

201442058A

厚生労働科学研究委託費
難治性疾患実用化研究事業

「クロマチンリモデリング因子ATR^Xタンパクの異常により
発症するX連鎖 α サラセミア／精神遅滞症候群の
アミノレブリン酸による治療法の開発」に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 和田 敬 仁

平成 27 (2015) 年 3 月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究
委託事業による委託業務として、国立大学法人
京都大学 学長 山極壽一・代理人 医学・
病院構内共通事務部長 小谷和宏が実施した
平成26年度「クロマチンリモデリング因子ATRX
タンパクの異常により発症するX連鎖 α サラセミア
／精神遅滞症候群のアミノレブリン酸による
治療法の開発」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）

クロマチンリモデリング因子ATR-Xタンパクの異常により発症するX連鎖 α サラセミア/精神遅滞症候群のアミノレブリン酸による治療法の開発に関する研究	1
和田敬仁	
（資料）図1～7	

II. 委託業務成果報告（業務項目）

1. Atrx マウスを用いた5-アミノレブリン酸(ALA)の認知機能に与える影響の解析に関する研究	9
塩田倫史・福永浩司	
2. ATR-Xタンパクによる G4 構造制御機構の分子レベルでの解析に関する研究	11
杉山 弘	
3. 3D-FISH法を用いた細胞分子遺伝学的解析に関する研究	13
田辺秀之	
4. ATR-X症候群における行動異常に関する研究	15
岡本伸彦	
5. ATR-X症候群の遺伝子診断に関する研究	18
黒澤健司	
6. ATR-X症候群の分子遺伝学的診断と病態解析に関する研究	22
新保裕子	

III. 学会等発表実績

-----27

IV. 研究成果の刊行物・別刷

-----29

I. 委託業務成果報告(総括)

クレアチンリモデリング因子タンパクの異常により発症する X 連鎖 α サラセミア/精神遅滞症候群の
アミノレブリン酸による治療法の開発に関する研究

業務主任者 和田敬仁 京都大学大学院医学研究科

【研究要旨】 ATR-X 症候群の責任遺伝子 *ATRX* は X 染色体に局在し、男性患者で、 α サラセミア、重度知的障害を主症状とする、X 連鎖性精神遅滞症候群の一つである。責任遺伝子 *ATRX* のコードするタンパク *ATRX* は機能的に重要な 2 つのドメインを持つことからクロマチンリモデリング因子をコードし、ATR-X 症候群は *ATRX* タンパクの機能喪失変異により、エピジェネティクスのメカニズムが破綻し、*ATRX* タンパクによって発現調節される複数の遺伝子の発現異常が本症候群における多彩な症状の原因であると予想されている。近年、*ATRX* タンパクがゲノムの 4 重鎖構造（G4: G-quartet）に結合し、その下流の遺伝子発現に影響を与えることが報告された。本研究は、ATR-X 症候群の治療薬あるいは症状改善薬の開発を目的としている。基礎研究においては、将来の臨床治験に向けての前臨床 POC（proof of concept）の取得を目指し、*Atrx* モデルマウスを用いた解析（塩田・福永）、G4 構造に対する分子レベルでの解析（杉山）、3D-FISH を用いた薬剤の遺伝子発現と核内配置に与える影響の解析（田辺）を行っている。また、臨床的研究は、臨床治験に備えた患者の登録（和田）、診断業務と医療情報の収集や臨床評価法の開発（岡本・黒澤）、分子遺伝学的解析と病態解析（新保）を行っている。

A. 研究目的

精神遅滞・知的障害 (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/ID 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/ID 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 α サラセミア・精神遅滞 (ATR-X: X-linked α -thalassemia

/Mental Retardation) 症候群は、重度精神遅滞、特異顔貌、 α -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る（図 1）。現在までに日本国内では約 80 症例が診断されている希少疾患である [Gibbons RJ, Wada T, et al. *Hum Mutat*, 2008]（図 2）。

その責任遺伝子 *ATRX* は X 染色体に局在し、X 染色体連鎖性精神遅滞 (XLID: X-linked Intellectual Disability) 症候群の一つである（図 3）が、[Gibbons RJ et al., 1995]、非特異的 XLID の責任遺伝子でもある。

XLID の責任遺伝子は現在 100 個以上が知られているが、その遺伝子がコードするタンパクの機能により分類すると、その 22% は遺伝子の転写制御に関わる遺伝子であり、*ATRX* 遺伝子もこれに属している。[Lubs HA, et al. *Am J Hum Genet*, 2012]。

ATRX 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-makeup 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（図 4）。すなわち、ATR-X 症候群においては、*ATRX* 遺伝子の機能喪失型変異により、複数の遺伝子（*ATRX* 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が、そのメカニズムは不明な部分が多い（図 5）。

近年、近年、*ATRX* タンパクがゲノム上の 4 重鎖

構造 (G4: G-quartet) に結合することにより、その下流に存在する遺伝子の発現に影響をことが明らかになり、ATR-X 症候群の病態として、ATR-X タンパクの機能喪失変異により、複数の遺伝子発現が不適切に調節されることが原因となっていることが推測されている。[Law MJ, et al. *Cell*, 2010] (図6)。

本研究は、G4 構造結合・安定化作用をもつポリフィリン化合物がATR-X症候群の治療薬の可能性を見だし (図7)、前駆体として、健康食品としても使用されている5-アミノレブリン酸(ALA)をもちいたATR-X 症候群の治療薬・症状改善薬の開発である。ALAの新たな生理活性を用いた治療薬として、腫瘍や他のエピジェネティクス異常による疾患に応用できる可能性が期待される。

B. 研究方法

本研究は、将来の臨床治験を見据えて、前臨床POC(proof of concept)の取得を目指した基礎研究と基盤整備のための臨床研究からなる。(図8)

