりマウス細胞に導入した。

(イ) 脆弱 X 症候群のエピゲノム治療戦略の検討 (有波) : 重要な治療法である mGluR5 のシグナル伝達に係る SMARCA2 遺伝子の検討を行った。9 種類の患者の株化細胞を用い SMARCA2 と FMR1 の発現量、タンパク量、さらに RNAi による SMARCA2 の発現低下の影響を検討した。

(ウ) 脊髄小脳変性症のリピート延長メカニズムの検討 (松浦) : SCA10 の RNA 病態解析のため患者細胞を用い、RNA-FISH と免疫蛍光法を組み合わせ、核内凝集体を検討した。また、SCA36 の核内凝集体 NOP56 (ribonucleoprotein homolog (yeast)) 遺伝子のスプライシングパターンを real-time RT-PCR 法、ウエスタンブロット法などで検討した。

5. 学会との連携、国際シンポジウム

(ア) 日本小児神経学会との連携体制 (難波、杉江) : 日本小児神経学会で平成 20 年 5 月に構築された共同研究支援に申請した。

(イ) 国際シンポジウム (全員) : 本研究の成果ならびに国際共同研究推進のための国際シンポジウムを企画した。

(倫理面への配慮)

鳥取大学ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査委員会の承認ならびに関係機関の倫理審査委員会の承認を得ておこなった。アンケート調査は、東京大学ライフサイエンス委員会倫理審査専門委員会ならびに鳥取大学倫理審査委員会の承認を得て行った。さらに、検体を依頼した場合に迅速に倫理的な対応ができるように、ホームページに掲載している。

(<http://fragile-x.med.tottori-u.ac.jp/info1.html>)。POF の研究は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た。症例への薬物効果等の検討は自治医科大学倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1. 患者の調査研究、発掘のための検討

(ア) 関連学会等へのアンケート調査 : 小児神経学会小児神経専門医 1,022 人中 287 名 (28.1%) の回答を得た。本回答の中で脆弱 X 症候群の診断のついた例をもつ回答は、わずか 7 件 (13 例) であった。また、22 名 (7.6%) からは本研究に協力したくないとの回答を得た。日本児童青年精神医学会および日本小児精神神経学会の調査では、475 人 (26%) と 270 人 (44%) から有効回答が得られた。このうち本症の検査をした事がある医師は、それぞれ 44 人 (9.5%) と 62 人 (23%) であった。有効回答を行った医師が現在担当している広汎性発達障害当事者はそれぞれ、36,839 人および 15,645 人であり、このうち脆弱 X 症候群の検査は各 244 例 (0.66%) と 127 例 (0.81%) とわずかであった。検査で診断が確定した人数は、各々 31 人、16 人であった。検査方法では、染色体検査が各々 8.8%、22.2% に対して、遺伝子検査は 1% と 6% にしか過ぎなかった。保健所保健師に対する調査では、309 施設 (回収率 47.3%) から 391 通の回答を得た。脆弱 X 症候群という病気の名前を聞いたことがある保健師は 391 人中 47 人 (12.0%) にとどまった。さらに、

どのような疾患か知っている、と回答した保健師は 34 人 (9%) とさらに少なく、実際に脆弱 X 症候群と診断された子どもと関わった保健師は 6 人 (患者数は 10 人) のみであった。

(イ) 未診断例発掘のためのスコア化されたスクリーニング方法の検討: Johnson VA の行った 8 つのチェックリストにもとづいて検討した。そのなかで Mses が 2000 年に報告したチェックリストは Yes/No の解答で簡便であり、特に 6-12 歳の小児期の評価で優位性がある特徴がある。28 項目のうち yes が 17 項目以下の場合 FXS のリスクは 0%、17-25 であると 23.5%、26-28 で 82% であると報告している。今回このスクリーニング項目に精巣容量の項目を加え、また追記として DSM に準拠した診断も記入する事とした。小児期発症の本症にとって比較的使いやすいチェックリストが完成した。

(ウ) 高齢脆弱 X 症候群患者の調査: 25 年間の追跡経過中死亡はなかった。診断時は中度から重度の知的レベルであったが、25 年後の IQ テストにおいても特に知的機能に関して低下は見られなかった。最高齢の 76 歳と 70 歳の男性においても認知症を含めて知的レベルの低下は見られなかった。69 歳と 70 歳の男性において一過性の失調症状が見られたが、進行はなかった。てんかんは 5 人 (38%) に既往があったが、抗てんかん薬の中止にもかかわらず、追跡時には臨床的な発作は見られなかった。循環器系では洞不全症候群が 2 例 (13%) に見られているが、僧帽弁逸脱症や動脈輪拡大は見られなかった。1 例において高脂血症の治療をうけている。

(エ) 鳥取大学脳神経小児科、東京大学医学部附属病院こころの発達診療部における調査: 鳥取大学脳神経小児科の調査では、4 家系で男性患者 7 名、女性保因者 7 名が捕捉され、男性患者 7 名中 6 名の臨床情報が得られた。このうち男性患者 4 例と女性保因者 5 名が鳥取県内に在住していることを

