

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）  
総括研究報告書

ATR-X症候群の臨床研究および基礎研究のための基盤整備に関する研究

研究代表者 和田敬仁 京都大学大学院医学研究科

研究要旨

臨床研究においては、全国の医療機関から確定診断あるいは鑑別診断としてATR-X症候群の責任遺伝子ATR<sub>X</sub>の解析依頼を受け、診断に貢献し、現在までに80例の分子遺伝学的および臨床的情報を蓄積している。診断基準、管理指針を作成し、今後の診療に役立つことが期待される。また、患者・ご家族および関係する医療者を含む多職種に対する勉強会を開催し、最新の情報を共有している。基礎研究においては、従来方法では解析できなかった女性保因者における体細胞モザイクの解析方法を確立した。また、3D-FISH法を用いた病態解析により、将来の治療薬の効果判定に役立つ可能性が示された。今後の臨床および基礎研究推進のためのバイオリソース基盤整備を進め、現在、病態解明および治療薬の開発のため、国内外との共同研究を進めている。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

岡本伸彦 大阪府立母子保健総合医療センター 部長  
小坂仁 自治医科大学 教授  
黒澤健司 神奈川県立こども医療センター 部長  
田辺秀之 総合研究大学院大学 准教授

A. 研究目的

精神遅滞(MR/ID:mental retardation/intellectual disability)は、全人口の約1~3%でみとめる、非常に頻度の高い病態であるが、癌などと異なり、積極的な治療法がないと考えられ、またその原因は非常に多様であるため、研究の対象となりにくく、診療面でも敬遠されている領域である。しかし、自閉症を中心とする発達障害と共に、その療育に対する社会的および経済的な負担は小さくない。よって、科学的な根拠に基づいた治療あるいは療育が求められるため、MRの解明は他の疾患同様必須である。

最近の研究の成果により、MRの原因として、エピジェネティクスが重要な役割を果たしていることが示されつつある。エピジェネティクスとは、ヒトの30億塩基対からなるDNAの遺伝情報以外の遺伝情報で、簡単には、DNAのメチル化を中心とするDNAへの化学的修飾やクロマチン構造の変化による遺伝子発現の制御機構である。近年、母親の子どもに対する養育態度、あるいは幼少時の栄養が遺伝子の働きを変化させ、一生の行動様式に

影響を与えることが動物実験で明らかにされ、疾患発症における、遺伝的要因と環境的要因を結びつけるものがエピジェネティクスであることが注目されている。

我々の研究の対象としているX連鎖性サラセミア・精神遅滞(ATR-X:X-linked  $\alpha$ -thalassemia/Mental Retardation)症候群は、重度精神遅滞、特異顔貌、□サラセミア、性分化異常、骨格異常、行動異常など多彩な症状を特徴とする奇形症候群であり、その責任遺伝子ATR<sub>X</sub>はX染色体に局在する、X染色体連鎖性精神遅滞症候群(MRXS)の一つである(図1-a)が、[Gibbons RJ et al., 1995]、非特異的X連鎖精神遅滞(MRX)の責任遺伝子でもある(図1-b)。

ATR<sub>X</sub>遺伝子は、DNAメチル化とともに、エピジェネティクス機構に関わるクロマチンリモデリング蛋白因子をコードしており、ATR-X症候群は、Rett症候群、Coffin-Lowry症候群、Rubinstein-Taybi症候群、ICF症候群、Sotos症候群、Kabuki-make-up症候群、Angelman症候群、Prader-Willi症候群などとともに、エピジェネティクス機構の破綻が病態と考えられている。すなわち、ATR-X症候群においては、ATR<sub>X</sub>遺伝子の機能喪失型変異により、複数の遺伝子(ATR<sub>X</sub>タンパクの標的遺伝子)発現調節異常が病態と考えられる。そのメカニズムは不明だが、少しずつ解明されてきている。