【基礎研究】

1. Atrx マウスを用いた5-アミノレブリン酸 (ALA) の認知機能に与える影響の解析 (塩田、福永)

Atrx マウスに対して、ALAを投与したところ、認知機能改善効果が有意差をもって確認された。

2. ATR-X タンパクによる G4 構造制御機構の分子レベルでの解析 (杉山)

ATR-X結合が示されている α ヘモグロビン遺伝子のプロモーターをターゲットにして、ルシフェラーゼ遺伝子を用いてレポーターアッセイ系を構築し、G4 構造形成と遺伝子発現の関係、G4 構造の安定化について分子レベルで解析した。VNTR領域にはG-quadruplexが形成されること、および、またプロトポリフィリン (ALAの代謝産物) はG-quadruplexに結合することも確認された。

3. 3D-FISH法を用いた細胞分子遺伝学的解析 (田辺)

3D-FISH法を用いた細胞機能学的解析により、ATR-Xタンパクと遺伝子の発現や染色体の核内配置を検討し、ATR-X患者由来線維芽細胞の細胞核での16pとXqテリトリーの染色体キッシ

ングが確認された。

【臨床研究】

4. ATR-X 症候群における行動異常に関する研究 (岡本)

ATR-X 症候群の特徴として、様々な行動異常が報告されている。大阪府立母子保健総合医療センターでの経験例について行動異常について詳細な検討を行った。ATR-X 症候群の治療目標として、行動異常の改善は重要課題のひとつであり、その評価方法は臨床治験時の効果判定に有用である。

5. ATR-X 症候群の遺伝子診断に関する研究 (黒澤)

次世代シーケンサーによるスクリーニング(メンデル遺伝病パネルスクリーニング)でATR-X症候群の疾患特異的変異が検出可能性であるか検討した。1/10544 の頻度で *ATR-X* の pathogenic variant が潜在していた。この値は、概算としては当研究グループが推測した一般集団での発生頻度(出生男児 58,000-73,000 人に1人)に近似していた。

6. ATR-X 症候群の分子遺伝学的診断と病態解析に関する研究 (新保)

臨床治験を行うにあたり、分子遺伝学的診断が確定診断を対象とすることは重要であり、また、異なる遺伝子変異をもつ患者に対する治療効果の相違は、ATR-X タンパクの機能解析にも有用である。今年度は、13 症例に対する ATR-X 遺伝子解析の依頼を受け、うち6 症例に対して遺伝子変異を検出した。また、特殊な遺伝子変異を持つ症例に対して、その病態を解析した。

C. 研究結果

基礎研究においては、ALA の有効性がモデルマウスを用いた実験に示され、そのメカニズムとして、G4 構造を介した薬理効果である可能性が示されつつある。臨床研究においては、臨床治験の基盤整備に向けて準備を進めている。

D. 考察

ATR-X 症候群の中枢神経症状に対する治療法としてのALAの有効性を示すデータがちくせきつつ

ある。本研究の成果は、他のエピジェネティクス破綻により発症する精神遅滞症候群に対する治療への応用も期待される。

E. 結論

来年度は、基礎研究においてはALA の有効性を患者由来 iPS 細胞を用いて解析し、前臨床 POC を取得していく。臨床研究においては、患者やご家族を対象とした勉強会を開催し、情報を交換しながら、将来の臨床治験に向けての基盤整備を進める。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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. 59: 408-10, 2014.
2. 和田敬仁【神経症候群IV 神経症候群(第2版)】
ATR-X症候群. 日本臨床別冊神経症候群IV
441-444, 2014

2. 学会発表

H. Shimbo, K. Kurosawa, N. Okamoto, S. Ninomiya, T. Wada. Molecular genetic study of 75 patients with X-linked alpha-thalassemia and mental retardation (ATR-X) syndrome in Japan. Annual Meeting of American Society of Human Genetics, San Diego, Oct. 18-22, 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1

ATR-X症候群とは?

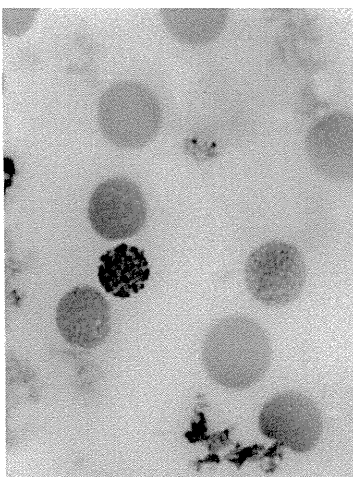
X-linked α -thalassemia/mental retardation syndrome

X連鎖

α サラセミア

精神遅滞

症候群

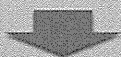


- 男性
- 発達の遅れ
- HbH 病(サラセミア)
- 特徴的な顔だち
- 外性器異常
- 骨格異常
- 特徴的行動
 - 自閉症的

(和田敬仁、脳と発達、1998年)

図2

発生頻度: 出生男児58,000-73,000 あたり1人



毎年、8人前後が発症していると推測される

診断されていない症例が多いことが推測される

世界に196家系

(2014.2 Gibbons教授・Oxford Univ.からの情報)

中国 ●



● 分子遺伝学的確定診断例(75例)

● 臨床的診断例(7例)

沖縄 なし

世界では約200症例が診断されている

日本国内のATR-Xと
診断された患者さん(81名)

