

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等政策研究事業

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

平成28～29年度 総合研究報告書

研究代表者 和田敬仁

平成30(2018)年 5月

目 次

I . 総合研究報告

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 和田敬仁	-----	1
(資料1) 脳クレアチン欠乏症候群ハンドブック	-----	8
(資料2) 脳クレアチン欠乏症候群研究会プログラム	-----	18
(資料3) ATR-X症候群勉強会プログラム	-----	19
(資料4) 「ATR-X症候群情報提供カードに関するアンケート調査」に関するポスター発表	-----	20
(資料5) ATR-X症候群治療に関する論文 (Nature medicine)	-----	21
(資料6) 小児慢性特定疾病資料 (疾患概要、医療意見書、診療の手引き)	-----	22
(資料7) 診療のてびき	-----	34

II . 研究成果の刊行に関する一覧表

----- 36

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 ¹H-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、粟屋、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（粟屋）

【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 α -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 13th 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

脳クレアチン欠乏症候群 ハンドブック2017

改訂第2版

このハンドブックは、「脳クレアチン欠乏症候群」の患者さんやご家族のために、そして、多くの医療関係者に疾患を知って頂くことを目的として、作成しました。

脳クレアチンの役割

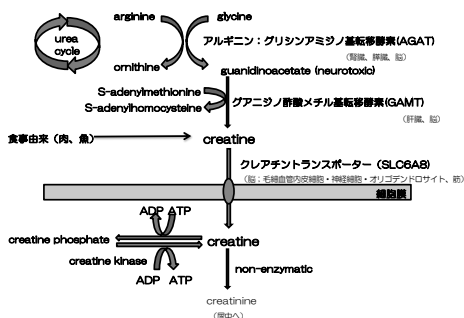
- エネルギー通貨ATPをタイムリーに届ける
- 神経伝達の調節作用
- 抗酸化作用
- 神経細胞生存増強

【解説】

- エネルギーの通貨であるATPを主として、ミトコンドリア内の電子伝達系で作られます。このATPを利用して細胞は細胞内の物質輸送を行い、また細胞膜を介したイオンなどの出し入れを行います。クレアチンは、必要な細胞内の場所で、必要なタイミングでATPを届けるためにクレアチン・リン酸として貯蔵するバッファーとして働きます。
- クレアチンはGABA受容体の働きを弱め（アンタゴニスト:阻害作用）、グルタミン酸受容体（特にNMDA受容体）に対して働きを強める作用があることが知られています。
- 細胞内には、特にATP産生の過程で多くの活性酸素種が存在し、酸化反応により細胞を損傷することが知られており、クレアチンはこれらの除去に関与することがわかっています。
- クレアチンを投与したマウスでは、脳梗塞による神経細胞死を抑えることが知られています。ミトコンドリアによる細胞死に関与した、VDAC複合体に作用することにより、この働きを発揮すると考えられています。

1. Joncquel-Chevalier Curt, M., et al. Creatine biosynthesis and transport in health and disease. *Biochimie*, 2015, 119: p. 146-65.
 2. Wallimann, T., M. Tokarska-Schlattner, and U. Schlattner. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids*, 2011, 40(5): p. 1271-96.
 3. Brosnan, J.T. and M.E. Brosnan. Creatine- endogenous metabolite, dietary, and therapeutic supplement. *Annu Rev Nutr*, 2007, 27: p. 241-61.

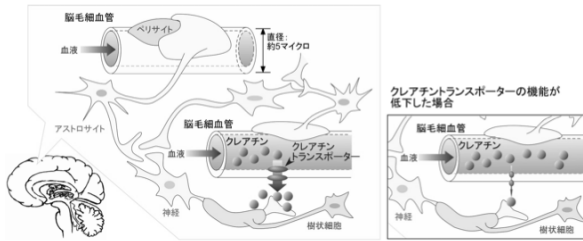
クレアチンの代謝経路



【解説】

- クレアチンは、外部からの摂取（肉や魚）によるものと、体内で生成されるものがあります。
- 体内では、2つの酵素により、クレアチンが生成されます。
 - アルギニン：グリシンアミジノ基転移酵素
 - L-arginine:glycine amidinotransferase (AGAT)
 - グアニジノ酢酸メチル基転移酵素
 - guanidinoacetate methyltransferase (GAMT)
- 血液中のクレアチンの組織への取り込みやクレアチンの尿管での再吸収はクレアチントランスポーターを介しています。
- クレアチンは、非可逆的な非酵素的脱水反応によりクレアチニンとなり、腎臓から尿中に排泄されます。
- クレアチンとATPは、クレアチンキナーゼにより可逆的にクレアチンリン酸とADPに変換されます。

血液から脳へのクレアチン供給



【解説】

- 脳内には神経をはじめとしたさまざまな細胞が存在し、その機能を維持するために血液から栄養物質等が供給されます。
- 血液から効率よく供給するために脳内には脳毛細血管と呼ばれる細い血管が網の目状に走っています。
- 脳毛細血管の壁（血管内皮細胞）によって血液中の物質は脳へ入れません（血液脳関門(Blood Brain Barrier)）。しかし、脳毛細血管には「トランスポーター」と呼ばれるタンパク質が存在し、脳が必要とする物質を選び、脳内へ選択的に供給します。
- クレアチンは、脳毛細血管に存在するクレアチントランスポーターによって血液から脳内へ供給されます。
- クレアチントランスポーターの機能が低下すると、血液からのクレアチン供給が低下し、その結果、脳内のクレアチン量が低下してしまいます。

脳クレアチン欠乏症候群 cerebral creatine deficiency syndromes (CCDSs)

- 共通の臨床症状
 - 知的障害（軽度～重度）
 - 言語発達障害
 - てんかん
 - 自閉症スペクトラム
 - 筋緊張低下

脳クレアチン欠乏症候群 cerebral creatine deficiency syndromes (CCDSs)

- クレアチン産生の障害
 - アルギニン：グリシンアミノ基転移酵素 (AGAT) 欠損症
 - (MIM *602360) ; *GATM* 遺伝子 (15q21.1)
 - グアニジノ酢酸メチル基転移酵素 (GAMT) 欠損症
 - (MIM *601240) ; *GAMT* 遺伝子 (19p13.3)
- クレアチン輸送の障害
 - クレアチントランスポーター (SLC6A8) 欠損症
 - (MIM *300036) ; *SLC6A8* 遺伝子 (Xq28)

