

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
総合研究報告書

「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 足立 香織(平成 29 年、30 年)／難波 栄二 (令和元年)

鳥取大学研究推進機構・助教／同・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が、知的障害以外に特徴的な症状が無い場合も多く、確定診断されている患者数は少ない。本研究では、診断基準（案）、確定診断に至るまで、ならびに確定診断後に必要となる遺伝カウンセリング体制、臨床的な特徴について検討した。臨床的には知的障害以外に目立った特徴を認めない場合があることも念頭に置き、積極的に遺伝学的検査を実施することが必要である。また、正常から全変異までの CGG 繰り返し配列を正確に検出できる FragilEase/バイオアナライザ法により、モザイク例も診断できた。脆弱 X 症候群の家系の方々は、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

難波 栄二 鳥取大学 研究推進機構 研究戦略室・教授（平成 29 年、30 年）
足立 香織 鳥取大学 研究推進機構 研究基盤センター・助教（令和元年）
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FMR1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。FMR1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。本研究では、症例の検討とともに、その遺伝学的検査体制を検討し、診断基準や遺伝カウンセリングに資することを目的とする。

B. 研究方法

1. 遺伝カウンセリング体制の検討

遺伝カウンセリング体制の構築ならびに地域での連携について検討するために、沖縄県の医療機関（沖縄県立中部病院、沖縄県立南部医療センター・こども医療センター、沖縄中部療育医療センター）を訪問し、情報収集と検討を行った。

2. 診断基準（案）の作成

海外の論文等を参考にし、AMED 研究班「脆弱 X 症候群ならびに脆弱 X 症候群随伴振戦/失調症候群の治療推進に向けた臨床基盤整備の研究」とも連携しながら、診断基準（案）を作成した。

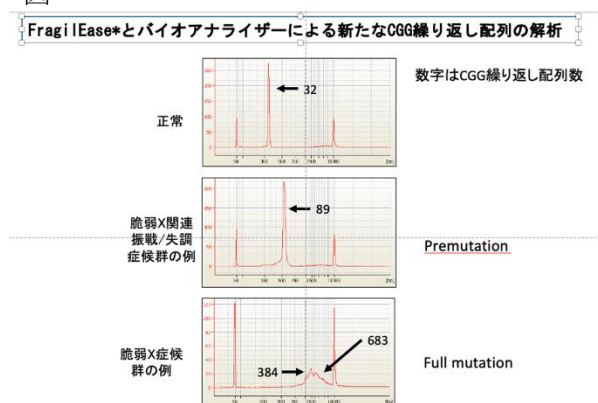
3. 日本人脆弱 X 症候群症例の臨床的特徴の検討

2009～2011 年に鳥取大学で実施したアンケート調査（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」班、研究代表者 難波栄二）により、二次調査への同意が得られた 5 家系 7 症例について、主治医から提出された臨床情報について集計を行った。

4. 遺伝学的検査体制について

遺伝学的検査は、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。

図



* Kwok YK, Wong KM, Lo FM, et al. Validation of a robust PCR-based assay for quantifying fragile X CGG repeats. *Clin Chim Acta* 2016; 456: 137-43.

5. 遺伝学的検査の非典型例について (モザイクなど)

モザイクなどの非典型例についてサザンブロットでも確認するとともに、遺伝カウンセリングへの対応について検討した。

(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 FMR1 遺伝子の CGG 繰り返し回数を使用する可能性があることから、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守して研究を行った。鳥取大学医学部倫理審査委員会にて事前に審査・承認を受けた後に研究を開始した。

C. 研究結果

1. 遺伝カウンセリング体制の検討

2018 年 10 月に沖縄県の医療機関（沖縄県立中部病院、沖縄県立南部医療センター・こども医療センター、沖縄中部療育医療センター）を訪問し、脆弱 X 症候群ならびに脆弱 X 症候群関連疾患についての情報提供（疾患概要、遺伝学的検査、治療法、遺伝カウンセリングの際に注意すべき点など）を行った。上記 3 つの病院・センターでは定期的に勉強会が開催され、他施設からも参加が可能となっており、普段から交流と連携が密に取られていた。患者さんの診断や臨床情報についても共有されており、療育医療センターで検査を希望する場合には南部医療センターで対応する、といった措置も執られているとのことであった。