図3

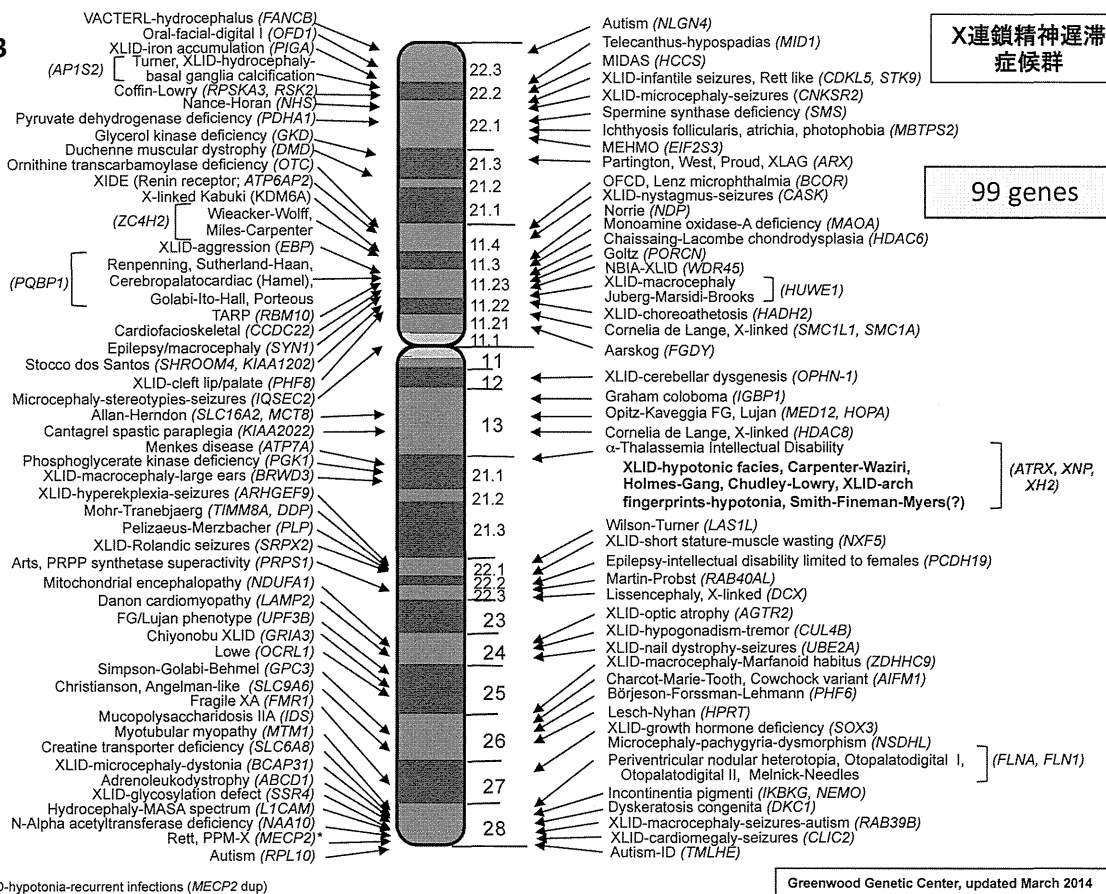


図4 遺伝子発現抑制におけるエピジェネティクス機構の4ステップ

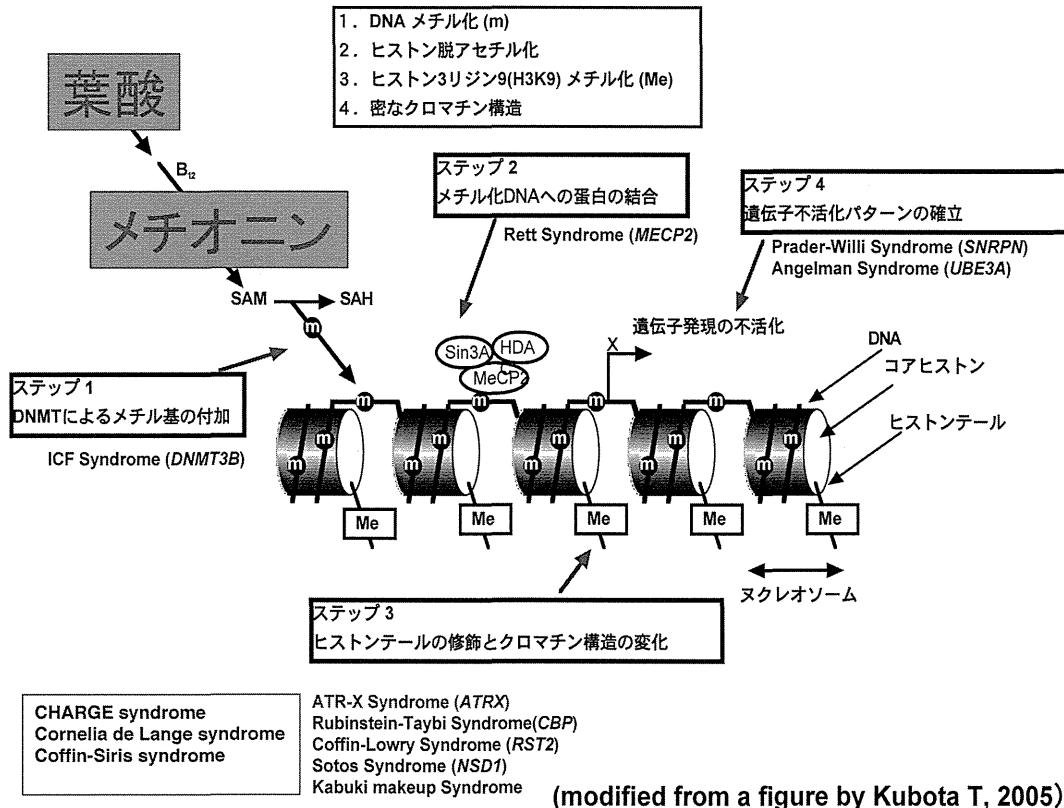


図5

ATR-X症候群 における病態

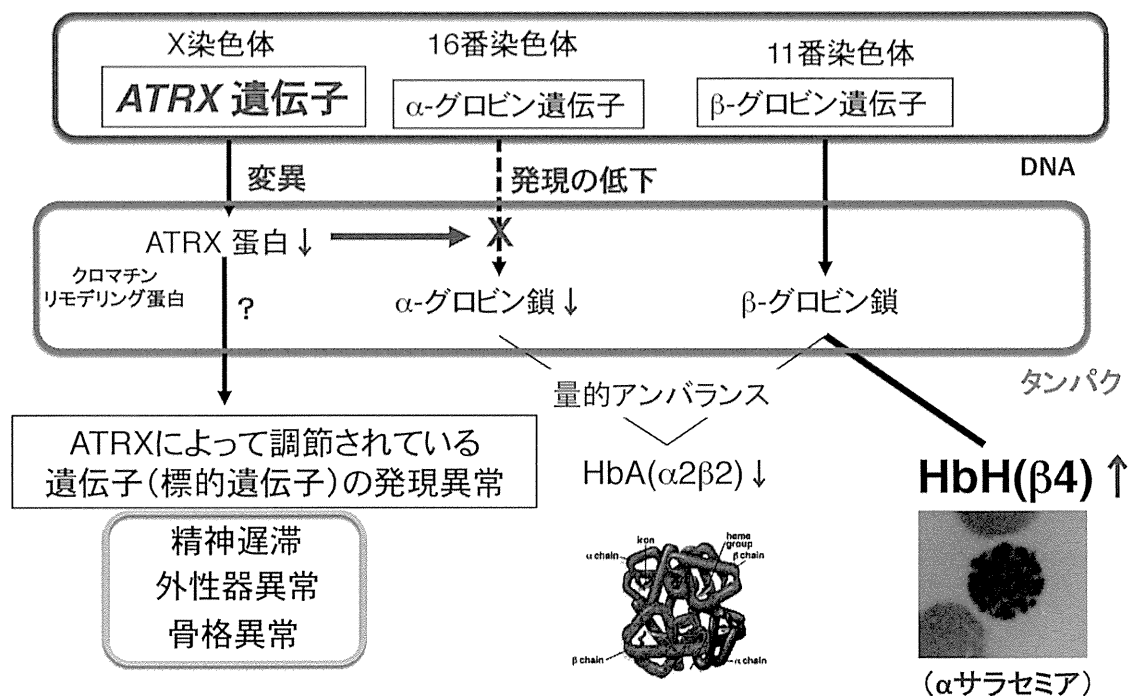


図6

2割の患者では、 α サラセミアを認めない

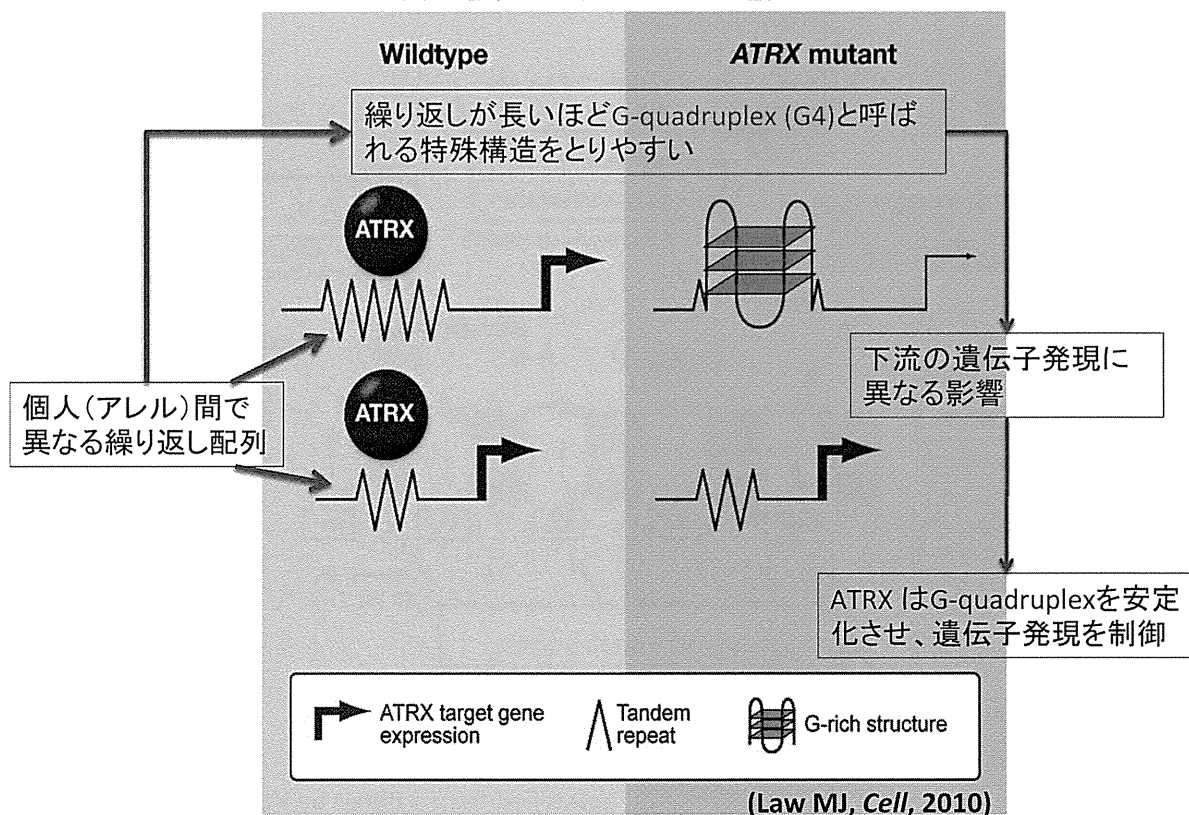


図7 G4-DNA構造安定化薬ポルフィリン化合物 (TMPyP4)によるAtrxマウスの症状改善

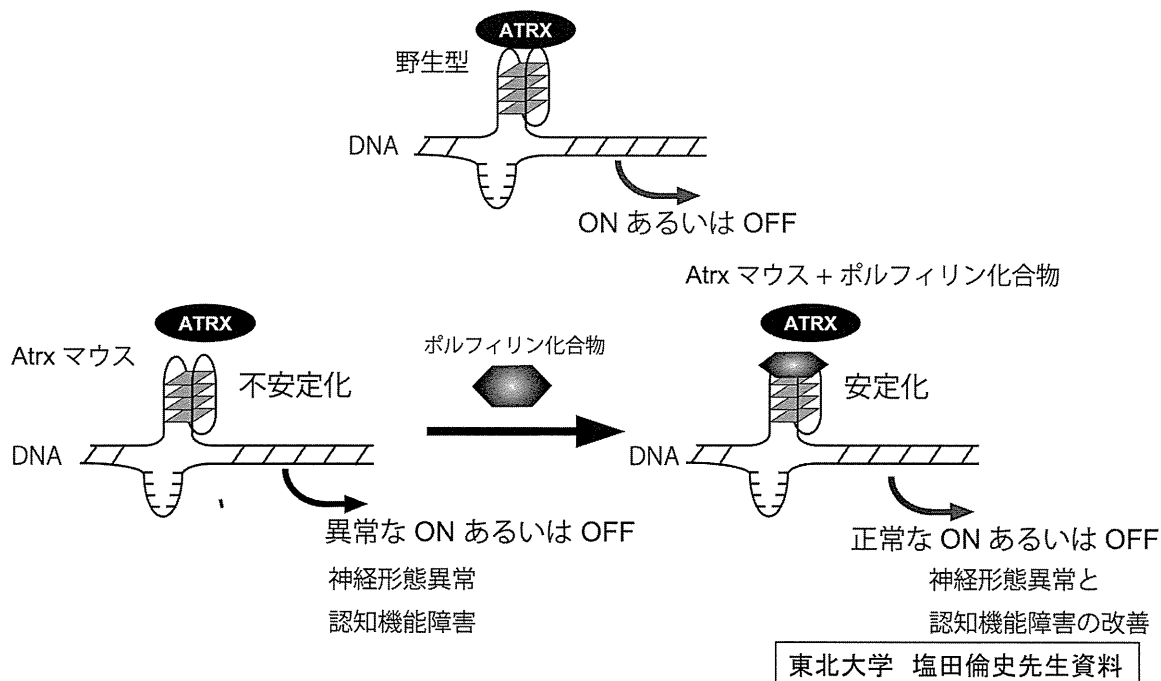
