

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）  
分担研究報告書

「脆弱X症候群、脆弱X症候群関連疾患の  
遺伝カウンセリング体制構築に関する研究」

研究分担者 難波栄二  
鳥取大学 研究推進機構研究戦略室・教授

**研究要旨**

脆弱X症候群および脆弱X症候群関連疾患は指定難病となっており、保険診療による遺伝学的検査が可能となっている。本年度は遺伝学的検査とそのモザイク例について、遺伝カウンセリングの対応を検討した。遺伝学的検査の方法としては、サザンブロット法とPCRベースの方法があり、その特徴を比較した。PCRベースのFragilEase/バイオアナライザ法を用いると、正常から全変異まですべての長さのCGG繰り返し配列を正確に検出できる。さらに、モザイクの検出も可能であった。脆弱X症候群の家系の方々には、それぞれのCGG繰り返し配列の長さが異なっており、正確な遺伝学的検査結果を元に遺伝カウンセリングを実施することが必要である。

研究協力者

足立 香織 鳥取大学 研究推進機構 研究基盤センター・助教  
岡崎 哲也 鳥取大学 医学部 脳神経小児科・助教

**A. 研究目的**

脆弱X症候群（FXS）は、知的障害、自閉的  
症状、細長い顔、大耳介などの症状をもち、  
Xq27.3に存在する*FMRI*遺伝子の5'非翻訳領域  
にあるCGG繰り返し配列が延長（全変異、200  
リピート以上）することにより発症する。先行  
研究では、日本における本疾患の疾患頻度は男  
性1万人に1人と推測されており、数千人の患者  
がいると推定される。しかし、本疾患では知的  
障害以外の特徴が目立たない例が多く、実際に  
診断されている患者は少ない。

脆弱X症候群関連疾患には、脆弱X随伴振戦/  
運動失調症候群（FXTAS）、脆弱X関連早期卵  
巣不全（FXPOI）がある。*FMRI*遺伝子のCGG  
繰り返し配列が延長（前変異、55～200リピ  
ート）をもつ方のうちの一部に発症する。海外で  
は、前変異（女性）のうち16%、前変異（男  
性）のうち40%で発症するとの報告もある。  
FXTASは小脳失調、企図時振戦、パーキンソ  
ニズムなどを示し、パーキンソン病、核内封入体  
病などとの鑑別が必要である。本疾患は脆弱X  
症候群の家系に一定の頻度で発症する。日本で  
は脆弱X症候群の診断が少ないこともあり、実

際にFXTASと診断されている患者は少ないと考  
えられる。

脆弱X症候群関連疾患（告示番号205）ならび  
に脆弱X症候群（告示番号206）は、平成27年7  
月1日に指定難病となり、平成28年度からは保  
険診療による遺伝学的検査が可能となってい  
る。遺伝学的検査の方法は、サザンブロット  
法とPCR法を用いた方法があり、それぞれに長  
所、短所があった。我々は「脆弱X症候群なら  
びに脆弱X随伴振戦/失調症候群の治療推進に向  
けた臨床基盤整備の研究」（AMED難治性疾患  
実用化研究事業 2015年度～2017年度）におい  
て、それまでのPCR法の短所を克服した方法  
（FragilEase/バイオアナライザを使用）を検討  
し、2017年7月から登録衛生検査所で実施でき  
る体制を確立した。

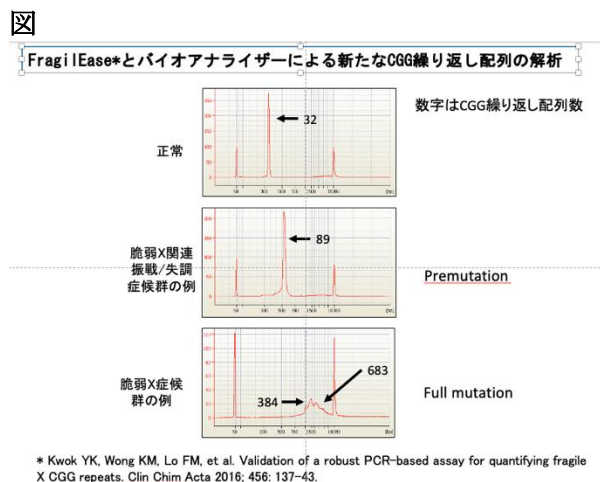
一方、遺伝学的検査ではモザイク例などの非  
典型的な検査結果が出ることもある。その解釈  
が難しく遺伝カウンセリングにおいて問題とな  
る。本年度は遺伝学的検査の状況を把握し、非  
典型例の対応を検討することを目的とした。

**B. 研究方法**

遺伝学的検査には、PCR法をベースとした  
FragilEase（PerkinElmer社）キットを用いて

DNA 検体を反応させ、バイオアナライザ電気泳動システム（アジレント・テクノロジー）にて CGG 繰り返し配列の長さを同定した。本キットでは、正常から全変異までのすべての長さの CGG 繰り返し配列が検出できることを確認している（図）。この方法を用いて登録衛生検査所 BML 社で実施された遺伝学的検査のうち、2017 年 7 月～2019 年 9 月実施分を対象とした。