2. 診断基準（案）の作成

作成した診断基準（案）を提示する。

【脆弱 X 症候群の診断基準】

A. 症状

- 1). 知的障害（男性では重度、女性は軽度から重度まで幅がある）は必須症状。
- 2). 顔貌の特徴（大耳介、細長い顔）、巨大睾丸、行動異常（自閉的症状、多動、注意欠如）、学習障害、関節の過伸展、扁平足などは参考症状。

B. 検査所見

遺伝学的検査以外に特徴的な検査所見はない。

C. 鑑別診断

以下の疾患を鑑別する。
知的障害、自閉スペクトラム症

D. 遺伝学的検査

- 1). FMR1 遺伝子の変異（CGG 繰り返し配列の延長（通常 201 繰り返し以上））を証明することが確定診断となる。
- 2). 染色体検査での Xq27.3 の脆弱部位の検出は参考とする（全ての患者で陽性にはならない）。

<診断のカテゴリー>

Definite : A-1 を満たし、D-1 を満たすもの。

【脆弱 X 症候群関連疾患（脆弱 X 関連振戦／運動失調症候群）の診断基準】

A. 症状

小脳失調、企図時振戦、パーキンソニズム、認知症、知的障害

B. 検査所見

MRI 検査にて中小脳脚（middle cerebellar peduncles：MCP）徴候

C. 鑑別診断

以下の疾患を鑑別する。

核内封入体病、パーキンソン病、脊髄小脳変性症、ハンチントン病、大脳皮質基底核変性症、進行性核上性麻痺、多系統萎縮症

D. 遺伝学的検査

FMR1 遺伝子の変異（CGG 繰り返し配列の延長（55～200 繰り返し））を証明することが確定診断となる。

<診断のカテゴリー>

Definite：A のうち 1 項目以上+B を満たし C の鑑別すべき疾患を除外し、D を満たすもの。

3. 日本人脆弱 X 症候群症例の臨床的特徴の検討

7症例についての検討を行った。その結果は以下の通りであった。

【確定診断における検査法】

葉酸培地を用いた染色体検査	4例
PCR法	3例

【周産期歴】

7症例とも特記事項なし

【既往歴】

先天性内反足	1例
川崎病	1例
滲出性中耳炎	1例
気管支喘息	1例
尿道下裂	1例

【歩行開始時期】

～1歳6ヶ月	5例
1歳7ヶ月	1例
2歳6ヶ月	1例

【有意語獲得時期】

1歳6ヶ月	1例
3歳	1例
4歳	1例

6歳	3例
有意語なし（9歳時）	1例

【発達指数/知能指数】 平均30.5

（診断基準では、知的障害は必須症状）

DQ 17	1例
DQ 20	2例
IQ 29	1例
DQ 37	1例
DQ 43	1例
IQ 48	1例

【身長、体重】

7症例とも異常なし

【顔貌・身体の特徴】

（●は診断基準に記載されているもの）

●大耳介	5例
●長い顔	5例
下顎突出	4例
大頭	1例
●巨大睾丸	0例
●関節の過伸展	不明
●扁平足	不明

【行動面の特徴】

（●は診断基準に記載されているもの）

●多動	5例
●自閉傾向	4例
●学習障害	不明
けいれん	1例

4. 遺伝学的検査体制について

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。

5. モザイクについて

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、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ブロットと同等に検出できた。

D. 考察

1. 遺伝カウンセリング体制の検討

脆弱X症候群では、知的障害以外に特徴的な症状が見られない場合も多いことから、幼少時に検査を受ける機会を逃し、療育センター等でフォローされている症例も多いと推測される。沖縄県では、地域の療育センターと病院との連携・協力体制が取られており、それによって未

診断の患者さんの確定診断が付く可能性もあり得る。

2. 診断基準（案）の作成

診断基準（案）の作成にあたっては、脆弱X症候群では知的障害、自閉スペクトラム症を疑う場合には遺伝学的検査での確認が重要であること、脆弱X症候群関連疾患では、鑑別診断の対象疾患を中心に整理を行った。未診断の知的障害症例では、原因精査のために繰り返し検査が行われることが多い。確定診断が付くことにより、これらの検査の負担がなくなり、また疾患に応じた管理が可能となる。診断基準の整備による診断率の向上によって、患者のQOL向上に寄与することが期待できる。