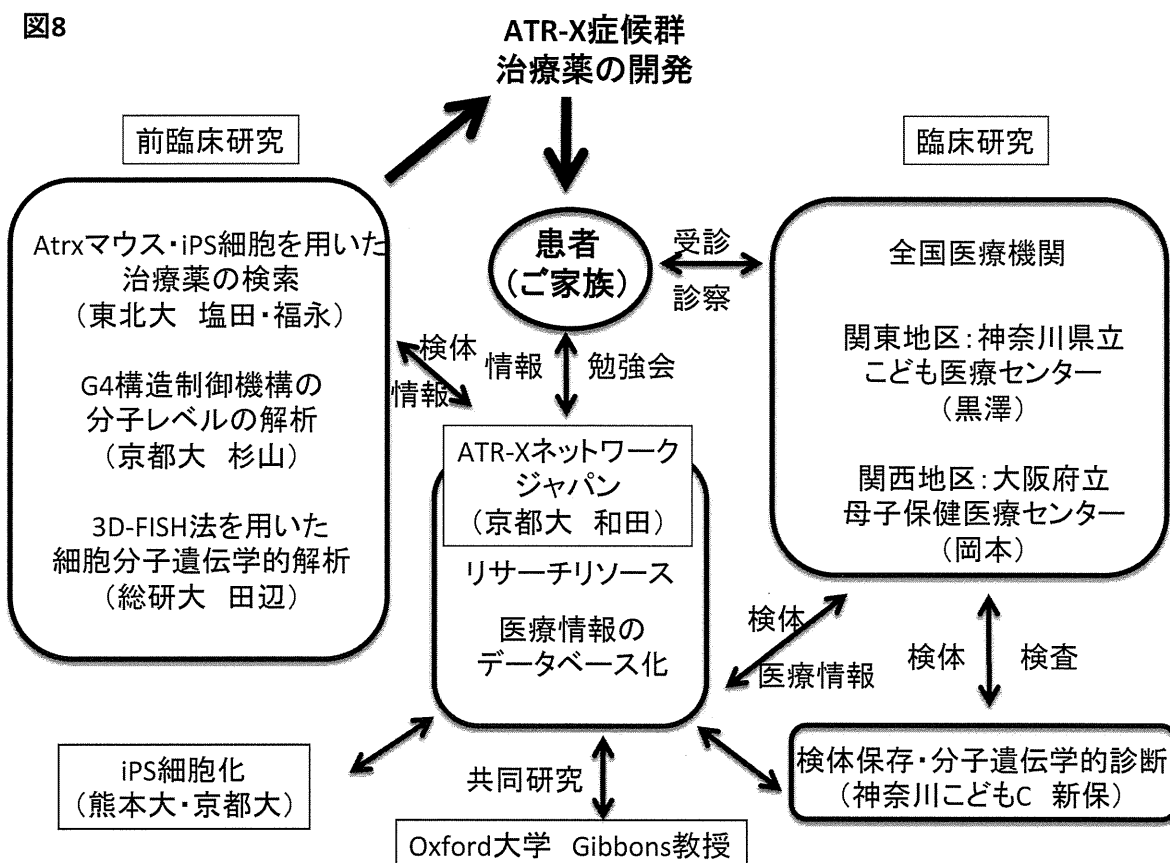


図8



Ⅱ. 委託業務成果報告(業務項目)

Atrx マウスを用いた 5-アミノレブリン酸(ALA)の認知機能に与える影響の解析に関する研究

担当責任者 塩田倫史・福永浩司 東北大学大学院薬学研究科

【研究要旨】 ATR-X 症候群は、*ATRX* 遺伝子の変異により発症する X 連鎖精神遅滞症候群の一つであり、エピジェネティクスの破綻により多臓器にわたる多彩な症状を呈する。ATR-X 症候群の病態として、ゲノム上の特別な構造（グアニン 4 重鎖構造：G4 構造）に *ATRX* タンパクが結合・安定化させ、近傍の遺伝子発現に影響を与えることが明らかとなっている。よって、患者においては、G4 構造に結合し安定化させる薬剤が治療薬の候補となることが期待される。私達は G4 構造安定化作用を有するポルフィリン化合物 *TMPyP4* の投与によりモデルマウス（*Atrx* マウス）における有意な認知機能改善効果が確認された。本研究は、生体内に存在するアミノ酸である 5-アミノレブリン酸(ALA)を生体内でポルフィリンを産生させるプロドラッグとして使用し、ATR-X 症候群の症状改善を目指し、*Atrx* マウスと 患者由来 iPS 細胞を用いてその有効性と安全性を検討することとする。本年度においては、*Atrx* マウスを用いて ALA が認知機能改善効果を示すこと、マウス神経芽細胞種 *Neuro2A* を用いて ALA が細胞核内 G4 構造に結合することを明らかにした。今後、患者由来 iPS 細胞を用いた解析を行う予定である。

