

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
（総合）研究報告書

脳クレアチン欠乏症候群を中心とした治療可能な知的障害症候群の臨床研究

研究代表者 和田敬仁 京都大学大学院医学研究科 准教授

研究要旨 本研究班では、脳クレアチン欠乏症候群および ATR-X 症候群を対象とし、診断基準、重症度分類、診療ガイドラインを作成し、臨床家に周知させ、症例を登録し、近い将来の治験のための基盤整備を進める。本年度は、脳クレアチン欠乏症候群(cerebral creatine deficiency syndromes: CCDSs)に対して、疫学調査、診断基準作成の準備、ハンドブックの作成を行った。ATR-X 症候群に対しては、患者さん・ご家族用の医療カードの作成を行った。両症候群に対してホームページを作成した。

【研究分担者】

相田典子・神奈川県立こども医療センター・部長  
秋山倫之・岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・准教授

栗屋智就 京都大学大学院医学研究科・特定助教  
小坂仁・自治医科大学・教授

後藤知英・神奈川県立こども医療センター・部長  
高野亨子・信州大学医学部・助教

露崎悠・神奈川県立こども医療センター・医長

アメリカでは 42,000 人、世界では 100 万人と推定され、日本では未診断症例が多数存在すると推測される。CCDSs の特徴は、治療法のある精神遅滞であるという点である。また、難病指定されていない。

ATR-X 症候群はエピジェネティクスの破綻により発症する上記のクレアチントランスポーター欠損症と同じ、X 連鎖性知的障害症候群の一つである。日本で約 100 名の患者が診断され、家族会（ATR-X 症候群ネットワークジャパン）も存在し、難病指定され、治療法の開発も進められている。

本研究の目的は日本における CCDSs および ATR-X 症候群の診断基準、重症度分類、診療ガイドラインを作成し、臨床家に周知させ、症例を登録し、近い将来の治験のための基盤整備を進める。

A. 研究目的

知的障害(intellectual disability: ID)は、人口の 1-3%と高頻度であり、特に小児科臨床の場で遭遇する頻度が最も高い病態の一つである。本研究班では、脳クレアチン欠乏症候群および ATR-X 症候群を対象とする。

脳クレアチン欠乏症候群(cerebral creatine deficiency syndromes: CCDSs)は、先天性代謝性疾患の一つであり、脳内クレアチン欠乏をきたし、精神遅滞、言語発達遅滞、てんかんを引き起こし、グアニジノ酢酸メチル基転移酵素(GAMT)欠損症、アルギニン・グリシンアミジノ基転移酵素(AGAT)欠損症、クレアチントランスポーター(SLC6A8)欠損症の 3 疾患が知られ、特に SLC6A8 欠損症は遺伝性精神遅滞の中では脆弱 X 症候群やダウン症候群について、もっとも頻度が高い疾患で、ID 男性の 0.3-3.5%、ア

B. 研究方法および結果

1. 脳クレアチン欠乏症候群を中心とした治療可能な知的障害症候群の脳 MRI/MRS に関する研究（相田）

【目的】クレアチン欠乏症候群を中心とした治療可能な知的障害症候群の臨床症状は非特異的であり、中枢 MRI 所見の報告も少ない。一方脳 <sup>1</sup>H-MR spectroscopy (以下 MRS) では、形

態情報とは異なる *in vivo* の代謝物情報が得られる。クレアチン欠乏症をはじめとする代謝異常を基盤とする神経疾患（ほとんどは知的障害を伴う）の MRS 所見を review し、診断への寄与の可能性を探ることを目的とした。

【方法】神奈川県立こども医療センターの神経疾患疑い例でのルーチン脳 MRI 検査には、2-3 カ所（基底核、半卵円中心と小脳）の MRS が組み込まれている。主に 3 T 装置を用い、通常の T2 強調像、T1 強調像、拡散強調像などを撮像した後に MRS データを取得した。得られたスペクトルは視覚的診断とともに、共同研究者である MRS の専門家により LC Model を用いた定量解析が行い、何らかの異常を指摘された神経代謝疾患を対象とした。

【結果】クレアチントランスポーター欠損症の他に、シェーグレンラッソン症候群、GABA トランスアミナーゼ欠損症、新生児発症メチルマロン酸血症の症例に対する早期診断の MRS の有用性が明らかにされた。

## 2. 脳クレアチン欠乏症候群における 3 疾患の診断・治療効果評価方法の開発に関する研究（秋山、栗屋、露崎、小坂）

### a. GAMT 欠損症（秋山）

【目的】高速液体クロマトグラフィ・蛍光検出によるグアニジノ酢酸の高感度測定系を用いて、GAMT 欠損症患者の臨床検体（血清、髄液）を用い、GAMT 欠損症非罹患患者や文献でのデータと比較した。次年度の日本における診断基準、重症度分類、診療ガイドラインを作成を目指す。