3. 日本人脆弱 X 症候群症例の臨床的特徴の検討

脆弱 X 症候群と診断された 5 家系 7 症例の臨床情報の検討により、従来知られている知的障害、顔貌の特徴、行動異常といった特徴は日本人症例においても認められることが確認できた。一方、脆弱 X 症候群では知的障害以外の症状が目立たない場合もあるとされ、原因不明の知的障害症例では鑑別に挙げる必要がある。知的障害症例に対しては、脆弱 X 症候群の疑いを考慮し、遺伝学的検査を積極的に実施することが望ましいと考えられる。また、確定診断後には家系内のその他対象者への遺伝カウンセリングも重要となり、家系全体へのフォローアップ体制が必要である。

葉酸培地を用いた染色体検査では偽陰性となる場合がある。現在は保険診療による衛生検査所での遺伝学的検査が可能となっているサザンブロットや PCR 法などの遺伝子解析の手法が確実な診断のためには重要である。

4. 遺伝学的検査について

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。

遺伝学的検査の方法による長所や短所を表に示した。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ブ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

	サザンブロット	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
リポート検出			
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

5. 遺伝学的検査の非典型例について（モザイクなど）

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。この中で、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はにおいても、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 of 正確な情報を元に行うことが必要になる。

E. 結論

- 地域単位で連携する体制は非常に有用であり、沖縄県の体制をモデルとして、山陰地区でも他施設との遺伝カウンセリング体制の連携を検討する。
- 本疾患では表現促進現象が見られ、また家系内には臨床的には無症状でもCGG繰り返し配列の延長をもつ方が存在し、家族、親族に対しての遺伝カウンセリングが重要となる。遺伝カウンセリングを実施し、遺

伝に関して十分に理解して頂く必要がある。

- 日本人の脆弱 X 症候群患者においても知的障害、顔貌の特徴、行動異常が認められたが、知的障害以外に目立った特徴を認めない場合があり、原因不明の知的障害患者には、保険診療による遺伝学的検査を積極的に推進することが必要である。
- 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) 難波栄二、足立香織、中山祐二、松浦徹、石井一弘、後藤雄一。脆弱X症候群ならびに脆弱X随伴振戦/失調症候群の遺伝学的検査体制の構築～保険診療でカバーされる外注検査となる～。第59回日本小児神経学会学術集会。2017年6月15日-17日。
- 2) 足立香織、松浦徹、石井一弘、中山祐二、岡崎哲也、後藤雄一、難波栄二。脆弱X症候群ならびに脆弱X症候群関連疾患の遺伝学的検査体制の構築。日本人類遺伝学会 第62回大会。2017年11月15日-18日。
- 3) 足立香織、岡崎哲也、松浦徹、石井一弘、後藤雄一、難波栄二。脆弱X症候群ならびに脆弱X症候群関連疾患のレジストリ構築に向けて。第40回日本小児遺伝学会学術集会。2018年1月12日-13日。

- 4) 足立香織、岡崎哲也、松浦徹、石井一弘、後藤雄一、難波栄二。脆弱 X 症候群ならびに脆弱 X 症候群関連疾患の治療推進に向けた臨床基盤整備。第 60 回日本小児神経学会学術集会。2018 年 5 月 31 日-6 月 2 日。
- 5) 難波栄二、足立香織、岡崎哲也、井上知愛、田所健一。保険診療で実施可能となった脆弱 X 症候群ならびに脆弱 X 症候群関連疾患の遺伝学的検査の実施状況。日本人類遺伝学会 第63回大会。2018年10月10日-13日。
- 6) 岡崎哲也、野瀬まどか、白幡恵美、阿部敏明、長谷川毅、毎原敏郎、前垣義弘、足立香織、難波栄二。日本人脆弱 X 症候群症例の臨床的特徴の検討。第 41 回日本小児遺伝学会学術集会。2019 年 1 月 11 日-12 日。
- 7) 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。
- 8) 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。
- 9) 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