A. 研究目的

ATR-X 症候群は、*ATRX* 遺伝子の変異により発症する X 連鎖精神遅滞症候群の一つであり、エピジェネティクスの破綻により多臓器にわたる多彩な症状を呈する。現在までに日本国内で約 80 症例が診断されている希少疾患である。本研究代表者は、平成 21-23 および 25 年度以降の難治性疾患克服研究事業の ATR-X 研究班代表として、ATR-X ネットワークジャパンを立ち上げ、臨床・基礎研究に取り組み、患者・ご家族と医療者の連携をとり、本研究を進めるための基盤整備にも取り組んでいる。2010 年、ATR-X 症候群の病態として、ゲノム上の特別な構造（グアニン 4 重鎖構造：G4 構造）に *ATRX* タンパクが結合・安定化させ、近傍の遺伝子発現に影響を与えることが明らかにされた。よって、患者においては、G4 構造に結合し安定化させる薬剤が治療薬の候補となることが期待され、G4 構造安定化作用を有するポルフィリン化合物 *TMPyP4* がモデルマウス（*Atrx* マウス）に行動薬理的に有意な認知機能改善効果をもたらしたことが確認された。本研究は、生体内に存在するアミノ酸であり、また、診断薬や健康食品としても使用されている 5-アミノレブリン酸(ALA)を生体内でポルフィリンを産生させるプロドラッグとして使用し、ATR-X 症候群の症状改善を目指し、*Atrx* マウスと 患者由来 iPS 細胞を用いてその有効性と安全性を検討することとする。

B. 研究方法

a. *Atrx*マウスを用いたALAの認知機能に与える影響の解析

*Atrx*マウスの学習行動解析は Y-maze test, Novel object recognition test, passive avoidance testを用いて評価した。ALA (3,10mg/kg) を4週齢から2か月間経口投与し、学習行動に有意に影響を与えるか検討した。

b. ALAによる G4 構造制御機構の細胞レベルでの解析

G4 構造結合抗体を用いて、細胞内のG4構造にALAが結合するか*Neuro2A*細胞を用いて検討した。ALAは10mMを4時間処置した。また、ポジティブコントロールとして*TmPyP4*(10μM, 4時間処置)とG4 構造との結合が予想される*ATRX* helicase domain cDNA plasmid を用いた。

C. 研究結果

a. Y-maze test, Novel object recognition test, passive avoidance testを用いて*Atrx* マウスの学習行動解析を行ったところ、ALA(3,10mg/kg)の慢性投与においていずれの用量においても有意な認知機能改善効果が認められた。

b. *Neuro2A*細胞においてG4構造の免疫染色性が核内で確認された。また、その染色性はALA(10mM) 処置により低下した。*TmPyP4*(10μM)と*ATRX* helicase domain 発現細

胞でも同様の染色性低下が確認された。

D. 考察

本年度において、Atrx マウスを用いて ALA が認知機能改善効果を示すこと、マウス神経芽細胞種 Neuro2A を用いて ALA が細胞核内 G4 構造に結合することを明らかとした。また、ATR X 蛋白質は Helicase domain を介して G4 構造に結合することが明らかとなった。

今後、Atrx マウスと患者由来 iPS 細胞を用いて、ALA の効果以下の点で解析する予定である。

- 1) 神経細胞の形態学的異常の改善効果
- 2) マイクロアレイを用いた脳内遺伝子発現異常の改善効果

E. 結論

本年度において、Atrx マウスを用いて ALA が認知機能改善効果を示すこと、マウス神経芽細胞種 Neuro2A を用いて ALA が細胞核内 G4 構造に結合することを明らかとした。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

ATRX タンパクによる G4 構造制御機構の分子レベルでの解析に関する研究

担当責任者 杉山弘 京都大学大学院理学研究科

【研究要旨】 ATR-X 症候群の責任遺伝子 *ATRX* は、コードするタンパクが機能的に重要な 2 つのドメインを持つことからクロマチンリモデリング因子をコードし、ATRX タンパクの機能喪失変異により、エピジェネティクスのメカニズムが破綻し、ATRX タンパクによって発現調節される複数の遺伝子の発現異常が ATR-X 症候群における多彩な症状の原因であると予想されている。近年、ATRX タンパクがゲノムの 4 重鎖構造 (G4: G-quartet) に結合し、その下流の遺伝子発現に影響を与えることが報告された。本研究は、ATRX タンパクによる G4 構造制御機構の分子レベルでの解析を行うことにより、ATRX タンパクにより発現調節を受ける遺伝子 (ATRX 標的遺伝子) を探索するとともに、現在開発中の治療薬の G4 に対する影響を解析することを目的としている。ATRX 結合が示されている唯一の標的遺伝子 α グロビン遺伝子のプロモーターをターゲットにして、ルシフェラーゼ遺伝子を用いてレポーターアッセイ系を構築し、G4 構造形成と遺伝子発現の関係、G4 構造の安定化について分子レベルで解析し、G4 結合能を持つポルフィン化合物 TMPyP4 などの結合性リガンドの導入によって遺伝子発現の抑制が起こることを確認した。本研究は、ATR-X 症候群における G4 構造の役割が示唆される結果を示した。