確認した。鳥取県での有病率は人口 10 万対 0.68 人、女性保因者は人口 10 万対 0.85 人で、この値から推計すると日本人の患者数は 1,000 人前後、保因者数も 1,000 人前後と推計され、本研究班の患者推計 5,000 人と推計されている値と比べて少なく、鳥取県での捕捉率が少ないことが考えられた。延長した FMR1 のリピート数と知的レベルには関係はなく、5 名中 2 名は自閉症と診断された。身体的には過成長が 1 例、成長障害が 3 例、巨大耳介は 3 例、手指関節の過伸展は 1 例で、巨大睾丸は明らかでなかった。2006 年 4 月から 2009 年 3 月までに東京大学医学部附属病院こころの発達診療部を初診した 1975 年以後生まれの方で、広汎性発達障害と診断された (DSM-I V) 両親が日本人の方は、552 例 (男性 427、女性 124 例、初診時平均年齢 9.8 歳 (SD = 6.6 年)) であったが、脆弱 X 症候群の検査が行われた者は皆無 (0 名) であった。

2. 遺伝子検査、二次調査、患者さんへの対応の検討

(ア) 本研究ならびに「精神遅滞バイオリソース」検体での検討: 本研究では、合計 226 例 (うち精神遅滞バイオリソースから 137 例) の遺伝子検査が行われ、Full mutation 4 名 (4 家系)、Premutation 3 名の異常に加え、Intermediate 4 名が新たに明らかになった。

(イ) 二次調査の進行状況: 上記の 4 家系に加え、学会等の調査から明らかになった患者 38 名 (合計 42 名) の二次調査を行っている。現段階では、有効回答数 7 名、同意書がとれない方 1 名、連絡がとれない方 1 名となっており、年度末までには集計を終える予定である。

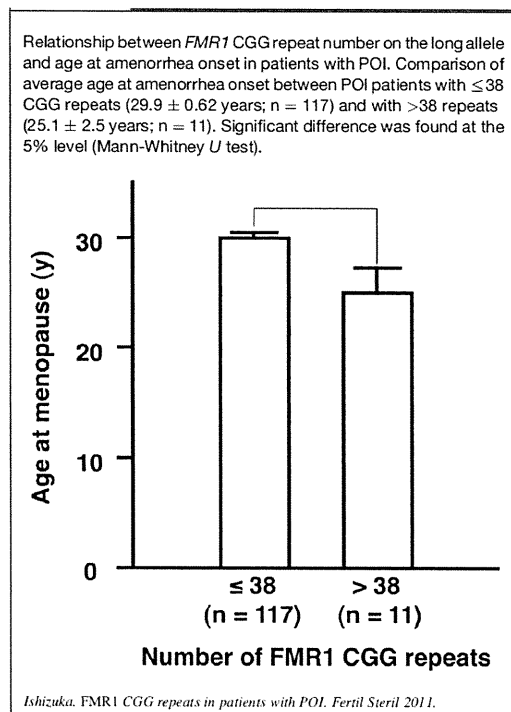
(ウ) 脆弱 X 症候群症例に対する教育機関との連携と薬物療法の検討: 学校での給食摂取の減少があり、メチルフェニデートをリスペリドンへ変更した。リスペリドン 0.5 → 1 mg/日 でやや食欲は増加したが、ABC-J での評価で明らかにスコアが低下し

改善した。学校での興奮性が改善し、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。家庭でも同様の評価が見られ社会的な問題行動が抑制され、適応が向上していた。副作用は見られなかった。

3. 関連疾患の検討 (FXTAS と POI)

(ア) FXTAS 発掘のためパーキンソン病における遺伝子解析：111 症例のうち 110 例は正常範囲であり、1 例では CGG 繰り返し配列が 42 回と中間型であった。

(イ) 早発卵巣不全 (POI) における FMR1 遺伝子解析：40 以上の伸長した CGG リピートを有する割合が、健常女性の 1.0% に比べ POI 患者で 4.3% と有意に増加している事が示された ($p < 0.05$)。 (図 1)



一方、40 未満の CGG リピート分布は、POF 患者と健常女性の間で顕著な差は見られなかった。この病態の解析のために、FMR1 ノックアウトマウスと WT マウスを LC/MS/MS により解析した結果 13 個のタンパク質に発現の差が認められた。

4. 病態解明ならびに治療法の検討

(ア) 人工染色体技術を使った脆弱 X 症候群の CGG 繰り返し配列の延長メカニズムの検討：マウス A9 細胞に保因者由来 X 染色体ならびに患者由来 X 染色体を 1 本導入することができ FMR1 遺伝子の発現、CGG の長さ、メチル化などの状態が保たれていることが確認できた。現在、この細胞を元に ES 細胞への導入を行なっている。