ATR-X症候群は、日本国内には約80名、世界的にも約200症例程度が診断されていると推測される、「稀少疾患」であるが、本症候群が周知されておらず、診断

されていない症例が多数存在することが推測されている。また、症例が少ないために、医療情報が不足し、患者・ご家族が不利益を被っている。

平成21-23年度、厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業により研究班を立ち上げ、臨床的研究および基礎的研究をすすめてきた。

平成25年度以降は以下を目標とした。

- ✓ 作成した臨床診断の妥当性の評価
- ✓ 患者の臨床情報のデータベース化の継続
- ✓ 家族会の開催による臨床情報をの共有化
- ✓ わが国のエビデンスに基づいた診断・診療および治療指針の作成
- ✓ 患者検体のリサーチリソースの構築と病態解明の基礎研究を推進

## B. 研究方法

全国の主治医から臨床的にATR-X症候群と診断あるいは疑われる患者をご紹介頂き、分子遺伝学的解析を行い、確定診断するとともに、臨床情報を収集した。

具体的内容に関しては、事項 3. 研究結果を参照。

(倫理面への配慮)

本研究では多数の施設の患者情報を収集するため、個人情報の保護には最大限の配慮をした。

本研究に際して、「臨床研究に関する倫理指針」、「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取扱いのためのガイドライン」、「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」をはじめ、各種指針・規範を遵守し、研究対象者の人権擁護と個人情報保護に十分配慮した上で研究を実施する必要があることを研究者間で確認した。

個人情報管理者は患者を定められた方法によって匿名化し、オフラインの専用コンピュータ内に情報を一括集積したうえで、このコンピュータを施錠可能なロッカーに保管した。

情報管理と倫理問題への配慮については、研究代表者が、研究全体における倫理的問題の有無について評価ならびに必要な対応を行なった。

## C. 研究結果

### 患者の臨床情報解析のための臨床的研究

#### 1. 患者臨床情報の収集およびデータベースの作成 (和田、黒澤、岡本)

#### 2. 患者データベースの管理 (和田)

現在までに、全国の医療機関から紹介された80名の患者の医療情報を登録している。より有効な活用のためのデータベースを構築中である。(図1)

#### 3. 診断基準(案)の妥当性の検討 (和田、黒澤、岡本)

診断基準(案)を作成・発表(アメリカ人類遺伝学会、2010年)した。症例数が増えると共に、非典型的な症例が増えることが予想され、医療者が効率的に診断するための診断基準(案)を改訂した。(資料1)

#### 4. エビデンスに基づいた診療手引きの作成と健康管理方法の検討 (和田、黒澤、岡本)

個々の患者の医療情報データベースをもとに、本疾患の自然歴を検討し、診断基準を確立し、個々の患者の健康状態にそった管理方法を検討し、より客観性の高い診療(診断・治療・支援)の手引きを作成した。(資料2)

#### 5. 患者・家族や医療者を対象にした情報提供 (和田、黒澤、小坂)

本症について有用で正確な情報をアクセスしやすく、かつ利用しやすい形で提供するために、ホームページ(ATR-X症候群ネットワークジャパン <http://kcmc.jp/ATR-X/index.html>)を作成し、医療情報を医療者および患者・家族と共有することにより、疾患の認知度を高めている。

また、平成21年度より開催してきた、X連鎖 サラセミア・精神遅滞症候群(ATR-X症候群)患者さんに関わる皆さんのための勉強会を平成25年度は、平成26年3月1日に特定非営利活動法人 希少難病患者支援事務局(SORD)の主催するR-7000 Live&Marketに協力して、第4回勉強会を京都市勧業館『みやこめっせ』で開催する。東北大学大学院薬学部 塩田倫史先生によりAtrxモデルマウスを用いた基礎研究に関してご講演(『ATR-X症候群モデルマウスの評価と症状改善薬の探索』)いただき、将来の治療研究の可能性について、患者・家族間と情報交換を共有した。(資料3、4)