アルギニン：グリシンアミノ基転移酵素 (AGAT) 欠損症

【責任遺伝子】
GATM 遺伝子 (15q21.1)
【遺伝形式】
常染色体劣性遺伝



【臨床症状】
知的障害・発達遅滞、言語障害、自閉スペクトラム症
筋量減少、近位筋優位の筋力低下

【検査所見】
脳クレアチン 低値
血中グアニジノ酢酸 低値
尿Cr/Creatinine比正常

クレアチン補充療法
(100-800mg/kg/day)
→ 認知機能・筋力の改善

早期治療がよさそうだが、効果には個人差あり。

AGAT欠損症の特徴

- *GATM* 遺伝子 (15q21.1) の変化により、クレアチン合成の第1段階（アルギニン：グリシンアミノ基転移酵素）が機能低下し、症状が生じます。
- 遺伝形式は常染色体劣性遺伝です。
 - 男性も女性も発症します。
- 報告数：16名（2015年の国際共同研究での報告）
 - 日本での報告例はありません。
Stockler-Isoiroglu et al., Mol Genet Metab 2015;116:252-259.
- 中枢神経症状（知的障害・発達遅滞、自閉スペクトラム症）
- 筋症状（筋量低下、軽度～中等度の近位筋優位筋力低下）
 - 神経毒性を有するGAAの蓄積はなく、クレアチン欠乏症状が主体
- Cr補充療法（100mg/kg/day）が有効です
 - 10/16名で何らかの認知機能改善
 - 早期開始の方がIQが高い傾向（境界域～正常範囲へ改善の例も）
Stockler-Isoiroglu et al., Mol Genet Metab 2015;116:252-259.

グアニジノ酢酸メチル基転移酵素(GAMT)欠損症

クレアチンを作る第二段階の異常

【責任遺伝子】
GAMT遺伝子 (19p13.3)
【遺伝形式】
常染色体劣性遺伝

【臨床症状】
知的障害、行動異常、けいれん、不随意運動

【検査所見】
脳クレアチン 低値
血中グアニジノ酢酸 高値
尿Cr/Creatinine比正常

クレアチン補充療法
(100-800mg/kg/day)
→認知機能・筋力の改善

【解説】

- ▶ GAMT遺伝子 (19p13.3)の変化により、クレアチン合成の第2段階(グアニジノ酢酸メチル基転移酵素)が機能低下し、症状が生じると考えられています。
- ▶ 遺伝形式は常染色体劣性遺伝です。
- ▶ 男性も女性も発症します。
- ▶ 世界で約110例の報告があります。
- ▶ 日本では1例のみ報告されています。[Akiyama T, et al. *JIMD Rep* 12, 65-9, 2014]
- ▶ 生まれてすぐは症状はありませんが、生後3か月~3歳より症状が現れます。
- ▶ 発達の遅れが必ずみられます。
- ▶ 大多数に行動異常(多動、自閉、自傷)がみられます。
- ▶ 約80%の方にけいれんを認めます。お薬は効きにくいです。
- ▶ 約25~35%の方に、不随意運動がみられます。
- ▶ 治療はクレアチンの補充が有効です。
- ▶ 神経毒性の強いグアニジノ酢酸の産生を押さえることも大切です。(オルニチン、安息香酸Na摂取、アルギニン摂取制限)

クレアチントランスポーター(SLC6A8)欠損症

クレアチンを細胞に取り込む装置の異常

【責任遺伝子】
SLC6A8遺伝子 (Xq28)
【遺伝形式】
X連鎖性遺伝

【臨床症状】
知的障害・発達遅滞、言語障害、自閉スペクトラム症
筋量減少、近位筋優位の筋力低下

【検査所見の特徴】
脳クレアチン 低値
尿Cr/Creatinine比の上昇

もっとも頻度の高い遺伝性知的症候群の一つ

クレアチン補充療法は無効!

【解説】

- ▶ SLC6A8遺伝子 (Xq28)の変化により、クレアチンを細胞内に取り込むトランスポーターが機能低下し、症状が生じます。
- ▶ 遺伝形式はX連鎖性遺伝です。
- ▶ 患者の多くは男性ですが、女性も様々な程度で発症する可能性があります。
- ▶ 男性の知的障害の0.3-3.5%はクレアチントランスポーター欠損症と考えられ、頻度の高い疾患です。
- ▶ 発達の遅れがみられます。
- ▶ 言葉の遅れがみられることが多く、3歳頃に初めての言葉が出る人が多いようです。
- ▶ 約60%の方にけいれんを認めます。多くの患者さんでは、お薬によって発作をコントロールできます。
- ▶ 約50%の方にADHD(注意欠陥多動性障害)、約40%の方に自閉症の症状がみられます。
- ▶ 約60%の方に、筋緊張の低下を始めとする運動機能の障害がみられます。筋緊張の低下は成長とともに改善することが多いです。
- ▶ 有効な治療法がありません。
- ▶ Cyclocreatineの可能性が期待されています。[Kurosawa Y, et al. *J Clin Invest* 122: 2837-2846, 2012]

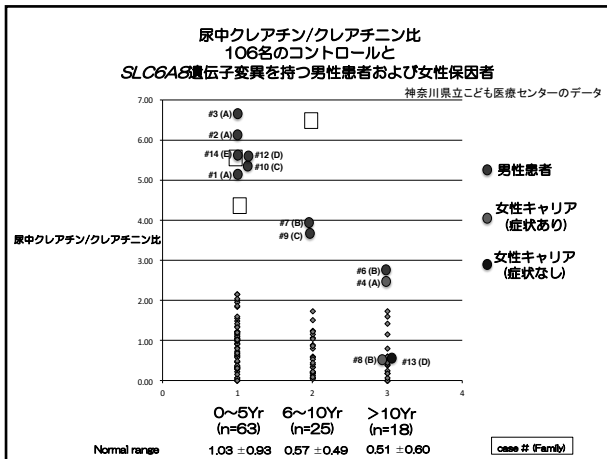
脳クレアチン欠乏症候群の診断(1)

欠損症	尿		血清			髄液		
	GAA/CN	CR/CN	GAA	CR	CN	GAA	CR	CN
AGAT	↓	→	↓	no data		no data	→	
GAMT	↑	→	↑↑	↓	↓~	↑↑	↓	
SLC6A8	男性	→	↑	→	?	no data	→	
	女性	→	↑	→	?	no data	→	?

(GAA: グアニジノ酢酸, CR: クレアチン, CN: クレアチニン)

クレアチンやクレアチニン(尿、血清)の測定は、臨床検査センターへ依頼できます。

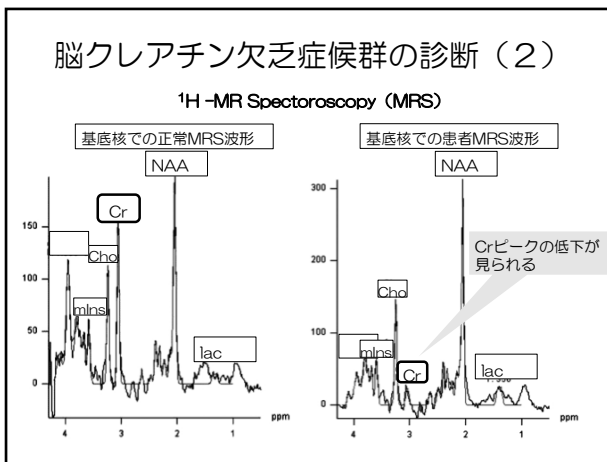
- ▶ 頻度の高いクレアチントランスポーター欠損症の診断には、尿クレアチン(Cr)/クレアチニン(Crn)比の上昇の所見が診断に有効です。
- ▶ 尿と血清での単位(mg/dl)をそろえて、Cr/Crn比が2以上を異常の目安とします。
- ▶ 海外文献では単位が異なっていることに注意
- ▶ 換算方法: Cr 1mg/dL=78.26μmol/L, Crn 1mg/dL=88.4μmol/L
- ▶ 食事の影響を受け偽陽性を呈する可能性があり、複数回の計測、あるいは、8時間絶食後の採尿により確認することが必要です。
- ▶ 女性患者の診断には、役立ちません。
- ▶ 正常値でも否定できません。
- ▶ 正常値は年齢により異なります。
- ▶ GAMT欠損症の診断は、血清でのグアニジノ酢酸値や尿グアニジノ酢酸/クレアチニン比の上昇が特徴的です。



【解説】

- ▶ 4人の女性保因者のうち2名が軽度知的障害を呈しました。尿中Cr/Crn比は症状を呈した2例中1例は高値、もう一例および症状のない2例は正常値を示しました。
 - ▶ 女性における尿Cr/Crn比は臨床症状と関連しませんでした。尿スクリーニングは男性のみで有効な手段であり、女性では注意が必要です。[van de Kamp, *Clin Genet*, 2011]
- ▶ 男性における尿Cr/Crn比は、臨床症状の重症度とは関連しませんでした。
- ▶ 本研究では、家族内、および家族間の臨床症状の多様性が示されました。責任遺伝子以外の遺伝要因や、環境要因の関与も指摘されています。[van de Kamp, *J Med Genet*, 2013]

【参考文献】
Osaka H, et al. *Mol Genet Metab* 106: 43-7, 2012
Wada T, et al. *Amino Acids*. 43:993-7, 2012
Kato H, et al. *Brain Dev* 36: 630-633, 2013
野崎章仁, 他. 脳と発達 47: 49-52, 2015

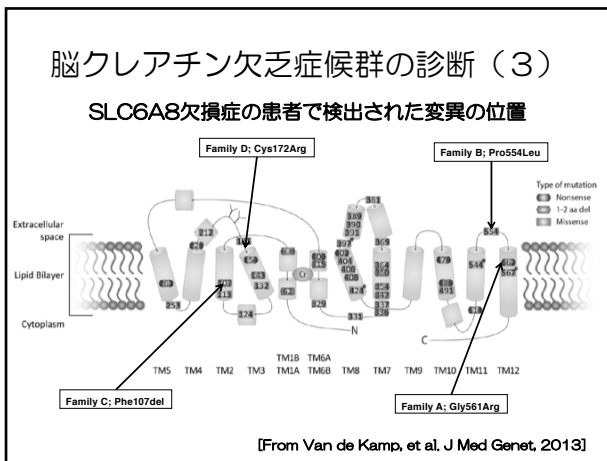


【解説】
通常のMRI検査時にMRSの撮像を一カ所追加(約5分)することにより、クレアチン低下の所見があれば、脳クレアチン欠乏症候群を確実に診断出来ます。
Dezortova M, et al. *Magn Reson Mater Phys* 21:327-332, 2008

MRSで測定される代表的な代謝物の意義

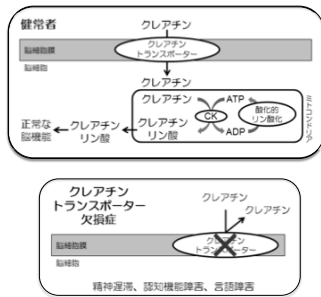
代謝物	化学シフト (ppm)	意義
NAA	2.02	神経細胞の高濃度に局在。正常神経細胞密度に相関。
Cr	3.03	クレアチンとリン酸化クレアチンの総量を反映。神経細胞やグリア細胞等の細胞密度に相関。
Cho	3.36	細胞膜代謝に関係するリン脂質の材料となる代謝物
mIns	3.56	アストロサイトにおける濃度が高く、グリア細胞増殖との相関が高い
lac	1.33	嫌気性解糖の結果生じる代謝物 エネルギー代謝障害の程度の指標

『Proton MRSの臨床有用性コンセンサスガイド2013年度版』より改変



- ▶ 脳クレアチン欠乏症候群の診断確定には、遺伝子診断が必要です。
- ▶ 特に、症状のある女性患者に対するクレアチントランスポーター欠損症の診断には遺伝子検査が必須です。
 - ▶ 女性の場合、遺伝子変異を持っていても、症状の予測はできません。
 - ▶ 女性における遺伝子変異の有無や尿中クレアチン/クレアチニン比の値と症状との関連を検討するときには、十分な配慮が必要です。
- ▶ 遺伝子変異の変異によるトランスポーター機能への影響は様々です。
[Uemura T, et al. *Biol Pharm Bull*, 2017]

クレアチントランスポーター欠損症に対する治療戦略

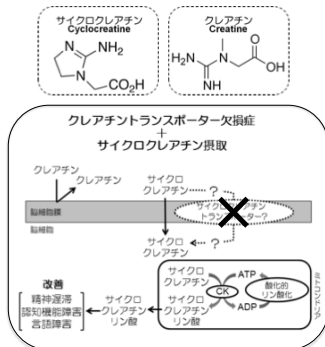


[Kurosawa Y, et al. J Clin Invest 122: 2837-2846, 2012]

クレアチントランスポーター欠損症に対する治療の候補

- 1) **クレアチン経口投与** ニューロンの細胞膜上に発現すべきクレアチントランスポーターの欠損により、一部を除き、効果が得られていません。
- 2) **クレアチン類似物質経口投与** ①クレアチントランスポーター以外の経路をへてニューロン内部に取り込まれること、②ニューロンに取り込まれたのち、リン酸化されて直接的エネルギー源であるATPを合成する能力を有すること、③ ②の結果、認知機能を含む脳機能の改善につながる物質であること、そして、ヒトに対する安全性が確認されている物質が求められます。
- 3) **脳におけるクレアチン合成の促進** ヒトの脳には、2種類のクレアチン合成酵素が発現していることから、正常な脳はクレアチン合成能を有する可能性が指摘されています。しかし、患者脳では必要十分量のクレアチン合成は患者脳では難しいことがわかります。
- 4) **遺伝子治療** これまでのところ報告されておりません。

クレアチントランスポーター欠損症に対するサイクロクレアチン治療の可能性



[Kurosawa Y, et al. J Clin Invest 122: 2837-2846, 2012]

【解説】

- ▶ ヒト患者の動物モデルである“クレアチントランスポーター遺伝子ノックアウトマウス”を対象に実施した、**サイクロクレアチン (cyclocreatine)** 経口投与試験では、9週間の投与後、ニューロンにサイクロクレアチンが取り込まれていたことが確認されました。
- ▶ 磁気共鳴分光法 (^{31}P -MRS) を用いた測定により、そのサイクロクレアチンはリン酸化され、ATP合成能を有していた可能性が高いと考えられています。
- ▶ 同一マウスの空間認知能力、短期記憶力などに大幅な改善を認め、そのレベルは対照群のマウスと比べても遜色のないものでした。
- ▶ サイクロクレアチンは悪性腫瘍の治療薬候補と考えられていた時期があり、ヒト摂取の安全性に関するデータが報告されています。
- ▶ 現時点においては、サイクロクレアチン等のクレアチン類似物質経口投与が、近い将来における治療の最有力候補と考えられています。

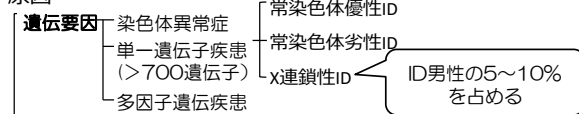
知的障害 (Intellectual disability: ID) とは定義

- A. 全般的知能の欠陥：概ねIQ (知能指数) <70
- B. 年齢、性別および社会文化的背景が同等の仲間たちと比べて、日常の適応機能が障害されている
- C. 発症は発達期の間 (DSM-5)

IQ	
軽度	51~70
中等度	36~50
重度	21~35
最重度	~20

頻度
一般人口における割合1~3%
男：女=1.3~1.4：1

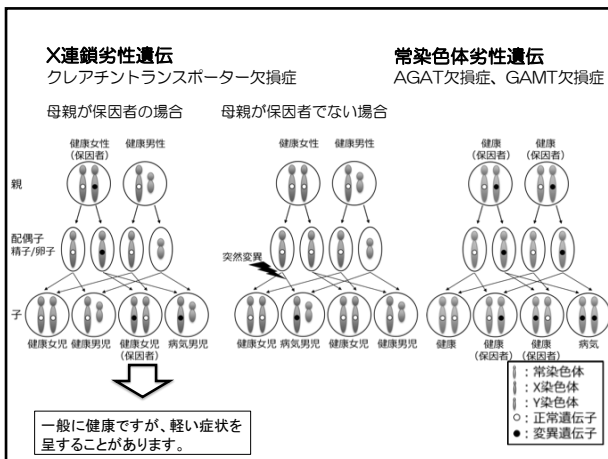
原因



環境・後天的要因 (周産期異常、感染症、頭部外傷など)

【解説】

- ▶ IDの原因はさまざまですが、少なくとも半数以上の患者さんで原因不明といわれています。
- ▶ 重度IDはID患者の0.3~0.5%ですが、その多くが単一遺伝子疾患 (メンデル遺伝病) であると報告されています。
- ▶ 軽度IDの原因は多因子遺伝疾患や環境要因が複雑に関与していると考えられています。
- ▶ 単一遺伝子疾患の中でも、X連鎖性IDはID男性の5~10%の原因であると報告されており重要です。



【解説】

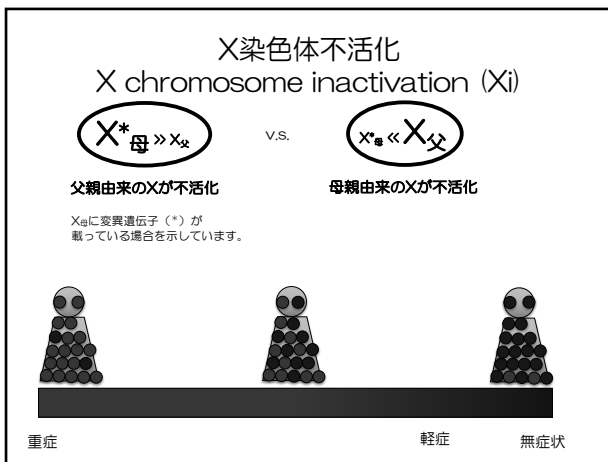
X連鎖劣性遺伝

男性のX染色体は1本なので、その遺伝子に変異が起こると発症します。女性は2本持っているため、1本の遺伝子に変異が起きても通常無症状(保因者)です。しかし、X染色体不活化というメカニズムのため、女性でも病気になることがあります、通常、男性患者より軽症です。

お子さん(男児)が発症の場合、母親が保因者の場合と、保因者でない場合があります。母親が保因者の場合(図)、次のお子さんに関して、男児の半分(50%)は病気になる、女児の半分(50%)は保因者になります。母親が保因者ではない(患者さんの突然変異)場合、次のお子さんが発症する確率は一般と同じと考えられています。ただし、性腺モザイクに注意する必要があります。

常染色体劣性遺伝

患者さんは、2本の遺伝子の両方に変異をもつことで発症します。健康な両親は、1つずつ遺伝子の変異をもっている(保因者)と考えます。次のお子さんが発症する確率は男女関係なく1/4(25%)です。



【解説】 X染色体の不活化

- ▶ 女性は2本のX染色体、男性は1本のX染色体をもっています。X染色体上にある遺伝子の変化では、通常、男性のみが発症します。しかし、女性でも、様々な症状で発症することが示されています。これは、2本のX染色体のどちらか一方のX染色体は働いていない状態(不活化)ためです。
- ▶ 変化をもつ遺伝子が不活化したX染色体上にあり、もう一方の正常の遺伝子が活性化したX染色体上にあれば、その細胞は正常と同じように機能します。しかし、逆の場合、変化をもつ遺伝子が活性化したX染色体上にあり、もう一方の正常の遺伝子が不活化したX染色体上にあれば、その細胞は正常に機能できなくなります。
- ▶ ですから、変化をもつ遺伝子が活性化したX染色体に載っている細胞を多くもっている女性では、発症する可能性がある、ということになります。
- ▶ クレアチントランスポーター欠損症では、遺伝子の変化自体が X染色体不活化に影響を与えないため、他のX連鎖性疾患にくらべ、女性が発症しやすいと考えられています。また、このことは、無症状の女性でも、遺伝子変異をもっている可能性があることを意味しています。海外の報告では、一般女性の0.024%が遺伝子変異をもつ保因者である、と推定しています。[DesRoches CL, Gene, 2015]

お近くの遺伝医療に関する相談の窓口(遺伝子診療部)の探し方

登録機関遺伝子医療体制検索・提供システム

患者又は医療関係者が遺伝子医療を実施している施設を検索するためのシステムです。

※エリア・都道府県を選択

※該当県・エリアをクリックしてください。県内の遺伝子医療を行っている施設名を表示します。

全国遺伝子医療部門連絡会議

<http://www.idenshiiryoubumon.org/search/>

脳クレアチン欠乏症の患者さんやご家族のための社会的資源

- 療育手帳
 - 対象: 認定基準を満たす知的障害をもつ人
 - 内容: 障害の認定、税金の控除や交通費の割引など
- 自立支援医療
 - 対象: てんかんや診断され通院治療を受けている人
 - 内容: 外来医療費の軽減
- 身体障害者手帳
 - 対象: 認定基準を満たす身体障害をもつ人
 - 内容: 障害の認定、装具などの福祉機器の交付、医療費の助成、税金の控除や交通費の割引など
- 特別児童扶養手当(20歳未満)
- 障害児福祉手当(20歳未満)
- 特別障害者手当(20歳以上)
- 障害基礎年金(20歳以上)
 - 対象: 認定基準を満たす障害をもつ人
 - 内容: 手当、年金の支給
- 高額療養費制度
 - 対象: 医療費が一定額を超えた人
 - 内容: 医療費の払い戻し
- 介護保険
 - 対象: 認定基準を満たす身体障害をもつ人
 - 内容: 障害の認定、装具などの福祉機器の交付、医療費の助成、税金の控除や交通費の割引など

▶ 障害の程度や収入などによって、利用できる内容や程度が異なることがあります。
 ▶ 詳しくは、通院している病院の医療福祉相談室、お住まいの市町村の担当窓口、保健所などにご相談ください。

Research Rare Disease R² Square CURE Path
Creatine deficiency Urine test Rare disease Encounter care

トップページ 疾患情報 研究者情報 ご協力のお問い合わせ お知らせ

精神遅滞や言語発達遅滞を引き起こす
脳クレアチン欠乏症候群
をご存じですか?

本プロジェクトへ
参加していただける方を
只今募集しています。

■脳クレアチン欠乏症候群とは
脳クレアチン欠乏症候群(cerebral creatine deficiency syndromes: CCDSs)には、いくつかの類型があり、そのうち一疾患の人数が増えているといわれている「クレアチン輸送体欠乏症」は、いま研究の途上であり、治療法が確立されていません。ぜひ研究にご協力ください。→ [くわしくはこちらへ](#)

■研究者情報
2013.04.28 : CURE Path 登録受付開始
2013.03.16 : CURE Path 公開

■ご意見をください。
国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬開発部 難病治療研究室
住所 〒172-0055 東京都国立市原町1-1-1
TEL/FAX : 072-841-9016 (受付時間: 9:00~16:00 [土、日、祝日除く])
E-mail : credef@nibio.nih.go.jp

制作・発行 : 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬開発部 難病治療研究室
発行所 : 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬開発部 難病治療研究室
印刷 : 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬開発部 難病治療研究室
監修 : 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬開発部 難病治療研究室
発行 : 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬開発部 難病治療研究室

All copyrights Reserved 2015 National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition.

<http://raredis.nibio.go.jp/cure/index.html>

Research Rare Disease R² Square CURE Path
Creatine deficiency Urine test Rare disease Encounter care

トップページ 疾患情報 研究者情報 ご協力のお問い合わせ お知らせ

目的

■本プロジェクトの目的
脳クレアチン欠乏症候群についてはまだまだよく知られていないことが多く、とても情報が不足しています。今のところクレアチン輸送体欠乏症については、有効な治療法が確立していないため、治療法を見つけるために多くの患者さまのご協力が必要です。将来の医療のために、この研究の趣旨をご理解いただき、ご協力をお願いいたします。
登録に関する詳しい手続については「登録の流れ」をご覧ください、手続きを進めてください。

難病治療研究室 → 主治医 (京都大学医学部 附属病院) → 研究利用

All copyrights Reserved 2015 National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition

ハンドブック作成に関わった先生

- ・ 神奈川県立こども医療センター 放射線科
 - 相田典子
- ・ 神奈川県立こども医療センター 神経内科
 - 後藤知英
 - 露崎 悠
 - 新保裕子
- ・ 神奈川県立精神医療センター
 - 加藤秀一
- ・ 自治医科大学 小児科
 - 小坂 仁
- ・ 信州大学医学部遺伝医学予防医学教室
 - 高野亨子
- ・ 熊本大学大学院生命科学研究所
 - 大槻純男
 - 伊藤慎悟
- ・ 東北大学大学院薬学研究所
 - 立川正憲
- ・ 東京医科大学
 - 黒澤裕子
- ・ 岡山大学大学院発達神経病態学
 - 秋山倫之
- ・ 京都大学大学院医学研究科形態形成生物学
 - 粟屋智就
- ・ 京都大学大学院医学研究科医療倫理学・遺伝医療学分野
 - 和田敬仁

敬称略

このハンドブックは、
平成28年度 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患政策研究事業
「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」(主任研究者: 和田敬仁)
の支援により作成しました。

連絡先: 京都大学大学院医学研究科医療倫理学・遺伝医療学分野
和田敬仁 (E-mail: wadataka@kuhp.kyoto-u.ac.jp)

平成 28 年度「脳クレアチン欠乏症候群」班会議及び研究会

平成 29 年 3 月 19 日(日) 午後 1 時 00 分～午後 4 時 30 分

場所：フクラシア東京ステーション 5 階

(東京都千代田区大手町 2-6-1 朝日生命大手ビル 5 階)

午後 1:00～

「脳クレアチン欠乏症候群」研究班の概要

和田敬仁 京都大学大学院医学研究科医療倫理学・遺伝医療学分野

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

露崎悠 神奈川県立こども医療センター神経内科

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

後藤知英 神奈川県立こども医療センター神経内科

小児神経疾患における MRS の有用性

相田典子 神奈川県立こども医療センター 放射線科

午後 2:00～

血液脳関門の輸送とクレアチン供給

大槻純男 熊本大学大学院生命科学研究部微生物薬学分野

脳クレアチン欠乏症候群に関連する新規変異クレアチントランスポーターの輸送機能特性と発現・局在解析

上村立記 伊藤慎悟 熊本大学大学院生命科学研究部微生物薬学分野

Cyclocreatine の治療薬としての可能性

黒澤裕子 東京医科大学 健康増進スポーツ医学分野

【休憩】

午後 3:00～

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

高野亨子 信州大学医学部 遺伝医学・予防医学教室

治療可能な神経代謝疾患の診断体制構築の取り組み

秋山倫之 岡山大学大学院発達神経病態学

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～

栗屋智就 京都大学大学院医学研究科

午後 3:45～4:30

【特別講演】 「メタボロミクスによる早期大腸癌スクリーニングシステムの開発と実用化」

—小児神経疾患や小児科領域の疾患の診断・治療へのメタボロミクスの可能性—

吉田優先生 神戸大学大学院医学研究科病院病態解析学(疾患メタボロミクス)分野

本研究会は平成 28 年度 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患政策研究事業

「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」(主任研究者:和田敬仁)の支援により開催します。

連絡先: 京都大学大学院医学研究科医療倫理学・遺伝医療学分野 和田敬仁 (E-mail: wadataka@kuhp.kyoto-u.ac.jp)

「第 6 回 ATR-X 症候群の患者さんに関わる

皆さんのための勉強会」のお知らせ

平成 30 年 3 月 24 日（土曜日）
午後 12 時 30 分から 3 時 30 分
ビッグ・アイ（国際障害者交流センター）
大阪府堺市南区茶山台 1-8-1

【講演】

ATR-X 症候群の病態と健康管理

大阪母子医療センター

岡本伸彦先生

ATR-X 症候群の消化管の特徴

大阪母子医療センター

位田 忍先生

ATR-X 症候群の治療薬の開発

岐阜薬科大学

塩田倫史先生

発達障がいと視線計測

浜松医科大学

土屋賢治先生

視線計測装置 Gazefinder の開発

JVC ケンウッド

薦田亜紀先生

ATR-X 症候群ネットワークジャパン

京都大学

和田敬仁先生

(休憩)

講演後、情報交換会を開催します。

参加ご希望、お問い合わせは和田までご連絡下さい。

【連絡先】

京都大学大学院医学研究科医療倫理学・遺伝医療学分野 和田敬仁

E-mail: wadataka@kuhp.kyoto-u.ac.jp

ATR-X症候群の本人・家族および関わる方々への支援 —医師および支援者への情報提供カードの作成—

西川智子¹⁾、山内泰子²⁾、黒澤健司³⁾、和田敬仁⁴⁾

- 1) 神奈川県立こども医療センター 看護局
- 2) 川崎医療福祉大学大学院医療福祉学専攻 遺伝カウンセリングコース
- 3) 神奈川県立こども医療センター 遺伝科
- 4) 京都大学大学院医学研究科社会健康医学系専攻 遺伝カウンセリングコース

【背景】

希少疾患を持つ患者・家族はさまざまな場面で疾患の説明を求められるが、その説明は容易ではない。ATR-X syndrome においても地域で医療・養育・教育を受ける際に疾患の説明を求められるが理解を得ることの困難さを聴く。通常の医療は専門医でなく地域医療機関を受診するが、病名を伝えても医師に理解されず「かかりつけ専門病院を受診するように」と言われることがある。

【目的】

ATR-X症候群を持つ患者・家族の支援として、①かかりつけ医以外の医療機関での受診をできるようにする、医師等に提示する医療情報カード、②療育・教育・医療ケア提供者の支援者や身近な人々への理解・説明のために、疾患の特徴を記載した簡易情報カードを作成する。これらカードの利便性について当事者家族にアンケートを行い、評価する。

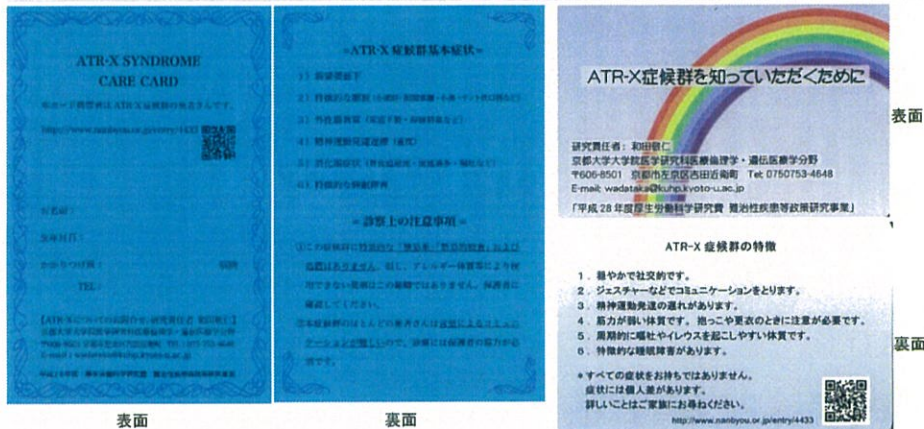


図1. 「ATR-X SYNDROME CARE CARD」

図2. 「ATR-X症候群を知っていただくために」

【医療および支援者への情報適用カードの特徴】

1. QRコードから難病情報センターにアクセスでき、詳細な医療情報の入手を可能にした
2. ATR-X症候群に関する専門医の問い合わせ先を明記し、医療者間の連携を可能にした

① 「ATR-X SYNDROME CARE CARD」 … 医師向け

- ・ 医療を受ける際、医師に提示する、疾患の概要・回避すべき薬剤等を含む医療情報を記載
- ・ 名刺サイズとはがきサイズの2種類

② 「ATR-X症候群を知っていただくために」

- ・ 養育、教育や医療ケア提供者などの患者支援者が理解するために、ATR-X症候群の特徴を記載
- ・ 名刺サイズ、プラスチック製

【対象と方法】

調査対象: ATR-X症候群を持つ患者の保護者 15名 調査方法: 自記式質問票、郵送法による配布・回収(主治医より)

結果1. 医療機関での受診拒否、疾患をわかっただけなのに苦労した経験がある 9名/15名中

- ・ 急患センターで何の処置・薬もなく返され、かかりつけ医に行くように言われた。
- ・ 病室の名前はつきりわからなかったため、近所の病院で予防接種を拒否された。
- ・ 近所の病院に入院した時、ATR-Xの特性を伝えても医師はなかなかイメージつかめず、理解してもらいに苦労した。
- ・ 専門形成手術をしきりに勧められた。指吸の吞息が多い事を懸念して慎重なのに医師はATR-Xの症状を理解してもらえなかった。
- ・ 救急から入院すると、主治医でない時があるので、一から説明しないといけないので大変。
- ・ 児が理由もなく笑うことが、他の子どもたちにはあまり見られないため、周囲に理解されず、嫌な思いがした。

結果2. ATR-X症候群について尋ねられた経験がある 5名/15名中 (複数回答可)

- <場所> : 医療機関 4名、保育園・幼稚園・学校 3名、福祉施設、両区・生活介護等 4名
- ・ ATR-X 自体知らないということがあるので、一人ずつ特性を知らせなければならぬ。
- ・ カードを利用すればいちいち説明しなくて良くなるので便利だと思う

結果3. 役立つと思うか。情報カードを使いたいと思うか。

	15名中 (複数回答可)			
	他の人に紹介したい	使う意味不明	改良が必要	無回答
「ATR-X SYNDROME CARE CARD」	7名	0名	2名*	5名
(大いに役立つ・役だつ 7名/15名中)				
「ATR-X症候群を知ってもらうために」	9名	1名	1名	4名

*個人の特性を記載するスペースがあるとよい

結果4. 情報カードの 利用状況、今後配布したい施設 と 専門家 15名中

	「ATR-X SYNDROME CARE CARD」: 利用				「ATR-X症候群を知ってもらうために」: 今後の配布			
	初めて病院	かかりつけ病院	大学・専門病院	教育機関	初めて病院	かかりつけ病院	医療センター	教育機関
医師	1名	2名	0名	0名	5名	4名	5名	1名
看護師	1名	0名	0名	0名	2名	3名	5名	2名
PT・OT・ST	1名	2名	0名	0名	0名	1名	3名	0名
ヘルパー	1名	1名	0名	0名	1名	1名	1名	1名
教師	1名	0名	0名	3名	1名	2名	2名	2名
保育士	1名	0名	0名	0名	0名	1名	2名	1名
その他	0名	0名	0名	0名	1名	1名	0名	1名
無回答	8名	11名	15名	12名	10名	10名	7名	10名

【考察】

- ・ 今回の調査より、作成した情報提供カードが希少難病疾患患者や家族の支援に有効であることが示唆された。
- ・ これらの情報ツールは、広く希少疾患をもつ患者・家族が、医師をはじめとする医療者の理解を得て、安心かつ容易に地域医療を受けることができるようになる有効なツールと言える。
- ・ ATR-X症候群に関わる方々の疾患への理解が患者・家族の支援につながる。ただし、希少疾患が専門である医師をはじめとする医療職等および多様な専門職による継続的なバックアップが基盤にあることが不可欠である。

【謝辞】

本研究は、平成28年度厚生労働省科学研究費 難治性疾患等政策研究事業による。

日本人類遺伝学会第62回大会

利益相反状態の開示

開示すべき利益相反状態はありません

Targeting G-quadruplex DNA as cognitive function therapy for ATR-X syndrome

Norifumi Shioda^{1*}, Yasushi Yabuki², Kouya Yamaguchi², Misaki Onozato², Yue Li³, Kenji Kurosawa⁴, Hideyuki Tanabe⁵, Nobuhiko Okamoto⁶, Takumi Era⁷, Hiroshi Sugiyama³, Takahito Wada^{8*} and Kohji Fukunaga^{2*}

Alpha-thalassemia X-linked intellectual disability (ATR-X) syndrome is caused by mutations in *ATRX*, which encodes a chromatin-remodeling protein. Genome-wide analyses in mouse and human cells indicate that *ATRX* tends to bind to G-rich sequences with a high potential to form G-quadruplexes. Here, we report that *Atrx* mutation induces aberrant upregulation of *Xlr3b* expression in the mouse brain, an outcome associated with neuronal pathogenesis displayed by ATR-X model mice. We show that *ATRX* normally binds to G-quadruplexes in CpG islands of the imprinted *Xlr3b* gene, regulating its expression by recruiting DNA methyltransferases. *Xlr3b* binds to dendritic mRNAs, and its overexpression inhibits dendritic transport of the mRNA encoding CaMKII- α , promoting synaptic dysfunction. Notably, treatment with 5-ALA, which is converted into G-quadruplex-binding metabolites, reduces RNA polymerase II recruitment and represses *Xlr3b* transcription in ATR-X model mice. 5-ALA treatment also rescues decreased synaptic plasticity and cognitive deficits seen in ATR-X model mice. Our findings suggest a potential therapeutic strategy to target G-quadruplexes and decrease cognitive impairment associated with ATR-X syndrome.

Alpha-thalassemia X-linked intellectual disability (ATR-X) syndrome (Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) entry 301040) is caused by *ATRX* mutations^{1–3}. *ATRX* encodes the switch/sucrose nonfermentable (SWI/SNF)-like chromatin remodeling protein ATRX, which contains two signature motifs. One is a plant homeodomain designated the ATRX–DNMT3–DNMT3L domain, which binds to histone H3 tails, specifically at H3K4me0K9me2/3 (refs 4–6). The other includes seven helicase subdomains that confer ATPase activity^{7,8}.

Genome-wide analysis that combines chromatin immunoprecipitation with next-generation sequencing (ChIP-seq) in both primary human erythroid cells and mouse embryonic stem cells (ESCs) shows ATRX enrichment at G-rich variable number tandem repeats, some of which form non-B DNA structures, including G-quadruplexes⁹. ATRX functions as a part of a histone chaperone complex that deposits the histone variant H3.3 onto pericentromeric heterochromatin and telomeres collaborating with death domain-associated protein (DAXX) in HeLa cells¹⁰ and murine ESCs^{11,12}. ATRX/H3.3 co-localization also occurs on the DNA-methylated allele of many imprinted genes and is associated with differentially methylated regions in mouse ESCs¹³. Some imprinted genes show upregulated expression in the forebrain of *Atrx* conditional knockout (cKO) mice^{14,15}, suggesting that ATRX silences the active allele. Moreover, expression of the autism-related gene *Nlgn4* significantly decreases in the forebrain of *Atrx* cKO mice¹⁶. Imprinting loss in neurons leads to various mental retardation syndromes, including Prader–Willi and Angelman syndromes¹⁷. However, the relation-

ship between abnormal expression and cognitive dysfunction in ATR-X syndrome remains unclear.

Results

ATRX regulates *Xlr3b* expression in the mouse brain. *Atrx* ^{Δ E2} mice, which are engineered to lack *Atrx* exon 2, show cognitive defects, among other phenotypes¹⁸, and express a mutant protein that corresponds to a variant with an Arg37Stop (R37X) mutation in exon 2 seen in human ATR-X syndrome^{19–21}. Moreover, *Atrx* ^{Δ E2} mice show 80% reduction in ATRX protein levels^{18,19}, similar to outcomes seen in 27 individuals with ATR-X syndrome⁸. We used DNA microarrays to assess the transcriptional profiles at post-natal day 90 (P90) in the hippocampus of wild-type (WT) and *Atrx* ^{Δ E2} mice. To identify differentially expressed genes, we used an algorithm combining the false discovery rate (FDR) and fold change in expression and identified 31 genes (8 upregulated and 23 downregulated) in WT versus *Atrx* ^{Δ E2} samples. Among them was *Atrx* itself, which was downregulated in *Atrx* ^{Δ E2} mice (see Supplementary Table 1 for a list of genes with an FDR < 0.05 and a log₂ fold change of > 0.5 or < -0.5). Among the genes that were markedly upregulated in *Atrx* ^{Δ E2} mice was a member of the lymphocyte-regulated (*Xlr*) gene family, *Xlr3a*, and the imprinted gene *Xlr3b*^{22–24} (FDR < 0.05 and log₂ fold change > 0.5; Fig. 1a). *Xlr3a* and *Xlr3b* genes show 94% protein similarity, and DNA microarrays are limited in their ability to distinguish related factors. Thus, we carried out reverse transcription PCR (RT-PCR) analysis with a common forward (FW) primer and subtype-specific reverse (RV) primers (Supplementary Fig. 1a).

¹Department of Biofunctional Analysis Laboratory of Molecular Biology, Gifu Pharmaceutical University, Gifu, Japan. ²Department of Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University, Sendai, Japan. ³Department of Chemistry, Graduate School of Science, Kyoto University, Kyoto, Japan. ⁴Division of Genetics, Kanagawa Children's Medical Center, Yokohama, Japan. ⁵Department of Evolutionary Studies of Biosystems, School of Advanced Sciences, SOKENDAI (The Graduate University for Advanced Studies), Hayama, Japan. ⁶Department of Medical Genetics, Osaka Women's and Children's Hospital, Osaka, Japan. ⁷Department of Cell Modulation, Institute of Molecular Embryology and Genetics, Kumamoto University, Kumamoto, Japan. ⁸Department of Medical Ethics and Medical Genetics, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan. *e-mail: shioda@gifu-pu.ac.jp; wadataka@kuhp.kyoto-u.ac.jp; kfukunaga@m.tohoku.ac.jp

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
和田敬仁	ATR-X症候群	小児科診療	79	16	2016
和田敬仁	ATR-X症候群	小児科診療	79	16	2016
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 Globin Gene Expression.	Chembiochem.	17	928-35,	2016
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
和田 敬仁	脳クレアチン欠乏症候群の概観とクレアチントランスポーター欠損症.	腎と透析	83	67-73	2017
秋山 倫之	クレアチン合成障害(AGAT欠損、GAMT欠損)による中枢神経疾患.	腎と透析	83	74-79	2017
Shioda N, Yabuki Y, Yamaguchi K, Onozato M, Li Y, Kurosawa K, Tanabe H, Okamoto N, Era T, Sugiyama H, Wada T and Fukunaga K.	Targeting G-quadruplex DNA as cognitive function therapy for ATR-X syndrome	Nature Medicine			2018 [in press]