(イ) 脆弱 X 症候群のエピゲノム治療戦略の検討：full mutation の細胞でも、メチル化が外れ、株によって FMR1 を発現している細胞があった。RNAi により SMARCA2 は発現低下したが、FMR1 の発現に対する影響は有意ではなかった。full mutation の細胞では FMR1 の mRNA は見られても、FMR 蛋白は Western blotting 法ではほとんど観察されなかった。

(ウ) 脊髄小脳変性症のリピート延長メカニズムの検討：SCA10 では、AUUCU foci は傍核小体/エクソソームに局在し、MATRN3、PSF、p54nrb、PTBP1 の 4 種の蛋白と結合していた。FISH-IF の結果、SCA10 リンパ芽球において上記の 4 因子は、AUUCU foci と共局在していた。SCA36 患者の NOP56 RNA・タンパク発現レベル、スプライシングパターンは、コントロールと差がなかった。GGCCUG RNA foci を SCA36 患者特異的に認め、その局在は RNA 結合タンパク SRSF2 (serine/arginine-rich splicing factor 2) と共局在していた。Gel-shift assay の結果、(GGCCUG)₄ は SRSF2 と特異的に結合していた。

5. 学会との連携ならびに国際シンポジウム

(ア) 日本小児神経学会との連携体制：難波栄二は、2009 年 11 月 16 日付で日本小児神経学会共同研究支援委員会へ申請し、2010 年 2 月 18 日付で受理され支援が決定された。支援の形態は、小児神経学会機関紙「脳と発達」への掲載、および学会ホームページへの掲載に加え、本年度小児神経学会モーニングセミナーで発表された。また

調査研究の支援として小児神経学会専門医の名簿が小児神経学会より提供された。

(イ) 国際シンポジウム (全員) : 2012 年 2 月 10 日東京医科歯科大学において、岡澤均 (東京医科歯科大学)、Paul Hargerman、Randi Hargerman、難波栄二による公開国際シンポジウム「脆弱 X 症候群、自閉症、知的障害の最前線」を開催し、成果を発表する。(ポスター後述)

D. 考察

1. 患者の調査ならびに発掘のための検討 : 我々は、日本人男性では 1 万人に 1 人程度の患者が存在することを明らかにしており、日本人では 5,000 名程度の患者がいることが推測される。しかし、今回の大規模なアンケート調査において、把握されている患者数が著しく少なく、鳥取県の調査でも捕捉率が低いことが明らかとなった。これは、大規模調査のみならず東京大学こころの発達診療部においても、広汎性発達障害において検査がほとんど行われていない実態が明らかになっており、アンケート調査からは保健師のみならず医師の認知度が低いことが大きな問題であった。今後、今回作られたスコア化された臨床的スクリーニングの方法などを用いて、検査対象を広げることが重要である。症例の検討では、巨大睾丸などは診断の参考になりやすく、耳介や自閉症の症状などが参考になることがわかった。また、中高齢の脆弱 X 症候群患者は健康上比較的安定しており、知的障害の進行は目立たず認知症もみられないことが分かった。2 例に見られた心リズム障害は米国の報告からも、高齢の患者では注意を要すると考えられた。失調が 2 例に認められているが進行性ではなく、FMR1 遺伝子との関連は不明であった。

2. 遺伝子検査、二次調査、患者さんへの対応の検討 : 本研究により、4 家系の脆弱 X 症候群が明らかになり、今までに 42 例の患者さんが把握できた。さらに新しい患者さ

んの発掘とともに、治療研究のための二次調査を進めてゆく。忙しい医師に対して二次調査の協力が得られにくい状況があり、専門の研究者などの派遣を今後考えてゆく必要がある。1 例ではあるが、リスペリドンで症状が改善した例がある。外国で治験されている mGluR5 阻害剤などが検討できる体制を早急につくりたい。

3. 関連疾患の検討 (FXTAS と POI) : パーキンソン病 111 例からは premutation を見つけることはできなかったが、POI では CGG リピートの軽度延長 (Intermediate) が関係することが明らかになった。POI の病態解析のためにモデルマウス実験で 13 個の関連蛋白を見つけており、今後さらに解析を進める予定である。

4. 病態解明ならびに治療法の検討 : CGG 繰り返し配列が代を経ることによって延長するメカニズム (Anticipation) は未だ謎であり、CGG 繰り返し配列の部分だけをマウスなどに導入しても、Anticipation の再現は困難である。そのため、この解明に向けて、full mutation と premutation をもつヒト X 染色体全体をマウス細胞に導入するモデルを構築した。今後、これらのヒト X 染色体をもつモデルマウスを樹立する予定である。さらに、SMARCA2 遺伝子に注目したエピゲノム治療戦略の研究を開始している。同じリピーター延長をもつ脊髄小脳変性症の研究も行った。