【結果と考察】グアニジノ酢酸はクレアチンとオルニチンの補充療法を開始後速やかに低下し、正常上限よりやや高値で安定し

た。血清中グアニジノ酢酸測定は、クレアチン補充によるクレアチニン上昇の影響を受けないため、GAMT 欠損症の診断のみならず、治療効果の評価にも有用であると考えられた。

### b. AGAT 欠損症（栗屋）

【目的】世界的に症例の少ない AGAT 欠損症を PubMed, Google Scholar, 医中誌等を用いて文献検索を行い、臨床情報を収集した。次年度の日本における診断基準、重症度分類、診療ガイドラインを作成を目指す。

【結果】AGAT 欠損症は 3 つの CCDs の中で最も頻度が少なく、世界的にも十数例の報告のみであった。クレアチン補充療法 (100mg/kg/day) により 16 名中 10 名で認知機能と筋力の改善がみられることが報告されており、本邦においても本疾患の迅速かつ正確な診断が必要であることが示された。

### c. SLC6A8 欠損症（露崎）

【目的】次年度の日本における診断基準、重症度分類、診療ガイドラインの作成を目指し、PubMed, Google Scholar, 医中誌等を用いた文献考察とともに、自験例 4 家系 6 例の患者・保因者について診療録・MRI 画像を後方視的に検討した。

【結果】知的障害を呈するか患者に対し、MR spectroscopy を実施すれば、容易に CCDs を診断できる。特に、クレアチン輸送体欠損症に関しては、脳 MRI で脳梁が薄い・血清クレアチニン低値・低身長などが診断の手がかりとなる可能性を指摘した。

## 3. 脳クレアチン欠乏症候群の疫学調査に関する研究

(後藤)

【目的】本研究においては、患者を集積し診断基準を作成の基盤となる、本邦における有病率を推定することが目的である。

【方法と結果】2014年度、2015年度の2年間に神奈川県立こども医療センター神経内科に新規紹介受診した症例のうち、発達遅滞・自閉症・てんかんのいずれかを主訴に含み脳クレアチン欠乏症の可能性がある症例に対して、原因検索のため脳MRSを含めた頭部MRI検査を実施した(2016年度は集計中)。発達遅滞・自閉症・てんかんのいずれかを主訴に含んでいた650症例のうち約半数が男児であるとした場合、当院で遭遇すると期待されるクレアチン輸送体欠損症の症例数は最大で年間0.49~5.69人であった。

#### 4. 脳クレアチン欠乏症候群の診断法に関する研究

(新保)

【目的】クレアチントランスポーター(SLC6A8)欠損症では、尿中のクレアチン/クレアチニン比の上昇が認められることから、尿のスクリーニングが診断の手がかりとなる。クレアチン代謝異常症の診断を目的とし、今年度導入したオートサンブラー付の高速液体クロマトグラフィー(HPLC)-UV装置を用いて、クレアチン関連化合物の分析条件検討を行った。

【結果】保持時間10分以内にCR, GA, CNが分離する移動相の条件を検討した結果、0.075%ギ酸水溶液で良好な結果が得られ、尿中のクレアチン関連化合物のHPLC測定は、クレアチン代謝疾患の診断に有用であることが示された。

#### 5. 脳クレアチン欠乏症候群の遺伝学的解析に関する研究(高野)

【目的】治療法のあるID症候群である脳クレアチン欠乏症候群(cerebral creatine

deficiency syndromes: CCDSs)の頻度および診断法の妥当性について検討した。

【方法と結果】知的障害(intellectual disability; ID)患者専門外来である「ID外来」でを診断目的で系統的な遺伝学的検査をおこなったID患者96名を対象とした。SLC6A8, GAMT, GATMに病的ゲノムコピー数変化および病的変異を認めなかった。SLC6A8遺伝子には相同性が非常に高い偽遺伝子が存在することまたGC richな領域があるため、増幅が困難でありIon PGMでの同遺伝子のカバー率は87%であり変異を見逃している可能性も考えられた。CCDSsの診断には尿を用いた生化学的スクリーニングや脳MRSの併用が有用であると考えられた。

#### 6. 脳クレアチン欠乏症候群ハンドブックの作成(相田、秋山、粟屋、小坂、後藤、新保、高野、露崎、和田)

【目的】脳クレアチン欠乏症候群の医療者における疾患の周知のため、また、患者・ご家族の疾患理解を目的として、ハンドブック(改訂版)を作成した

【結果】(資料1を参照)学会やホームページを介して、医療者や患者・ご家族に配布予定である。次年度は、内容について修正を加えていく。

#### 7. 脳クレアチン欠乏症候群の病態解明に対する研究(小坂)

【目的】現在有効な治療法のないクレアチントランスポーター欠損症が、アデノ随伴ウイルスベクターを用いた遺伝子治療の対象となることが考えられる。類縁疾患であるグルコーストランスポーター1型欠損症(GLUT1DS)の治療研究を行い、その応用可能性を検討した。

【結果】グルコーストランスポーター1型欠損症(GLUT1DS)の治療研究を行った。9型AAV-SLC2A1ベクターを作製し、Glut1

(+/-)への脳室内投与を行い、脳内での SLC2A1 蛋白発現を確認し、髄液糖の上昇と症状軽減を確認した。Glut1 欠損症の治療成功はクレアチントランスポーター欠損症を含む同様の膜蛋白(トランスポーター、受容体等)の異常による疾患に対する治療法の確立につながる事が期待される。

#### 8. 患者レジストリー制度とホームページの作成(和田)

【目的】患者自然歴の調査、臨床情報の収集、将来の臨床研究に備えて、患者レジストリー制度を確立した。

【結果】脳クレアチン欠乏症候群および ATR-X 症候群の患者レジストリー制度を確立し、ホームページ(<http://atr-x.jp/index.html>)で公開した(資料2)。医師ではなく、患者・ご家族の自由意志による登録により、今後、スムーズな運用を目指し、修正して運用していくとともに、医療者や患者さん・ご家族への情報を発信していく。

#### 9. ATR-X 症候群患者健康管理ハンドブックの作成(和田)(資料3)

【目的】ATR-X 症候群の患者さんの管理で一番問題となる消化器症状について、平成 28 年 9 月に行われた勉強会の内容を中心にハンドブックを作成し、医療者や患者さん・ご家族への周知を目的とする。

【結果】消化器症状の管理の他に、遺伝カウンセリングや将来の治療法についても言及した。

#### 10. ATR-X 症候群患者健康管理カードの作成(和田)(資料4)

【目的】ATR-X 症候群の患者さんやご家族がスムーズに医療機関や学校などにコンタク

トできることを目的として、携帯可能な健康管理カードを作成した。

【結果】消化器症状の管理の他に、遺伝カウンセリングや将来の治療法についても言及した。

#### 11. 脳クレアチン欠乏症の研究会および患者会の開催患者(和田)

【目的】疾患の周知、研究の進捗状況の確認、患者さん・ご家族や医療者への情報提供を目的として、研究会および家族会を行った。(平成 29 年 3 月 19 日、フクラシア東京ステーション)

【結果】(資料5, プログラム参照)

クレアチントランスポーター欠損症の3家系の患者さん・ご家族が参加され、研究会にも参加された。研究会では、臨床家の立場、基礎研究者の立場からそれぞれ発表があった。

#### C. 健康危険情報

報告すべき情報はない。

#### D. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 和田敬仁、ATR-X 症候群、小児科診療 79, p16, 2016

2. 和田敬仁、脳クレアチン欠乏症候群、小児科診療 79, p290, 2016

3. Li Y, Syed J, Suzuki Y, Asamitsu S, Shioda N, Wada T, Sugiyama H. Effect of ATRX and G-Quadruplex Formation by the VNTR Sequence on  $\alpha$ -Globin Gene Expression. *Chembiochem.* 17:928-35, 2016

4. Uemura T, Ito S, Ohta Y, Tachikawa M, Wada T, Terasaki T, Ohtsuki S. Abnormal N-Glycosylation of a Novel Missense Creatine Transporter Mutant,

G561R, Associated with Cerebral Creatine Deficiency Syndromes Alters Transporter Activity and Localization. Biol Pharm Bull. 40:49-55, 2017.

ーション、東京)

## 2. 学会発表

1. 和田敬仁、日本における ATR-X 症候群研究、第 1 回 ATR-X 症候群シンポジウム in Kyoto、国立京都国際会議場、2016/4/2、
  2. 新保裕子、ATR-X 症候群の日本人症例の遺伝学的解析、第 1 回 ATR-X 症候群シンポジウム in Kyoto、国立京都国際会議場、2016/4/2、国内
  3. Shimbo H, Kurosawa K, Okamoto N, Wada T. Molecular genetic study of 80 patients with ATR-X syndrome in Japan. ポスター、 The 13<sup>th</sup> International Congress of Human Genetics 2016.4.3-7 Kyoto
  4. 和田敬仁 脳クレアチン欠乏症の臨床研究、第 58 回日本小児神経学会学術集会、東京、平成 28 年 6 月 4 日
  5. 和田敬仁、「脳クレアチン欠乏症候群」研究班の概要
  6. 靄崎悠、当院フォロー中のクレアチントランスポーター欠損症 4 家系の経過について
  7. 後藤知英、神奈川県立こども医療センターにおける脳クレアチン欠乏症の診断
  8. 相田典子、小児神経疾患における MRS の有用性
  9. 高野亨子、信大病院遺伝子医療研究センターにおける「ID (知的障害) 外来」の取り組み
  10. 秋山倫之、治療可能な神経代謝疾患の診断体制構築の取り組み
  11. 粟屋智就、自閉症者における末梢血マイクロ RNA 解析 ～バイオマーカーとしての利用可能性～
- (以上 4～11. 「脳クレアチン欠乏症候群」研究会、平成 29 年 3 月 19 日、フクラシア東京ステ