A. 研究目的

X連鎖性 α サラセミア・精神遅滞(ATR-X)症候群は、生後まもなくからの筋緊張低下、特徴的顔貌、軽度の α サラセミア（ヘモグロビン H）による貧血、精神運動発達遅滞、外性器異常、消化管機能異常などを特徴とする。

近年、ATRX タンパクがゲノム上の 4 重鎖構造 (G4: G-quartet) に結合することにより、その下流に存在する遺伝子の発現に影響をすることが明らかになり、ATR-X 症候群の病態として、ATRX タンパクの機能喪失変異により、複数の遺伝子発現が不適切に調節されることが原因となっていることが推測されている。

本研究においては、ATRX タンパクによる G4 構造制御機構の分子レベルでの解析を行うことにより、ATRX タンパクにより発現調節を受ける遺伝子 (ATRX 標的遺伝子) を探索するとともに、現在開発中の治療薬の G4 に対する影響を解析する。

B. 研究方法

ATRX 結合が示されている唯一の標的遺伝子 α グロビン遺伝子のプロモーターをターゲットにして、ルシフェラーゼ遺伝子を用いてレポーターアッセイ系を構築し、G4 構造形成と遺伝子発現の関係、G4 構造の安定化について分子レベルで解析を進める。

C. 研究結果

グアニンリッチな塩基配列をプロモーター領域に組み込んだレポーターアッセイ系の構築に成功し、実際に G4 結合能を持つポルフィン化合物 TMPyP4 などの結合性リガンドの導入によって遺伝子発現の抑制が起こることを確認した。また、この系に Heme タンパク質を導入したときにも同様の現象を観察した。

D. 考察

最近、G4 構造と疾患との関連が疑われる可能性が報告された[Law MJ, et al. *Cell*, 2010]が、本研究結果は、ATR-X 症候群における G4 構造の役割が示唆される結果であった。

E. 結論

平成27年度は、G4 構造結合分子を用いて単離したゲノムDNAから、次世代シーケンサーとマイクロアレーを駆使することによって、G4 構造形成と疾患との関連性を実験データに基づいて詳しく解析する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

3D-FISH法を用いた分子細胞遺伝学的解析に関する研究

担当責任者 田辺 秀之 総合研究大学院大学 先端科学研究科

【研究要旨】 ATR-X 症候群患者由来の細胞核では、ATRX (Xq21.1) 及び α グロビン HBA1 (16p13.3) 遺伝子が存在する Xq と 16p 染色体テリトリーに着目すると、高頻度な隣接 (chromosome kissing) が観察される。本研究では、5-ALA 処理による染色体・遺伝子領域の空間配置への影響に関する検討を 3D-FISH 法により進めた。

A. 研究目的

ATR-X症候群の責任遺伝子はXq21.1に局在するATRX遺伝子であり、ATRXタンパク質のエピジェネティクス制御の破綻によって α サラセミア、精神遅滞などを特徴とした多彩な症状を呈する。本研究では、ATRX遺伝子が存在するX染色体長腕領域及び α サラセミアを引き起こす原因となる α グロビンHBA1遺伝子が存在する16番染色体短腕領域における染色体ペインティングプローブ、及び関連するBAC DNAを用いた3D-FISH法により、5-ALA処理による染色体・遺伝子領域の空間配置に関する基礎的な検討を行った。

B. 研究方法

ATR-X症候群患者由来の培養繊維芽細胞を用いて、5-ALA処理を行い、3D-FISH法による解析を行った。具体的には、3次元構造を維持した細胞核を固定し、16pとXqペインティングプローブ及びBAC DNAプローブをハイブリダイズされ、共焦点レーザースキャン顕微鏡により、画像スキャンと計測を行い、染色体・遺伝子領域の空間配置に関する検討を行った。

（倫理面への配慮）

ATR-X症候群患者由来細胞の使用に際して、すでに個人情報の連結不可能匿名化がなされ、人権擁護上、研究倫理上、ともに十分配慮されており、提供者に不利益が被らないような体制にて実施。

C. 研究結果

ATR-X症候群患者由来の繊維芽細胞核において、16pとXqの染色体キッシングが約6割ほど見いだされている。5-ALA処理を4濃度（10mM, 20mM, 50mM, 100mM; 24時間）で行い、16pとXqを用いた3D-FISH法による解析を行った。その結果、20mM以下では、染色体キッシングの頻度は未処理対象とほぼ同じであり、顕著な差が見られなかったが、50mM以上では分断された形状の染色体テリトリーの頻度が高くなり、核内構造変化（細胞死）が示された。

D. 考察

クロマチンリモデリング因子ATRXタンパク質は、5-ALAを介して、核内空間構造を変化させている可能性があり、今回、分断された染色体像が観察されたが、これはアポトーシスが引き起こされた可能性が高く、適正な処理条件についての検討を行い、核内空間配置の解析を進める。

E. 結論

ATR-X症候群患者由来細胞では、5-ALA処理により染色体空間配置がどのような影響を受けているか、検討を続ける。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- ①ATR-X症候群における染色体テリトリー
および関連遺伝子領域の核内空間配置解
析：田辺秀之、和田敬仁
日本人類遺伝学会第59回大会（2014.11）
- ②染色体キッシングが見られたATR-X症候
群患者由来細胞核の遺伝子空間配置：
田辺秀之、塩田倫史、和田敬仁
第32回染色体ワークショップ（2014.12）

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

ATR-X 症候群における行動異常に関する研究

担当責任者 岡本伸彦 大阪府立母子保健総合医療センター 遺伝診療科

【研究要旨】 ATR-X 症候群は特徴的顔貌、軽度 HbH 病、重度運動精神遅滞、外性器低形成などを特徴とする X 連鎖性の先天異常症候群である。Weatherall ら(1981)が α サラセミアをともなう精神遅滞 3 家系を報告した後、Wilkie ら(1990)が X 連鎖の遺伝形式をとる 1 つの症候群として確立した。Gibbons ら (1995) が包括的発現調節因子である XH2/XNP（現在は ATRX と呼ばれている）遺伝子の変異が原因であることを明らかにした。遺伝子座位は Xq13 で、責任遺伝子は Zinc finger 型 DNA 結合ドメイン、DNA ヘリカーゼドメインを持つ転写調節因子である。わが国でも小児病院を中心として症例報告が行われているが、報告例は地域偏在傾向があり、未診断例も多い。ATR-X 症候群の特徴として、様々な行動異常が報告されている。大阪府立母子保健総合医療センターでの経験例について行動異常について詳細な検討を行った。ATR-X 症候群の治療目標として、行動異常の改善は重要課題のひとつである。