5. 学会との連携ならびに国際シンポジウム : 小児神経学会などとの連携を強め研究を推進するとともに研究者のみならず患者向けの公開講座を開催してゆく予定である。

E. 結論

1) 関連学会への大規模調査、鳥取県、東京大学こころの診療部などの調査から、広汎性発達障害の検査において検査が行われていないために脆弱 X 症候群が見つかって

いないことが明らかになり、今回作られたスコア化された臨床スクリーニングなどで検査対象を広げることが重要となる。

2) 中高齢の脆弱 X 症候群は健康上比較的安定しているが、心リズム異常に注意する必要があると考えられた。

3) 本研究で 42 例の患者が把握でき、臨床治療研究のため二次調査を進めている。

4) リスペリドンが効果のある患者があり、症例ごとに効果的な治療が出来る体制が必要である。

5) パーキンソン病患者からは FXTAS は見つからなかったが、POI では CGG リピートが軽度延長している患者さんが多いことが明らかになった。

6) CGG 繰り返し配列延長モデルの作成を開始し、エピゲノムに注目した治療法の研究も開始した。

7) 小児神経学会と連携した研究を行い、国際シンポジウムを開催する。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Ishii K, Hosaka A, Adachi K, Nanba E, Taamaoka A. A Japanese case of Fragile-X associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS). *Internal Med.* 2010;49(12):1205-8.
2. 難波 栄二 脆弱 X 症候群の分子機構と治療:医学のあゆみ 精神発達遅滞・自閉症の分子医学 Vol.239 No.6、633-638、2011
3. Otsuka S, Sakamoto Y, Siomi H, Itakura M, Yamamoto K, Matsumoto H, Sasaki T, Kato N, Nanba E (2010) Fragile X carrier screening and FMR1 allele distribution in the Japanese population. *Brain Dev* 32:110-4.

2. 学会発表

1. 足立香織、藤井裕士、大野耕策、難波 栄二. 日本人脆弱 X 症候群の実態調

査の重要性. 第 52 回日本小児神経学会総会 2010 年 5 月 20 日-22 日福岡市

2. Eiji Nanba, Kaori Adachi, Kazuhiro Ishii, Yuji Nakayama, Yoshiyasu Kohno, Mitsue Yano, Chikako Sato, Tadao Arinami, Hideo Sugie, Yuichi Goto, Tsukasa Sasaki, Kosaku Ohno, Aya Narita, Yuji Fujii, Kenichi kashiwabara, Yasuo Hritani, Hiromitsu Watanabe, Fumitoku Segawa, Ichiro Nozaki. Japanese Cases of Fragile-X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS). The National Fragile X Foundation 12th International Fragile X Conference At-a-Glance AGENDA. July 21-25, 2010. Detroit, USA.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

“筋強直性ジストロフィー治療薬”(PCT/JP2010/06254 (WO) 出願人: 国立大学法人名古屋大学 発明者: 大野欽司、松浦 徹 2010.7.16.

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

日本人脆弱X症候群および関連疾患の診断・治療推進の研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	難波 栄二	鳥取大学 生命機能研究支援センター 遺伝子探索分野	教 授
研究分担者	有波 忠雄	筑波大学 大学院人間総合科学研究科 生命システム医学専攻 遺伝医学	教 授
	杉江 秀夫	自治医科大学 小児科学	教 授
	後藤 雄一	(独) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第二部	部 長
	佐々木 司	東京大学 大学院教育学研究科 体教育学コース 健康教育学分野	教 授
	大野 耕策	鳥取大学 医学部 医学科 脳神経医科学講座 脳神経小児科学分野	教 授
	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
	石塚 文平	聖マリアンナ医科大学 産婦人科学	教 授
	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	准 教 授
研究協力者	石井 一弘	筑波大学 大学院人間総合科学研究科 臨床医学系神経内科	准 教 授
	福田冬季子	自治医科大学 小児科学	講 師
	杉江 陽子	浜松医科大学 小児科	臨 床 教 授
	長嶋 雅子	自治医科大学 小児科学	助 教
	金生由紀子	東京大学 医学部附属病院	特任准教授
	島田 隆史	東京大学 大学院医学系研究科	大 学 院 生
	戸川 雅美	鳥取大学 医学部 医学科 脳神経医科学講座 脳神経小児科学分野	助 教
	河野 義恭	北九州市立総合療育センター	副 所 長
	矢野 光江	北九州市立総合療育センター	臨床検査技師
	佐藤 親子	北九州市立総合療育センター	臨床検査技師
	中山 祐二	鳥取大学 生命機能研究支援センター 遺伝子探索分野	助 教
	足立 香織	鳥取大学 生命機能研究支援センター 遺伝子探索分野	助 教

資料2 医師用 アンケート用紙

以下のアンケートにお答えください。

<全員に伺います>

Q.1

現在、先生ご自身が外来診療で担当している自閉症等の広汎性発達障害の患者さんはおおよそ何人くらいですか？ (人)