## ATR-X病態解析のための基礎的研究

### 6. 細胞および分子遺伝学的解析 (和田、小坂、黒澤)

現在までに、全国の医療機関から紹介された80名の患者の分子遺伝学的診断をおこなっている。25年度中は、10例の検体を依頼され、うち4例でATRX遺伝子の変異を同定し、分子遺伝学的に確定診断した。(図2、資料5)

### 7. 患者検体の保存とリサーチリソースとしての活用 (和田、黒澤、岡本)

本疾患の病態解明のための基礎研究の推進のため、患者検体の保存と共に、研究者に検体を提供するためのリサーチリソースの基盤整備を行っている。

現在までに患者の皮膚線維芽細胞からiPS細胞の作成(熊本大学 発生医学研究所幹細胞部門 幹細胞誘導分野 江良 沢実教授)を行い、樹立(1例)あるいは樹立中(2例)である。

### 11. 病態解明のための3D-FISH法を用いた細胞分子遺伝学的な検討 (田辺)

エピジェネティクス破綻のメカニズム解明のため、3D-FISH法を用いた細胞機能学的解析を行い、ATRX遺伝子と標的遺伝子の一つであるグロビン遺伝子との空間配置を解析し、患者由来細胞においては正常者由来細胞とは異なる挙動を示した。今後、治療薬の効果判定に有用であるか、検討する予定である。

### 12. Atrxモデルマウスを用いた病態研究と患者さんへの臨床応用の検討 (和田)

東北大学大学院薬学部塩田倫史先生がAtrxモデルマウスを用いて病態解析をされている。特にゲノム上のGカルテット構造とATRXタンパクの関連に注目し、ある化学物質がAtrxモデルマウスの認知症状の改善に有効であるデータを蓄積中であり、現在、患者さんへの臨床応用にむけて、準備中である。また、本研究により樹立されたiPS細胞を用いた病態解析が始まっている。(図3)

#### 【国際的共同研究】

### 12. 海外研究グループとの情報交換および国際的な診断基準作成 (和田)

ATR-X 症候群の研究の第一人者である

Oxford大学RJ Gibbons教授の来日に伴い、"Understanding the role of the chromatin remodeling factor ATRX in health and disease"のタイトルでご講演いただき、臨床および基礎的研究における情報交換を行った(平成26年3月21日)。(図4)

#### D. 考察

臨床研究においては、現時点で、すでに80名の患者を登録しており、これは、日本で診断されている症例の9割以上の分子遺伝学的診断に関わり、かつ、ほとんどの症例の医療情報を把握していると推定される。

また、今年度のみで00症例の患者でATR-X症候群が疑われ、紹介されており、年々、その数が増加していることから、ATR-X症候群が医療関係者に周知され、鑑別診断として検討される機会が増えてきていることが想像され、論文発表、勉強会、ホームページが有効に働いていると考えられる。一方、日本国内では年間に、約5-10名の患者が出生していることを考慮すると、まだ、診断されていない症例が少なくないことが推測され、当疾患の更なる周知が必要である。

患者の医療情報のデータベース化は順調に進んでいるが、医療情報が不十分な症例もあり、今後の確認作業が必要である。

基礎研究においては、iPS細胞の樹立により、これを用いた病態解析が始まったばかりであり、今後の研究の進展が期待される。

東北大学大学院塩田倫史先生によるAtrxマウスを用いた研究により、病態解明とともに、治療法の可能性が出てきたため、患者のネットワークを介して、患者への投与に関する臨床研究の準備を進めている。

#### E. 結論

##### 1) 達成度について

臨床研究においては、上述したように日本国内の患者の9割以上を把握していると推定され、そのデータベースは充実しつつあると評価される。

基礎研究に関しても、病態解明に関するデータが蓄積され、また、それを検証するiPS細胞の樹立も進んでおり、今後の基礎研究の推進が期待される。

とくに、ある化学物質(すでに食品サプリメントとして販売されているものが)が治療法の候補となっており、患者への投与に向け、準備が進められている。

##### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

ATR-X症候群に関する臨床研究は世界では数少ないが、第一人者であるOxford大学RJ Gibbons教授とは定期的に情報交換し、今後国際的なデータを発表していくことが期待される。