さらに、この検査で陽性になった例に関しては、レジストリ登録の体制を構築している。



#### （倫理面への配慮）

本研究では、既に診断の付いた患者さんの臨床情報および *FMRI* 遺伝子の CGG 繰り返し回数の情報を使用する可能性があることから、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針を遵守して研究を行った。

### C. 研究結果

2017 年 7 月～2019 年 9 月に 389 検体の遺伝学的検査が実施された。その結果は、中間型 1 検体、前変異 8 検体、全変異 14 検体、モザイク（前変異と全変異）1 検体であった。このモザイク症例に関しては、さらにサザンプロット法で延長を確認している。通常の PCR 法では全変異やモザイクの検出は困難であるが、FragilEase/バイオアナライザを用いた方法では、全変異やモザイクもサザンプロットと同等に検出できた。

### D. 考察

#### 1) 遺伝学的検査の方法について

脆弱 X 症候群患者家系においては母親が前変異であることが多く、様々な長さの CGG 繰り返し配列を持つ方々が同一家系内に存在し、その遺伝カウンセリングにおいては、すべての CGG 繰り返し配列の長さを正確に同定する技術が求められる。

表に遺伝学的検査の方法による長所や短所を示した。今回用いた FragilEase/バイオアナライザの方法は、正常から全変異まですべての CGG 繰り返し配列の延長を検出することができる。さらに、モザイク例もサザンプロットと同様に検出でき、家系の遺伝カウンセリングには最も適当な方法と考えられた。

表

CGG 繰り返し配列検査方法の比較			
	サザンプロット	PCR/キャピラリーシーケンス	FragilEase*/バイオアナライザ
必要な検体量 検査手技と時間	比較的多量 複雑/3日以上	少量 簡便/2日以内	少量 簡便/1日
レポート検出			
Full mutation (FM)	○	× (○*)	○
Premutation (PM)	△	△ (○*)	○
Intermediate	×	○	○
Normal	△	○	○
FXSの診断	○	× (○*)	○
FXTAS/FXPOIの診断	△	△ (○*)	○
結論	患者家系の検査には向かない	TP-PCR法ではFM、PM検出可だがCGG数は不明	患者と家系のすべての検査が可能

\*TP-PCR: Triplet repeat primed PCR

#### 2) モザイク例への対応について

脆弱 X 症候群等の遺伝学的検査結果の解釈や遺伝カウンセリングへの対応に工夫が必要な場合として、不完全なメチル化、モザイク、正常境界の CGG 繰り返し配列などがある。遺伝学的検査の長さやメチル化のモザイクは、本 CGG 繰り返し配列の遺伝学的検査においては稀ではないと報告されている (61/148 41% ;Nolin SL et al. Am J Med Genet 1994)。しかし、日本での報告はほとんどない。この論文では 82% が全変異/前変異のモザイクと報告されており最も多く、今回の例はこれに該当する。これらの症例においては、症状が軽くなる傾向があるが、全変異/前変異の割合もあり、症例ごとのばらつきも大きいようである。また、メチル化が不完全なモザイク例においても、症状が軽くなる傾向がある。

脆弱 X 症候群の家系内の方々は、それぞれ CGG 繰り返し配列の長さが異なり、場合によってはモザイクの方も存在する。一見無症状に見える方にも、前変異やモザイクが存在する可能性があり、遺伝カウンセリングは重要になる。

脆弱 X 症候群の家系内の遺伝カウンセリングにおいては、症状に関係なく、FragilEase/バイオアナライザなどによる CGG 繰り返し配列回数の正確な情報を元に行うことが必要になる。

### E. 結論

- 脆弱 X 症候群および脆弱 X 症候群関連疾患の家系の遺伝カウンセリングにおいては、すべての長さの CGG 繰り返し配列を正確に検出できる遺伝学的検査が必要になる。
- PCR ベースの FragilEase/バイオアナライザ法は正常から全変異まですべての長さの CGG 繰り返し配列を正確に検出できる。
- 脆弱 X 症候群の遺伝学的検査結果の解釈や遺伝カウンセリングへの対応に工夫が必要な場合として、不完全なメチル化、モザイク、正常境界の CGG 繰り返し配列などがある。
- モザイク例なども日本で見つかってきており、家系全体の遺伝カウンセリングに資する遺伝学的検査の体制が整った。

## F. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表
- 1) Eiji Nanba, Diagnosis of fragile X syndrome in Japan. Satellite Symposium of 61th Annual meeting of the Japanese Society of Child Neurology (Kyoto). 2019 年 5 月 29 日.

- 2) 難波栄二、足立香織、岡崎哲也、井上知愛、田所 健一. 脆弱 X 症候群・脆弱 X 症候群関連疾患の診断：保険診療での実施状況. 第 61 回日本小児神経学会学術集会. 2019 年 5 月 30 日-6 月 1 日.
- 3) 足立香織、難波栄二、岡崎哲也、井上知愛、田所健一. 日本人における脆弱 X 症候群・脆弱 X 症候群関連疾患の遺伝学的検査. 日本人類遺伝学会 第 64 回大会. 2019 年 11 月 6 日-9 日.

## G. 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