<全員に伺います>

Q.2

Q.1 の患者さんで脆弱 X 症候群に関する検査を行った方はおられますか？

(はい・いいえ)

「はい」とお答えの場合、何人くらいですか？ 現在担当の患者さんで[人]
以前担当した患者さんで[人]

<Q.2に「はい」とお答えの方に伺います>

Q.3

どのような検査をしましたか？また、その検査は、どのような場合に行いましたか？当てはまるものを全てお選びください。

- ① 染色体検査 (人)
- | | |
|---------------|----------------|
| A. 精神遅滞がある場合 | D. 顔貌から疑われた場合 |
| B. 家族歴が疑われた場合 | E. 巨大睪丸が疑われた場合 |
| C. 自閉症が疑われた場合 | F. その他() |
- ② 遺伝子検査 (人)
- | | |
|---------------|----------------|
| A. 精神遅滞がある場合 | D. 顔貌から疑われた場合 |
| B. 家族歴が疑われた場合 | E. 巨大睪丸が疑われた場合 |
| C. 自閉症が疑われた場合 | F. その他() |
- ③ その他の検査[](人)
- | | |
|---------------|----------------|
| A. 精神遅滞がある場合 | E. 巨大睪丸が疑われた場合 |
| B. 家族歴が疑われた場合 | F. その他() |
| C. 自閉症が疑われた場合 | |
| D. 顔貌から疑われた場合 | |

<Q.2に「はい」とお答えの方に伺います>

Q.4

検査で診断が確定した方は何人くらいですか？ (人)

<全員に伺います>

Q.5

検査は行っていないが、脆弱 X 症候群を疑われる患者さんはおられますか？

(はい [人] ・ いいえ)

Q.6

お差し支えなければ、ご回答くださった先生のご所属とお名前をご記入ください。

ご所属 _____ お名前 _____

資料3 保健所用アンケート用紙

以下のアンケートにお答えください。

<全員に伺います>

Q.1

脆弱 X 症候群【ぜいじゃくエックスしょうこうぐん・Fragile X syndrome】という疾患名を聞いたことがありましたか？

(はい・いいえ)

<全員に伺います>

Q.2

脆弱 X 症候群という疾患がどのようなものかご存知でしたか？

(はい・いいえ)

<Q.2に「はい」とお答えの方に伺います>

Q.3

脆弱 X 症候群に次のような特徴があることはご存知でしょうか？

当てはまるものを全てお選びください。

- A. 遺伝性の疾患である
- B. 発達の遅れがある
- C. 知的障害がある
- D. 自閉症の症状をしばしば伴う
- E. 特徴的な顔つきをしている
- F. 睪丸(こうがん)が通常より大きい
- G. 正常な寿命を全うする
- H. その他()

<全員に伺います>

Q.4

脆弱 X 症候群と診断されたお子さんに関わったことがありましたか？

「はい」とお答えの場合、何人くらいですか？

(はい [人] ・ いいえ)

<全員に伺います>

Q.5

これまで関わった発達障害の方に脆弱 X 症候群を疑う方はいますか？

「はい」とお答えの場合、何人くらいですか？

(はい [人] ・ いいえ)

Q.6

お差し支えなければ、ご回答くださった方のご所属とお名前をご記入ください。

ご所属 _____ お名前 _____

脆弱X症候群および関連疾患の診断・治療推進の研究 第一次調査 集計報告書

調査期間 平成23年3月4日 現在
回答数 287

1. 貴院または貴施設において、脆弱X症候群の診断のついた症例はございますか。
(最近5年間で受信された患者さま)

1:ある	7
2:ない	279
3:わからない・不明	0
4:無回答	1

ある場合には症例数をお教えてください。

13例

また、是非二次調査(検査の方法や臨床症状などの情報)にご協力いただきたくお願いいたします。
ご協力いただけますでしょうか。

1:協力できる	82
2:協力できない	32
3:わからない・不明	0
4:無回答	173

2. 本研究への協力について

本研究では、知的障害や自閉症の症状を持つ患者さまを対象に遺伝子検査で脆弱X症候群の診断を確実につけ、さらに病態解明のための遺伝子研究を行います。基本的には依頼検体をすべて受けつけ、遺伝子検査をそちらにお返しし、診療にも役立てていただく方針です。遺伝子検査の費用はすべてこちらで負担いたします。できるだけ多くの先生方にご協力いただきたいと思います。

本研究への協力に関して


1:協力したい	152
2:協力したくない	22
3:その他	48
4:わからない・不明	0
5:無回答	65

資料 5

International Symposium "Fragile X, Autism and Intellectual Disabilities"

公開国際シンポジウム「脆弱 X 症候群、自閉症、知的障害の最前線」

2012 年 2 月 10 日（金）、東京医科歯科大学 M&D タワー 2 階 鈴木章夫記念講堂



International Symposium "Fragile X, Autism and Intellectual Disabilities"

公開国際シンポジウム「脆弱 X 症候群、自閉症、知的障害の最前線」

14:00-14:40 Lecture 1
Molecular mechanisms and experimental therapeutics of novel cognitive disorders.
 新規知的障害症候群の分子メカニズムと治療開発
 Hiroshi Okazawa
 (Professor and Chairman, Department of Neuropathology, Tokyo Medical and Dental University)
 岡澤 均 (東京医科歯科大学 神経病理学分野)

14:40-15:40 Lecture 2
Molecular mechanisms of fragile X premutation disorders
 脆弱 X 症候群の保因者における分子メカニズムの解明
 Paul J. Hagerman
 (Professor, Department of Biochemistry and Molecular Medicine, University of California Davis, School of Medicine)

15:40-15:50 Break time

15:50-16:50 Lecture 3
Advances in targeted treatments for fragile X syndrome
 脆弱 X 症候群の治療における最新動向
 Randi J. Hagerman
 (Medical Director of the M.I.N.D. Institute, Endowed Chair in Fragile X Research, UC Davis Health System)

16:50-17:30 Lecture 4
The study of diagnosis and treatment of fragile X syndrome and related disorders in Japan.
 日本における脆弱 X 症候群および関連疾患の研究
 Eiji Nanba
 (Director and Professor, Research Center for Biotechnology and Technology, Tottori University)
 南波 栄二 (鳥取大学 生命機能研究支援センター 遺伝子探索分野)

Date: 14:00-18:00, February 10, Friday, 2012
 2012 年 2 月 10 日 (金) 14 時 00 分～17 時 30 分

Venue: Tokyo Medical and Dental University,
 Akio Suzuki Memorial Hall, M&D Tower 2nd Floor
 東京医科歯科大学 M&D タワー 2 階 鈴木章夫記念講堂

鳥取大学 生命機能研究支援センター
 鳥取県 11 年表紙(2012年) 鳥取大学 鳥取県 11 年表紙(2012年) 鳥取県 11 年表紙(2012年) 鳥取県 11 年表紙(2012年)

事前申し込み制(当日参加可)、参加費無料(学術関係者以外も参加可能です。但し、講演は英語です。)

参加申し込み・お問い合わせ先: 鳥取大学 生命機能研究支援センター 遺伝子探索分野
 TEL: 0859-32-6472 E-mail: idencoun@med.tottori-u.ac.jp
<http://fragile-x.med.tottori-u.ac.jp/index.html>

※日本小児神経学会専門医研修単位が与えられます。

Organized by:
 Foundation of Synapse and Neuronal Pathology, Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology
 Health and Labour Sciences Research Grants (Research on Intractable Diseases) "The study of diagnosis and treatment for fragile X syndrome and related disorders in Japan."
 Supported by: The Japanese Society of Child Neurology

共催:
 文部科学省-基盤科学研究(シナプス-サーキット/シグナルの形成)
 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患啓蒙研究事業
 「日本人脆弱 X 症候群患者の関連疾患の影響/治療法に関する研究」
 後援:
 日本小児神経学会

参加人数：63 名

Molecular Mechanisms and Experimental Therapeutics of Novel Cognitive Disorders

Hitoshi Okazawa

Professor, Neuropathology, Tokyo Medical and Dental University

We previously discovered a novel gene, polyglutamine tract-binding protein-1 (PQBP1) as a mediator of polyglutamine disease pathology (Waragai et al., *Hum Mol Genet* 1999; Okazawa et al., *Neuron* 2002). PQBP1 interacts with multiple polyglutamine diseases proteins including ataxin-1 and huntingtin. PQBP1 possesses a unique C-terminal domain (CTD) and a WW domain (WWD) conserved beyond species (*C. elegans*, *Drosophila* and *Arabidopsis*). PQBP1 interacts with a component of U5 spliceosome, U5-15kD via CTD, and another RNA binding protein, WBP11/NpwBP/SIPP or C-terminal tail of RNA polymerase II via WWD.

European Consortium of X-linked Mental Retardation (MR) identified that PQBP1 is a causative gene for non-syndromic MR and syndromic MR including Renpenning syndrome, Golabi-Ito-Hall syndrome and Sutherland-Haas syndrome. Recent analyses revealed the patient frequency among population is comparable to Rett syndrome, indicating the clinical significance of PQBP1.

We have investigated PQBP1 via multiple approaches, and found interacting partner molecules of PQBP1 (Waragai et al., *BBRC* 2000; Okazawa et al., *Neuron* 2002), revealed an intrinsically unstructured nature of CTD (Takahashi et al., *BBA* 2009, 2010), and made various animal models. *Drosophila* mutant of PQBP1 showed a defect in learning acquisition, which is caused by reduced expression of NR1 subunit of NMDA receptor in projection neurons (Tamura et al., *J Neurosci.* 2010). Correspondingly, knock down mouse model of PQBP1 showed anxiety-related cognitive impairment and reduced expression of NR1 (Ito et al., *Hum Mol Genet* 2009). An HDAC inhibitor, PBA recovered these phenotypes in both models. Meanwhile, overexpression of PQBP1 cause delayed degeneration of spinal motoneurons in mouse (Okuda et al., *Hum Mol Genet* 2003) and lifespan shortening in *Drosophila*.

We recently generated conditional KO mice of PQBP1, and found cell cycle regulation of neural stem cells underlies the microcephaly. I would like to show a new mechanism underlying PQBP1-linked of microcephaly.

新規知的障害疾患群の分子病態と実験的治療

岡澤 均

東京医科歯科大学 神経病理学分野 教授

私たちはポリグルタミン病の病態分子としてポリグルタミン結合タンパク 1 (PQBP1) を発見し報告した (Waragai et al., Hum Mol Genet 1999; Okazawa et al., Neuron 2002). PQBP1 は Ataxin-1, Huntingtin を含む多種類のポリグルタミン病原因タンパク質と結合する. PQBP1 は種(C. elegans, Drosophila and Arabidopsis)を超えて保存される C 末端ドメイン(CTD) と WW ドメイン(WWD)を持ち、CTD を介して U5 スプライソゾーム構成因子, U5-15kD と、WWD を介して RNA 結合タンパク, WBP11/NpwBP/SIPP および RNA ポリメラーゼ II と結合する.

近年、European Consortium of X-linked Mental Retardation が PQBP1 を症候性および非症候性の X 染色体伴性知的障害の原因因子として同定し、前者には Renpenning syndrome, Golabi-Ito-Hall syndrome, Sutherland-Haan syndrome が含まれる. 最近の報告によれば、欧米では Rett syndrome に近い頻度があると言われており、PQBP1 の臨床的重要性が指摘されている.

私たちは種々の手法を用いて PQBP1 機能解析と結合分子探索を行い(Waragai et al., BBRC 2000; Okazawa et al., Neuron 2002), CTD が天然変性タンパク質構造であることを示し(Takahashi et al., BBA 2009, 2010), さらに様々な動物モデルを作成してきた. ショウジョウバエ PQBP1 変異体は学習障害を示し、Drosophila NMDA 受容体の NR1 サブユニットが投射ニューロンで減少することが原因であることも示した (Tamura et al., J Neurosci. 2010). 同様に PQBP1 ノックダウンマウスでは不安関連認知障害を示した(Ito et al., Hum Mol Genet 2009). HDAC 阻害剤, PBA はこれらの症状をショウジョウバエ・マウスともに改善した. 一方、PQBP1 過剰発現は脊髄運動ニューロンの変性を示し(Okuda et al., Hum Mol Genet 2003)ショウジョウバエでも寿命の短縮を認めた.

私たちは PQBP1-cKO マウスを作成し、細胞周期異常を伴う小頭症を示すことを見いだしており、この点についても紹介したい.

Molecular advances in fragile X premutation disorders

Paul J Hagerman

Professor, Department of Biochemistry and Molecular Medicine, University of California Davis, School of Medicine

The fragile X (*FMR1*) gene is responsible for the leading inherited form of mental impairment (fragile X syndrome) and autism. This neurodevelopmental disorder is caused by large expansions (>200; full mutation) of a three-nucleotide (CGG) repeat in the gene. Remarkably, smaller repeat expansions (55 to 200 repeats; premutation) of the *FMR1* gene cause an entirely separate set of disorders: fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS), an adult-onset neurodegenerative disorder with features of Parkinsonism and dementia; fragile X-associated primary ovarian insufficiency (FXPOI), with onset of menopausal symptoms before age forty; and neurodevelopmental problems that include behavioral and intellectual problems, which can also include autism and seizures. Thus, the same gene is responsible for several different conditions, involving different groups of individuals and in different age ranges.

The pathogenic basis of the premutation-associated disorders is now believed to be the “toxicity” of the expanded CGG repeat in the *FMR1* mRNA. Thus, the mechanism underlying the premutation disorders, including FXTAS, is entirely distinct from the gene silencing and protein deficiency that causes fragile X syndrome. Although FXTAS is an adult-onset disorder, recent findings in animal models indicate that RNA toxicity is leading to neuronal dysfunction at or before birth, which could explain the developmental problems experienced by some children with the premutation. Evidence is also beginning to emerge as to how the CGG-repeat mRNA causes cellular dysfunction, and points to dysfunction of the nuclear proteins responsible for production of microRNAs.

脆弱 X 症候群保因者における分子メカニズムの研究の進展

Paul J Hagerman

Professor, Department of Biochemistry and Molecular Medicine, University of California Davis, School of Medicine

FMR1 遺伝子は、最も高頻度の家族性精神障害である脆弱 X 症候群および自閉症の責任遺伝子である。この精神発達障害は、*FMR1* 遺伝子の 3 塩基 (CGG) リピートの伸長 (200 リピート以上、完全変異 : full mutation) によって引き起こされる。驚くべきことに、比較的短いリピート伸長 (55~200 リピート、前変異 : premutation) が全く別種の疾患を引き起こす。それらの疾患には、パーキンソン病や認知症の特徴をもち、成人発症の神経変性疾患である脆弱 X 関連振戦/運動失調症候群 (FXTAS)、40 歳以前に更年期障害を発症する脆弱 X 関連原発性卵巣機能不全 (FXPOI)、さらには行動や情緒の不安定、自閉症やてんかんをも含めた神経発達障害などがある。つまり、同じ遺伝子が、異なる個体集団や年齢層といった種々の条件下において様々な疾患の原因となっているのである。

現在、これらの premutation 関連疾患の根本的病因は、*FMR1* mRNA 内の伸長した CGG リピートの“細胞毒性”と考えられている。脆弱 X 症候群は遺伝子の不活性化とそれによるタンパク質の欠損によって引き起こされることから、FXTAS を含む premutation 関連の疾患の発症メカニズムは、全く異なるものであるといえる。最近の知見では、FXTAS の動物モデルにおいて RNA による毒性が出生時または出生前の神経機能障害に関与していることが示されている。FXTAS は本来成人で発症することから、このような知見は premutation をもつ子どもに認められた発達障害を説明するために有用である。さらに、伸長した CGG リピートを含む mRNA がどのように細胞障害を引き起こすのか、あるいはそれらが microRNA の生産に関与する核タンパク質の機能不全にどのように関与するのか、研究が進められており、premutation 関連疾患の分子メカニズムの解明が期待される。

Targeted Treatments for Fragile X Syndrome, leading the way for autism

Randi Hagerman MD

MIND Institute, University of California Davis Medical Center

The phenotype of fragile X syndrome (FXS) is caused by the absence or deficiency of FMRP, an RNA binding protein that controls the translation of many messages important for synaptic plasticity throughout the lifespan. The absence of FMRP leads to up-regulation of numerous proteins including MMP9 and also over-activation of the mGluR5 pathway. Numerous targeted treatments have been tried in animal models of FXS and have reversed aspects of FXS. Currently several trials are underway in children and adults with FXS. These include minocycline which lowers MMP9 levels and down-regulates translation. Efficacy of minocycline has been demonstrated in open trials and the results of a controlled trial which was just completed will be presented. In addition a controlled trial of Arbaclofen, a GABA B agonist which lowers glutamate at the synapse, has been completed in children and adults with FXS with demonstrated efficacy for those with FXS and autism or social anxiety. Currently larger controlled trials are in progress in both FXS and in those with ASD. Two mGluR5 antagonists are currently being studied in FXS in controlled trials and there is evidence in the autism mouse model that these treatments will be helpful in autism without FXS. Lastly ganaxolone, a GABA A agonist is in a controlled crossover trial in FXS with evidence that this may also be helpful in autism. Although targeted treatments will change the long term prognosis of those with FXS and autism it is essential that optimal educational interventions take place in addition to medication trials to normalize synaptic connections and optimize cognitive and behavioral gains.

脆弱 X 症候群の標的治療が自閉症の標的治療を開拓する

Randi Hagerman MD

MIND Institute, University of California Davis Medical Center

脆弱 X 症候群 (FXS) は、RNA 結合タンパクである FMRP の欠如または不足によって起こる。FMRP は生涯を通じて、シナプス可塑性に重要な多くのメッセンジャーRNA のタンパク質への翻訳を制御している。FMRP の欠如により、MMP9 を含む多数のタンパク質が発現を亢進し、mGluR5 パスウェイが過剰に活性化される。これらの分子を標的として、現在までに、FXS の動物モデルを用いた多数の標的治療が試みられており、FXS の症状の改善が認められたため、近年では、いくつかの治験も小児と成人の FXS 患者で進められている。ミノサイクリンを含むこれらの治験では、MMP9 のタンパク質レベルが下がることが認められている。ミノサイクリンの有効性はオープン試験で既の実証されており、対照試験の結果と共に近く発表される予定である。また、シナプスでのグルタミン酸を低下させる GABA B アゴニストである Arbaclofen の対照試験が小児と成人の FXS で完了しており、FXS、自閉症、社会不安などに効果があることが実証されており、現在、FXS と自閉症スペクトラム障害の両方で、より大規模な対照試験が進められている。さらに、2 つの mGluR5 拮抗薬については、FXS 以外の自閉症に効果があることが自閉症マウスモデルで実証されており、FXS での対照試験が行われている段階である。GABA アゴニストである ganaxolone についても FXS 患者でのクロスオーバー試験が実施されており、自閉症改善に役立つ可能性が示唆されてきている。このような標的治療は患者のシナプスを正常化し、認知と行動を正常化するため、FXS と自閉症患者の長期予後を改善することが期待されるが、その一方で、最適な教育的介入が行われることもまた必要不可欠である。