また、ATR-Xタンパクが先天奇形症候群ではなく、悪性腫瘍の進展に関わる報告が増えてきていることから、本研究で樹立したiPS細胞の病態解析への利用が期待される。

### 3) 今後の展望について

臨床、基礎研究とも一層の充実が期待される。

### 4) 研究内容の効率性について

臨床研究を進める上での全国の主治医からの患者の紹介や医療情報の収集を今後も継続していく。

基礎研究に関しては、本研究による検体数の充実、iPS細胞化が進められており、また、基礎研究者との共同研究も継続しており、来年度以降の研究の進展が期待される。

## F. 健康危険情報

本年度2次募集による、後期からの研究開始ではあるが、来年度への研究継続へ向けて、順調に進んでいる。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 海老島優子、三崎貴子、大和謙二、奥野毅彦、和田敬仁、末廣豊. 喉頭軟化症による無呼吸発作を繰り返したX連鎖サラセミア・精神遅滞 (ATR-X) 症候群の1症例. 脳と発達 45:44-48, 2013.

2. 和田 敬仁, 小杉 眞司遺伝子診断の指針. 内分泌・糖尿病・代謝内科37:474-478, 2013.

3. 三宅 芙由, 和田 敬仁. 【クローズアップ 新しい子どもの病気】 奇形症候群 新しく発見された疾患 クロマチン異常症 (CHARGE症候群、Cornelia de Lange症候群、Coffin-Siris症候群). 小児内科4:1053-1055, 2013

4. 岡本伸彦「臨床医が知っておきたい先天異常」Coffin-Siris症候群 小児科臨床66:1383-1388, 2013

5. 岡本伸彦「Coffin-Siris症候群とSWI/SNFクロマチン・リモデリング複合体」小児科診療 76:1137-1141, 2013

6. 黒澤健司 先天異常の疫学 小児科臨床 2013;66:1201-1208.

7. 黒澤健司 ヒストン修飾酵素異常症 特集: エピジェネティクスと病. 遺伝子医学MOOK Vol.25 pp217-222, 201

8. Wada T\*, Ban H, Matsufuji M, Okamoto N, Enomoto K, Kurosawa K, Aida N. Neuroradiologic features in X-linked  $\alpha$ -thalassemia/mental retardation syndrome. Am J Neuroradiol 34:2034-8, 2013

9. Wada T\*, Haddad MR, Yi L, Murakami T, Sasaki A, Shimbo H, Kodama H, Osaka H, Kaler SG. A novel two-nucleotide deletion in the A TP7A gene associated with delayed infantile onset of Menkes disease. Pediatr Neurol. (in print)

10. Ohshiro-Sasaki A, Shimbo H, Takano K, Wada T\*, Osaka H. A three-year-old boy with glucose transporter type 1 deficiency syndrome presenting with episodic ataxia. Pediatr Neurol 50:99-100, 2014.

11. Kato H, Miyake F, Shimbo H, Ohya M, Sugawara H, Aida N, Anzai R, Takagi M, Okuda M, Takano K, Wada T\*, Iai M, Yamashita S, Osaka H. Urine screening for patients with developmental disabilities detected a patient with creatine transporter deficiency due to a novel missense mutation in SLC6A8. Brain Dev. 2013 Sep 14. [Epub ahead of print]

12. Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Mizuno S, Matsumoto N, Makita Y, Fukuda M, Isidor B, Perrier J, Aggarwal S, Dalal A, Al-Kindy A, Liebelt J, Mowat D, Nakashima M, Saito H, Miyake N, Matsumoto N. Coffin-Siris syndrome is a SWI/SNF complex disorder. Clin Genet. 2013 [Epub ahead of print]

13. Shimbo H, Ninomiya S, Kurosawa K, Wada T. A case report of two brothers with ATR-X syndrome due to low maternal frequency of somatic mosaicism for an intragenic deletion in the ATRX.J Hum Genet. (in press)

14. Watanabe T, Arai K, Takahashi M, Ohno M, Sato K, Fuchimoto Y, Wada T, Ida S, Kawahara H, Kanamori Y. Esophago-gastric motility and nutritional management in a child with ATR-X syndrome. Pediatrics International. (accepted)

### 2. 学会発表

1. 和田敬仁、伴紘文、松藤まゆみ、岡本伸彦、榎本啓典、黒澤健司、相田典子. 白質異常症としてのATR

- X症候群．第20回日本遺伝子診療学会（2013.7.18.浜松）
2. 和田敬仁．クロマチン病とATR-X症候群．第63回関西デイズモルフォロジー研究会（2013.9.28.大阪）
  3. 岡本 伸彦 先天異常とエピゲノム（オーバービュー）シンポジウム 第58回日本人類遺伝学会（2013.11.20-23.仙台）
  4. 黒澤健司、黒田友紀子、大橋育子、田上幸治、高野亨子、和田敬仁、井合瑞江、松井潔、小坂仁 自閉症・発達遅滞病因検索としてのマイクロアレイ染色体検査．第55回日本小児神経学会学術集会 2013.5.30-6.1 大分
  5. 黒澤健司 小児病院における次世代シーケンスの臨床応用（シンポジウム） 第53回日本先天異常学会学術集会 2013.7.21-23. 大
  6. Wada T, Tachikawa M, Ito S, Ohtsuki S, Shimbo H, Osaka H. A molecular genetic study of Japanese families of Creatine Transporter Deficiency. 63th Annual Meeting of American Society of Human Genetics. (2013.10.22-26.Boston)
  7. Naruto T, Kuroda Y, Ohashi I, Kurosawa K. Clinical application for gene disorders in children using bench top sequencer. 63rd American Society of Human Genetics, (2013.10.22-26.Boston)
  8. Okamoto N, Miya F, Tsunoda T, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K. Application of targeted next-generation sequencing in the diagnosis of pediatric neurological disorders. 63rd American Society of Human Genetics, (2013.10.22-26.Boston)
- H. 知的財産権の出願・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

## 作成上の留意事項

1. 「A. 研究目的」について
  - ・厚生労働行政の課題との関連性を含めて記入すること。
2. 「B. 研究方法」について
  - (1) 実施経過が分かるように具体的に記入すること。
  - (2) 「(倫理面への配慮)」には、研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と同意(インフォームド・コンセント)に関わる状況、実験に動物に対する動物愛護上の配慮など、当該研究を行った際に実施した倫理面への配慮の内容及び方法について、具体的に記入すること。倫理面の問題がないと判断した場合には、その旨を記入するとともに必ず理由を明記すること。  
なお、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成25年文部科学省・厚生労働省経済産業省告示第1号)、疫学研究に関する倫理指針(平成19年文部科学省・厚生労働省告示第1号)、遺伝子治療臨床研究に関する指針(平成16年文部科学省・厚生労働省告示第2号)、臨床研究に関する倫理指針(平成20年厚生労働省告示第415号)、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針(平成18年厚生労働省告示第425号)、厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針(平成18年6月1日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知)及び申請者が所属する研究機関で定めた倫理規定等を遵守するとともに、あらかじめ当該研究機関の長等の承認、届出、確認等が必要な研究については、研究開始前に所定の手続を行うこと。
3. 「C. 研究結果」について
  - ・当該年度の研究成果が明らかになるように具体的に記入すること。
4. 「F. 健康危険情報」について
  - ・研究分担者や研究協力者の把握した情報・意見等についても研究代表者がとりまとめて総括研究報告書に記入すること。
5. その他
  - (1) 日本工業規格A列4番の用紙を用いること。
  - (2) 文字の大きさは、10～12ポイント程度とする。