A. 研究目的

α サラセミア X 連鎖性精神遅滞症候群（略称 ATR-X）は、生後まもなくからの筋緊張低下、特徴的顔貌、軽度の α サラセミア（ヘモグロビン H）による貧血、精神運動発達遅滞、外性器異常、消化管機能異常などを特徴とする。本研究は、大阪府立母子保健総合医療センター受診患者における ATR-X 症候群患者の行動異常の検討が目的である。

B. 研究方法

大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科で長期間経過観察をしている 7 症例（4～19 歳 男児）。ATR-X 症候群については全例遺伝子レベルで確定診断がついている。臨床経過については、カルテの記載を整理した。行動異常の状況、原因の推測、治療内容について検討を行った。

C. 研究結果

症例の概要は表に示した。年齢は 4 歳から 19 歳に分布している。

（1）睡眠障害

多くの症例で睡眠障害を認めた。2 日以上、まったく睡眠ができないという経過の例もあった。天候の悪化などが誘因となることが多かった。投薬による強制的な睡眠が必要であった。リスパダールのような精神安定剤、ロゼレムなどを投与した。

（2）不機嫌状態

一部の症例は低気圧接近などの気象の変化に敏感に反応した。低気圧が発生すると不機嫌が増

悪し、大声でなく、寝ないなど異常行動がみられた。遠方で発生した台風や地震に敏感に反応する例があった。

（3）常同運動

ある例では周期的な四肢異常運動がみられた。長時間にわたって全身を揺すり続け、一点を凝視して周囲のよびかけにも反応しなくなった。このような状態は不定期に月 1 回ほど出現し、3 日間ほど持続した。これはてんかん発作ではなく、ATR-X に伴う行動異常と考えられた。

（4）多動

歩行可能な症例の一部では多動を認めた。走ることもできて、危険回避が困難な状況であった。常に周囲の監視が必要な状況である。よくわらい、多幸的であった。

（5）自傷行為・他傷行為

いろいろな自分の手を噛むなど自傷行為が複数の例でみられた。他者（保護者、同胞、教師など）をつねる、ひっかく、とっさに叩くなどの他傷行為を認める例もあった。

（6）空気嚥下症

口をもぐもぐ動かして、空気を嚥下し、腹満を呈する。腹部膨満感が増強して、不機嫌になる。胃痙がある場合は、胃痙から腹部のガスを解放することが改善につながった。

(7) ものを口に入れる

タオルや衣服の一部を加え、常に離さない行動がみられた。これによって患児自身が落ち着くようであった。

D. 考察

ATR-X 症候群では重度の精神運動発達遅滞を伴う例が多いが、多動症例から寝たきりの例まで、重症度に幅が大きかった。その中でも全例に何らかの行動異常が認められた。

歩行可能例では多動が顕著で、危険回避能力が乏しく、常に監視する必要があった。多動に対しては、コンサータやストラテラのような注意欠陥多動症としての治療が有用な可能性があり、今後の検討課題である。

自力で歩行できない例でも不機嫌や不眠が顕著な例があった。不機嫌が持続する場合、家族も不眠になるなど、影響が大きかった。

睡眠障害、食思不振、自傷行為などATR-X症候群では様々な行動異常があり、個々の症例にあわせた対応が必要である。中にはてんかん発作との鑑別が必要な例があり、脳波検査が必要となる。

低気圧など気象状況に敏感に反応する例が複数例存在した。この原因は不明であるが、ATR-X症候群の特徴のひとつと考えられた。身体的な不快感や疼痛が行動異常の原因になっている例もあり、注意が必要である。

対応として精神安定剤やロゼレムなどの薬物治療で一定の効果が期待できる。行動療法などを試みる必要もあるが、薬物治療が最終的に必要になることが多いと考えられた。

アミノレブリン酸の投与が行われた場合、行動異常の改善が大きな治療目標のひとつとなると考えられた。

E. 結論

遺伝子変異を同定してすでに確定した ATR-X 症候群について行動異常をまとめた。全例に何らかの行動異常が認められた。行動異常の背景に気象の変化や体調を反映しているものも存在した。

患者の在宅ケアにあたって、保護者の大きな悩みのひとつが行動異常である。投薬治療などの対応が必要である。

重症度、症状の状況には個人差が大きかった。さらに症例を蓄積し、長期経過を観察予定である。アミノレブリン酸の投与が行われた場合、行動異常の改善が大きな治療目標のひとつとなると考えられた。行動異常の客観的な評価方法の確立が重要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Okamoto N, Ikeda T, Hasegawa T, Yamamoto Y, Kawato K, Komoto T, Imoto I. Early manifestations of BPAN in a pediatric patient. Am J Med Genet A. 164A: 3095-92014, 2014

2. Okamoto N, Fujii T, Tanaka J, Saito K, Matsui T, Harada N. A clinical study of patients with pericentromeric deletion and duplication within 16p12.2-p11.2. Am J Med Genet A. 164A: 213-9, 2014

3. Tsurusaki Y, Koshimizu E, Ohashi H, Phadke S, Kou I, Shiina M, Suzuki T, Okamoto N, Imamura S, Yamashita M, Watanabe S, Yoshiura K, Kodera H, Miyatake S, Nakashima M, Saitsu H, Ogata K, Ikegawa S, Miyake N, Matsumoto N. De novo SOX11 mutations cause Coffin-Siris syndrome. Nat Commun. 2014 Jun 2; 5: 4011.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし