

200936/13A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

Gorlin 症候群の病態解明と
治療法確立のための臨床的研究

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 藤井 克則

平成 22 年 (2010 年) 5 月

目 次

I. 総括研究報告	2
Gorlin 症候群の病態解明と治療法確立のための臨床的研究	
藤井 克則(千葉大学大学院医学研究院小児病態学)	3
II. 分担研究報告	10
1. 本邦における Gorlin 症候群患者の実態に関する研究(第一次調査)	
杉田 克生(千葉大学教育学部基礎医科学)	
遠藤真美子(千葉大学大学院医学研究院小児病態学)	11
2. Gorlin 症候群の病態解明と治療法確立のための臨床的研究	
宮下 俊之(北里大学医学部分子遺伝学)	18
3. 多発性顎嚢胞により Gorlin 症候群と診断した4家系	
斎藤加代子(東京女子医科大学附属遺伝子医療センター)	22
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	25
IV. 研究成果の刊行物・別刷	28

I 総括研究報告

Gorlin 症候群の病態解明と治療法確立のための臨床的研究

研究代表者 藤井 克則 千葉大学・大学院医学研究院・助教

研究要旨

Gorlin 症候群は、1960 年に Gorlin らによって報告された身体奇形と高発癌性を特徴とする神経皮膚症候群である。欧米での疫学調査により Gorlin 症候群の診断基準と有病率がそれぞれ示されているが、本邦を含めアジアでの報告はない。我々は本事業において初めて全国調査を行い、日本国内に 300 人以上の Gorlin 症候群患者が存在すること、また責任遺伝子である PTCH1 解析により従来の挿入欠失変異以外に全欠失例が多数存在することを明らかにした。今後は一次調査で判明した Gorlin 症候群患者の臨床症状および治療内容を解析することで、日本国内における有病率と診断基準を策定し治療方針を定めてゆきたい。

研究分担者

- ・宮下 俊之 北里大学医学部、分子遺伝
教授
- ・齋藤加代子 東京女子医科大学小児科
教授
- ・杉田 克生 千葉大学教育学部基礎医科学 教授

研究協力者

- ・遠藤真美子 千葉大学大学院医学研究院
小児病態学 大学院生
- ・塩浜 直 千葉大学大学院医学研究院
小児病態学 大学院生
- ・須山麻衣子 千葉大学医学部附属病院
小児科医員

A. 研究目的

Gorlin 症候群は 1960 年に Gorlin らによって報告された身体奇形と高発癌性を特徴とする神経皮膚症候群である。身体奇形には、手掌足底の皮膚小陥凹、顎骨嚢胞、椎骨肋骨奇形、大頭症、大脳鎌石灰化がある。また基底細胞癌、髄芽腫等を多発する高発癌性遺伝疾患でもある。

Gorlin 症候群は欧米では 27,000 人に 1 人の有病率を示す遺伝性高発癌性疾患だが、症例報告はあるものの本邦では現在までにまとまった報告はない。Gorlin 症候群では、年齢とともに癌が発生しやすい特徴があるが、一番の問題点は加齢とともに発生する癌に対しては現在予防法や治療方法が確立されていないことである。このような状況の中で、医療者は手探りで診療を行っているのが実情であり、その対処法の確立は長年望まれてきている。このような状況から、本研究の目的は全国調査を通じて本疾患の現状を探るとともに、

日常生活上の対応を含め具体的な診療指針を作成し、本症候群への医療的対応を示すこととした。

Gorlin 症候群では臨床症状が多岐にわたるため診療科が複数に渡る傾向がある(藤井ら、脳と発達 1996)。すなわち先天奇形では小児科を、歯原性腫瘍(顎骨内嚢胞)では口腔外科を、皮膚小陥凹および基底細胞癌では皮膚科を、髄芽腫では脳神経外科を、そして側彎症や肋骨椎骨異常では整形外科を受診することが多い。Gorlin 症候群における合併症の報告は欧米を中心に行われているが(Kimonis et al., 1998)、いずれも Caucasian 中心の白人における検討である。基底細胞癌などは有色人種で発生率の相違がすでに予想されており、本研究では国内外で初めて有色人種における Gorlin 症候群の現状を診療科横断的に解析することになる。人種差の具体例としては基底細胞癌の発症率の相違が考えられるが、その詳細は未だ明らかでない。今回行われた我々の1次調査により、日本国内に 300 人も患者数の存在が明らかになった。本研究は現在行われている治療の内容を検討することで本症候群における望ましい診療指針を策定することが独創的な特色であるといえる。

B. 研究方法

研究を達成するための具体的な研究計画及び方法は下記の通りである。

研究計画は(a)臨床研究面と(b)基礎研究面の双方より策定した。臨床研究は疫学的調査が主体となり、現在行なわれている疾患治療の現状とその予後について調査し、Gorlin 症候群における治療指針を策定するとともに、基礎的研究では疾患原因遺伝子の PTCH1 解析を通じて疾患発症メカニズムを解明する。具体的研究内容は下記の通りである。

1. 臨床研究面:研究代表者の藤井と研究分担者の杉田が中心となって全国調査を行い、Gorlin 症候群の有病率を明らかにするとともに、年齢別の腫瘍発生を解析しそれに対して行われた治療法とその予後を明らかにする。また発達上奇形(顎骨内嚢胞、手掌足底皮膚小陥凹、肋骨異常、大脳鎌石灰化)の発生年齢とその推移を明らかにする。腫瘍および発達上奇形についてはそれぞれ好発年齢が不明であるため、臨床医家に対する早期診断のための情報提供を行ってゆく。近年骨成熟に PTCH1 遺伝子が重要な役割を果たしていることが我々の研究で判明し、PTCH1 遺伝子変異を持つ Gorlin 症候群患者で骨異常がないかどうかについても検討する。
2. 基礎研究面:研究代表者の藤井と研究分担者の宮下が中心となって、PTCH1 遺伝子解析を通じて表現型と遺伝子型の関連を調査し、疾患発生のメカニズム解明に役立てる。PTCH1 遺伝子解析はすでに方法として確立し、我々はすでに効率的なプライマー対を開発して高感度に PTCH1 遺伝子変異を検出している。本研究もその方法を踏襲して引き続き PTCH1 遺伝子解析を継続していく。すでに 22 家系 25 例の検討で 80%以上の精度で PTCH1 変異を同定している。また我々は染色体微小欠失例の報告も行っており、腫瘍にこの微小欠失がないか CGH アレイ解析を新たに行う。
3. 研究代表者(藤井)は全体の研究を統括すると共に、倫理面への配慮を全般的に行なう。臨床研究面は研究代表者の藤井と研究分担者の杉田と齋藤が、また基礎研究面については研究分担者の宮下が原因となる PTCH1 遺伝子解析を通じて疾患の発症メカニズムを解明する。研究協力者(遠藤、塩浜、須山)はそれぞれ研究代表者と研究分担者を臨床面および基礎面か

ら補佐する。いずれの構成員も長年の診療経験から Gorlin 症候群を熟知しており、遅滞なく計画を実行することができる。

4. この期間内に本邦における Gorlin 症候群の患者数を明らかにしてその有病率を算出するとともに、本患者における悪性腫瘍の頻度およびそれに対して選択された治療法とその予後について調査し今後の本患者に対する治療指針を策定する。Gorlin 症候群は診療科が多岐にわたるため、関連科(小児科、皮膚科、脳神経外科、整形外科、口腔外科)にすでに調査票を郵送し、集計した結果を解析する。具体的には続発する癌に対する治療効果を判定し、放射線療法の許容範囲など望ましい治療方法を提示する。これら結果を受けて医療機関および患者家族向けのパンフレットおよびリーフレットを作成し、関連関連医療機関に配布する。また Gorlin 症候群の発生機序の解明に関わる *PTCH1* 遺伝子解析も継続して行い、従来に行き続いて *PTCH* 遺伝子が形態形成ならびに発癌に関与するメカニズムを解明する。
5. 倫理面について: 研究対象者に対する人権擁護上の配慮は十分に行い、個人情報保護に留意するとともに、不利益・危険性の排除や説明と同意(インフォームドコンセント)を取得して研究計画を実行する。現在本研究施行のための新たな説明・同意文書をすでに作成し、倫理委員会での承諾をすでに得ている。なお、本研究では実験動物を使用しないため、動物愛護上の配慮は必要としていない。
- ・なお今回の研究で行われる *PTCH1* 遺伝子解析(ヒト遺伝子解析研究)についてはすでに千葉大学、及び北里大学の倫理委員会の承認を得ている。患者由来細胞についてはすでに患者より同意を得て採取されているが、近年合意されたあらためて臨床

研究指針にのっとり、現在千葉大学生命医学倫理委員会に審査を申請し認可された。今後、再度患者本人より書面により同意を得る予定である。

- ・ヒトの遺伝子解析研究については、ヒト由来試料等の提供者、その家族・血縁者その他の関係者の人権および利益の保護の取り扱いに十分配慮する。Gorlin 症候群の遺伝子診断については、すでに千葉大学の生命倫理審査委員会から承認を受けておりその決定事項を遵守する。
- ・供給者およびその家族に対しては十分な説明を行いインフォームドコンセントを文書で取得する。また疾患関連情報について提供者に供給する場合には、遺伝カウンセリングを受ける機会を与える等の配慮を行っている。

C. 研究結果

詳細は各分担研究者の報告を参照いただきたい。具体的には、1)平成 21 年度の全国一次調査による Gorlin 症候群患者の実態の把握、2)*PTCH1* 遺伝子解析による *PTCH1* 全欠失症例の発見、3)顎骨嚢胞症例の臨床像の解析、の3点が平成 21 年度の研究成果である。

- 1) 全国一次調査(杉田克生教授、遠藤真美子大学院生:千葉大学):本邦における Gorlin 症候群の実態を調査するため、全国主要施設の小児科、小児神経科、遺伝科、脳神経外科、皮膚科、歯科口腔外科を対象にアンケート調査を行った。57.8%の施設から回答があり、のべ 311 症例が報告された。歯科口腔外科が 62.1%と最も多く、次いで皮膚科が 26.4%であった。年齢分布は 10 歳代が最多であり、症状は歯科疾患 77.5%、皮膚科疾患 57.2%、骨奇形 30.9%の順であった。今回報告された症例について第

二次調査を行いさらに詳細に検討する。

2) PTCH1 遺伝子解析(宮下俊之教授:北里大学):我々は以前より Gorlin 症候群の遺伝子解析を行っており、今年度は通常の PCR-シーケンシング法で責任遺伝子 *PTCH1* に変異が見出されなかった症例について、コピー数解析用のカスタムアレイを作製しアレイ CGH 法で解析したところ、2 家系でそれぞれ 1.1 Mb と 2.4 Mb にわたるゲノムの半量欠損を認め、*PTCH1* はいずれの欠損領域にも含まれていた。昨年度までに解析した症例を含めると、日本人 NBCCS の 16%(5/32)は *PTCH1* 遺伝子の全欠損が原因であり、通常の方法で変異が見出されない家系に限ると、遺伝子欠損例は 63%(5/8)であった。以上の点から、変異陰性例では *PTCH1* のコピー数解析が重要と考えられた。

3) Gorlin 症候群患者の臨床像と遺伝子変異(齋藤加代子教授:東京女子医科大学):多発性顎嚢胞をきっかけに Gorlin 症候群と臨床診断した 4 家系の患者の末梢血からゲノム DNA を抽出し、*PTCH* 遺伝子検査を行い、すべてに *PTCH* 遺伝子変異を認め確定診断を得た。4 例の間で genotype-phenotype correlation は認めなかった。*PTCH* 遺伝子検査による診断の確定は、患者に将来起こりえる基底細胞癌に対する対策や早期治療、また浸透性の高さに関する理解を与えることができ重要だった。

D. 考察

1) 全国一次調査:

今回初めて日本国内における Gorlin 症候群患者の実数把握がなされ、当初予想をはるかに超える 311 名もの患者数が判明

した。現在その詳細な臨床像を検討しているが、次の点が Gorlin 症候群における注目すべき課題と考えられる。

まず成人期の基底細胞癌に対する治療が予想以上に困難を極めている。基底細胞癌に対して手術療法および抗癌剤治療が行われているが、経時的に多発するため根治させることが困難である。癌転移による生命の危険も生じており、基底細胞癌に対する根本的な治療法の開発が期待される。現在 *PTCH* タンパクの隣接タンパクである SMO を標的とした分子標的治療薬が登場し、臨床応用が行われている。現在までにヒトの基底細胞癌と髄芽腫に投与されその効果が限定的ではあるが確認されている(N Engl J Med, 361:164-72, 2009, 361:1173-8, 2009)。分子標的薬の使用に伴って SMO 遺伝子に新たな変異が加わることで薬剤効果が減じることも報告されており(N Engl J Med, 361:1173-8, 2009)、本格的な治療応用にはまだ時間が必要であろう。またこれら分子標的治療薬は骨成長を停止させるため(Dev Cell, 14:689-699, 2008)、小児における臨床応用は現時点では考えられていない。これらのことから成人領域の基底細胞癌ではともかく、小児期に発症する髄芽腫の治療はやはり早期発見、早期治療に尽きるといっても過言ではない。

しかし従来根本的治療がなかった Gorlin 症候群で多発する基底細胞癌に対する分子標的薬の登場は、本疾患における早期診断の重要性をますます高めるものとなるだろう。

2) *PTCH1* 遺伝子解析:

Gorlin 症候群の責任遺伝子である *PTCH1* はヒト 9 番染色体上で 24 個のエクソンから構成され、1447 個のアミノ酸をコードしてい

る。PTCH1 は 12 個の膜貫通領域、2 個の細胞外大ループ、1 個の細胞内大ループを有する 12 回膜貫通型細胞膜タンパクであり、ソニックヘッジホッグタンパクの受容体として機能する。PTCH1 遺伝子変異は、現在までに 160 以上の変異が同定されている。また PTCH1 には選択的スプライシングに由来する様々なアイソフォームが存在し、それらが臓器特異的に発現することも報告されている。欧州とオーストラリアからの PTCH1 遺伝子解析の多症例の報告はあるものの、アジアからの多症例の報告は少なく人種差について不明な点が多い。我々はこの PTCH1 遺伝子解析を系統的に行ない、80%以上の症例でその遺伝子変異を同定している。

今回宮下らは従来の PCR ダイレクトシーケンス法で PTCH1 遺伝子変異が同定できなかった症例について、新たにアレイ CGH 法で解析を行い、日本人 Gorlin 症候群患者の 16%(5/32)は PTCH1 遺伝子の全欠損が原因であることを見出した。これらは PTCH1 変異陰性例では PTCH1 のコピー数解析が重要であり、遺伝子解析ではこれらアレイ CGH 法を組み合わせた解析法が有用であることが示された。

Gorlin 症候群には易腫瘍形成性があり早期発見・早期治療が望ましい。その上で PTCH1 遺伝子解析の意義は次の二通りが考えられる。すなわち第一に小児期早期の Gorlin 症候群には特徴的な臨床症状がそろわないことがあるため、PTCH1 遺伝子解析により早期診断を行い、注意深い経過観察と可能な治療に入ることが可能になる。第二に分子標的薬が今後臨床応用される際に、その治療効果の予測に遺伝子解析が用いられる可能性がある。Gorlin 症候群における Germline 変異を明らかにすることで分子レベルの治療選択が実現することも

考えられ、本解析はその意味でも意義深いものになるだろう。

3) Gorlin 症候群患者の臨床像と遺伝子変異:

Gorlin 症候群には今までに複数の診断基準が提唱されているが、中でも Kimonis らの診断基準が临床上最も汎用されている。その内容は6つの大項目(基底細胞癌、顎骨嚢胞、手掌足底小陥凹、大脳鎌石灰化、肋骨異常、第1度近親の本症家族歴)と6つの小項目(大頭症、先天奇形、骨格異常、X線異常、卵巣線維腫、髄芽腫)からなり、2つの大項目、あるいは1つの大項目と2つの小項目があれば Gorlin 症候群と診断できる。この中で、主要5症候の基底細胞癌、皮膚小陥凹、顎骨内嚢胞、椎骨肋骨異常、大脳鎌石灰化は临床上よく認められる症状であるがこれらは年齢依存性に出現し、診断基準にない症候も多く存在するため早期には診断に難渋することが多い。また常染色体優性遺伝でありながら新規の突然変異が多く、家族歴が存在しない症例も多い。従ってこのような状況においては、今回斎藤らが示したように、Gorlin 症候群と確定診断するためにその責任遺伝子である PTCH1 解析が有用である。

なお今回の一次調査で注目すべき臨床点としては、基底細胞癌の有色人種における発症率の低さが挙げられる。その詳細については、本研究の二次調査における詳細な検討を待つ必要があるが、欧米人種と比較して明らかに日本人の基底細胞癌の発症頻度は低く、その発症機序に人種差が存在することが考えられた。今後基底細胞癌の予防法および治療法を考える上で重要な易学情報になりうると思われる。

Gorlin 症候群は次の三つの理由から早期診断が非常に重要な疾患といえる。第一に

高発癌性疾患であり、様々な腫瘍が年齢依存性に出現する。早期診断により発生する癌を定期的にチェックすることで腫瘍の早期発見から治療に導くことが重要である。第二に早期診断により治療や環境に伴って発生する二次癌を予防することができる。Gorlin 症候群では髄芽腫における放射線治療により、その照射域に一致して多数の基底細胞癌やその他の二次癌が生じる現象が報告されている。また早期診断により不必要な放射線や紫外線照射を避け、基底細胞癌の発症リスクを低下させることが求められる。第三には正しい診断により不必要な検査を避けることができる。経時的な頭部 CT は頭部 MRI で代用可能であり、顎骨嚢胞はその好発年齢時に限って検査を行なうことができる。このように年齢依存性に出現する症状を必要最小限の検査で捉えるためにも早期診断は重要である。

Gorlin 症候群は今回我々が示したように非常に広い症候スペクトラムを呈するがゆえに診断に難渋し、なおかつ未だ不明な点も多い。今後も二次調査を通じて更なる症例の解析を行い、疾患理解を深めていくことが必要である。

E. 結論

今年度の全国調査により、300 名を超える Gorlin 症候群患者の存在が明らかになった。またその臨床像は成人期の発癌問題の深刻さが改めて注目された。今後これらの発癌に対して方策を立てる必要性が考えられた。

本研究成果により Gorlin 症候群の診断率向上、一般診療現場に貢献するのみならず、疾患発生の分子機序の解明を通じて、新たな局面を開くことが今後期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(主要原著論文および発表のみを記す。発表の詳細は分担研究報告を参照のこと)

1. 論文発表

Sasaki,R., Saito,K., Watanabe,Y., Takayama,Y., Fujii,K., Agawa,K., Miyashita,T., Ando,T., and Akizuki,T. (2009). Nevroid basal cell carcinoma syndrome with cleft lip and palate associated with the novel PTCH gene mutations. *J. Hum. Genet.* 54, 398-402.

Fujii, K., Minami, N, Hayashi, Y, Nishino, I, Nonaka, I, Tanabe, Y, Takanashi, J, Kohno, Y. (2009). Homozygous Female Becker muscular dystrophy. *Am. J. Med. Genet.* 149A:1052-5.

Okumura A, Kidokoro H, Shoji H, Nakazawa T, Mimaki M, Fujii K., Oba H, Shimizu T. (2009) Kernicteroid Syndrome of Preterm Infants. *Pediatrics* 123(6):e1052-8.

Hashimoto Y, Takanashi J, Kaiho K, Fujii K., Okubo T, Ota S, Kohno Y. (2009) A splenial lesion with transiently reduced diffusion in clinically mild encephalitis is not always reversible. *Brain Dev* 31:710-2.

藤井克則、内川英紀、杉田克生、河野陽一。(2009)「顎骨嚢胞および大脳鎌の石灰化を契機に診断されたGorlin症候群の1例」小児疾患アトラス 目で見る小児科150 小児科別冊 46.

藤井克則、宮下俊之。(2009)「ヘッジホッグと形態形成 —発生生物学から臨床医学への応用—」*脳と発達*41: 247-252.(7月刊行)

藤井克則、宮下俊之。(2009)「ヘッジホッグと形態形成 —Gorlin症候群とPTCH遺伝

子変異一」日本小児皮膚科学会雑誌
第28巻第2号65-71。

田辺良、藤井克則、宮下俊之、杉田克生、
内川英紀、遠藤真美子、新井ひでえ、河
野陽一。(2009)「Gorlin症候群における臨
床的検討—主要症状を中心とした多様な
症候スペクトラム—」脳と発達 41:
253-257.

遠藤真美子、藤井克則、宮下俊之、杉田克
生、内川英紀、田辺良、新井ひでえ、河
野陽一。(2009)「Gorlin症候群における分
子遺伝学的検討—PTCH1遺伝子変異と
その多様な変異スペクトラム—」脳と発達
41: 259-263.

2. 学会発表

Fujii, K, Miyashita, T, Ishikawa, S,
Aburatani, H, Uchikawa, H, Shiohama, T,
Suyama, M, Kohno, Y. (2009)
Highdensity oligonucleotide array with
subkilobase resolution reveals
submicroscopic deletions and breakpoint
information in Gorlin syndrome. Child
Neurology Society 38th Annual Meeting,
Louisville, KY, U.S.A. Ann Neurol 66
(suppl 13) S132.

藤井克則。「ヘッジホッグと形態形成: Gorlin
症候群と PTCH 遺伝子変異」第 33 回日
本小児皮膚科学会総会シンポジウム: 皮
膚疾患と遺伝子異常、2009.7.4-5、千葉
佐々木亮、齋藤加代子、宮下俊之、渡辺頼
勝、藤井克則、阿川かおり、高山吉永、秋
月種高、安藤智博。多発性顎嚢胞を契
機に診断した PTCH 遺伝子異常を伴った
基底細胞母斑症候群、第 15 回日本家族
性腫瘍学会学術集会、2009.6.12-13、東
京

H. 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

Ⅱ 分担研究報告

厚生労働科学省研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
分担研究報告書

本邦におけるGorlin症候群患者の実態に関する研究(第一次調査)

研究分担者 杉田 克生 千葉大学教育学部基礎医科学 教授
研究協力者 遠藤真美子 千葉大学大学院医学研究院小児病態学 大学院生

研究要旨

本邦における Gorlin 症候群の実態を調査するため、全国主要施設の小児科、小児神経科、遺伝科、脳神経外科、皮膚科、歯科口腔外科を対象にアンケート調査を行った。57.8%の施設から回答があり、のべ 311 症例が報告された。歯科口腔外科が 62.1%と最も多く、次いで皮膚科が 26.4%であった。年齢分布は 10 歳代が最多であり、症状は歯科疾患 77.5%、皮膚科疾患 57.2%、骨奇形 30.9%の順であった。今回報告された症例について第二次調査を行いさらに詳細に検討する。

A. 研究目的

日本国内におけるGorlin症候群患者の実数を明らかにし、おおまかな患者属性、臨床像、関与する医療機関のデータを収集する。

B. 研究方法

全国の以下の項目にあてはまる診療科に調査表を送付し回答を集計した。

対象科は、本疾患のおもな症状から受診が期待される5科:小児科または小児神経科、遺伝科、脳神経外科、皮膚科、歯科口腔外科とした。

送付施設は、全国の500床以上を有する病院に加え、日本皮膚科学会認定専門医研修施設のうち300床以上を有する施設、日本脳神経外科学会専門医訓練施設A項、日本口腔外科学会認定研修施設、小児神経専門医研修

認定施設、臨床遺伝専門医制度研修施設に認定されている施設とした。

調査対象を1999年8月1日から2009年7月31日の10年間に当該診療科を受診した患者とし、施設ごとの全患者数、および、性別、年齢層、おもな症状、遺伝子検査の有無について、それぞれの患者数を調査した(図1)。

なお、本研究は千葉大学大学院医学研究院における倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

調査票は計1938施設に送付した。そのうち診療科閉鎖などの理由で22施設が調査不能であり、対象施設数は1916施設であった(歯科口腔外科414施設、小児科・小児神経科・遺伝科(以下この3科を小児関連科とする)423施設、脳神経外科479施設、皮膚科600施設)。施設

名無記入などの無効回答が4施設あり、有効回答は1120施設から得られた(回答率57.8%) (表1)。

有効回答のうち、症例「あり」が146施設(13.2%)だった。科別には歯科口腔外科77施設(36.2%)、小児関連科12施設(3.9%)、脳神経外科6施設(2.4%)、皮膚科51施設(14.9%)であり、歯科口腔外科について皮膚科で多く診療されている結果となった。病院種別には一般病院66施設(45.2%)、特定機能病院58施設(39.7%)、こども病院11施設(7.5%)、歯科病院11施設(7.5%)であった(図2)。

報告された患者数はのべ311例であり、その内訳は歯科口腔外科193例(62.1%)、小児関連科28例(9.0%)、脳神経外科8例(2.6%)、皮膚科82例(26.4%)であった(表2)。病院種別では、全症例の46.6%が特定機能病院からの報告であり、次いで一般病院32.4%(500床以上22.8%、500床未満9.6%)、歯科病院13.2%、小児病院8.0%であった(図3)。症例は人口の多い地域に多かったが、全国に分布していた(図4)。

症例の内訳は、男女比1.22:1、年齢別には10歳未満11.1%、10歳代32.0%、20歳代19.9%、30歳代11.4%、40歳代7.5%、50歳以上18.0%であり、ピークは10歳代であった(図5)。小児関連科では20歳未満が多く、歯科口腔外科は10歳代が最多、皮膚科は年齢が上がるごとに増加し特に40歳以上で多かった(図6)。

おもな症状は歯科疾患77.5%、皮膚科疾患57.2%、骨奇形30.9%、脳外科疾患24.4%、発達異常17.4%であった(図7)。診療科ごとに呈する症状の頻度は異なったが、小児関連科で

は他の3科と比較しすべての症状が多く認められた(図8)。

PTCH遺伝子検査は22施設、45症例(14.5%)に行われていた。

D. 考察

Gorlin症候群についてこれまで欧米からの報告はあるものの、国内では数例をまとめた報告のみであった。今回我々は、初めて本疾患の全国調査を行った。

集まった症例数はのべ311例にのぼり、歯科口腔外科および皮膚科からの症例が大多数を占めた。約半数が特定機能病院、こども病院、歯科病院といった専門分化した施設から報告された。これは、本疾患の主症状である、多発する基底細胞がんおよび顎骨のう胞(角化のう胞性歯原性腫瘍)に対する専門的な診療が必要とされていることを示していると考えられる。一方で、皮膚科では16%の症例が500床未満の一般病院からの報告であり、特定機能病院や総合病院以外の施設でも管理されていることが示唆された。

年齢分布は10歳代がピークであり50歳以上で微増した。本疾患の自然歴として角化のう胞性歯原性腫瘍は10歳前後から発症が増加しその後徐々に減る事が知られており、10歳代のピークはそれを反映したものと考えられた。また高年齢での増加は基底細胞がんの発症を反映しているものとする。各科別の年齢分布も自然歴を反映していると考えられた。

本疾患の症状は多岐にわたるが、今回の調査で最も頻度が高かったのは歯科疾患、ついで皮膚科疾患の順であった。欧米からは顎骨

のう胞66～74%、基底細胞がん47～80%の報告があるが、今回の調査では本邦での頻度もほぼ同等となる可能性が示された。しかし、我々が過去に行った研究では、邦人では基底細胞がんの頻度が白人より低い可能性が示唆されており、さらに詳細な検討が必要である。また、今回の調査では各診療科において症状の頻度が異なり診療科ごとの特性が表れる結果となった。小児関連科から報告された症例は他3科と比較し全ての症状の頻度が高かったが、多くの症状を呈する場合には低年齢で診断される可能性が考えられた。

今回の調査では本邦におけるGorlin症候群症例の実数把握を目的としたが、対象科および対象施設の選定により全ての症例を網羅できていない可能性は残る。また、多科にわたり診療を受けている症例では重なって報告されていることも考えられるため、より正確なデータを得るためにはさらなる検討を必要とする。今回報告された症例について二次調査を行い、症例の背景や症状、現在行われている検査、治療法についての詳細に情報収集することで、邦人における本疾患の自然歴、問題点を明らかにし今後の管理方針について検討したい。

E. 結論

Gorlin症候群の全国調査を行った。歯科口腔外科、皮膚科からの報告が多く、専門分化した施設で多くの症例が管理されていた。症状は多岐にわたり、本疾患の自然歴をうかがわせる年齢分布だった。今回の症例に対し二次調査を行い、さらに詳細に検討する予定である。

G. 研究発表

1. 論文発表

Chen, S-P., Dong, M., Kita, K., Shi, Q-W., Cong, B., Guo, W-Z., Sugaya, S., Sugita, K., Suzuki, N. Anti-proliferative and apoptosis-inducible activity of labdane and abietane diterpenoids from the pulp of *Torreya nucifera* in HeLa cells. *Mol. Med. Rep.*, in press.

田辺良, 藤井克則, 宮下俊之, 内川英紀, 遠藤真美子, 杉田克生, 新井ひでえ, 河野陽一. 「Gorlin 症候群における臨床的検討—主要症状を中心とした多様な症候スペクトラム—」*脳と発達* 2009, vol 41(4), pp253-257 (2009年7月1日発行)

遠藤真美子, 藤井克則, 宮下俊之, 内川英紀, 田辺良, 杉田克生, 新井ひでえ, 河野陽一. 「Gorlin 症候群における分子遺伝学的検討—PTCH1 遺伝子変異とその多様な変異スペクトラム—」*脳と発達* 2009, vol 41(4), pp259-263 (2009年7月1日発行)

H. 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

図 1 アンケート調査票

Gorlin 症候群に関するアンケート調査票

御所属 (_____ 病院 _____ 科)

御芳名 (_____)

(1) 貴科において、Gorlin 症候群症例 (または疑い例) を経験されていますか。
 あり (_____ 例) なし

以下は、(1) で「あり」の場合にお答えください。
 ご経験されている症例の詳細について、わかる範囲で () 内に○印あるいは症例数をご記入ください。

(2) 性別 男 (_____) 女 (_____)

(3) 年齢
 0~9 歳 (_____) 10~19 歳 (_____)
 20~29 歳 (_____) 30~39 歳 (_____) 40 歳~ (_____)

(4) 臨床症状
 骨奇形 (_____) 発達遅滞 (_____) 歯科疾患 (_____)
 皮膚疾患 (_____) 脳外科疾患 (_____) その他 (_____)

(5) 遺伝子検査を行った症例はありますか。
 あり (_____ 例) なし

ご協力、誠にありがとうございました。

表 1 アンケート調査概要

	全体	歯科口腔外科	小児関連科	脳神経外科	皮膚科
対象施設数	1916	414	423	479	600
有効回答数	1107	213	306	246	342
回答率 (%)	57.8	51.6	72.3	50.9	56.7
「あり」施設数	146	77	12	6	51
「あり」施設/回答施設 (%)	13.1	35.7	3.9	2.4	14.9
症例数	311	192	28	8	83

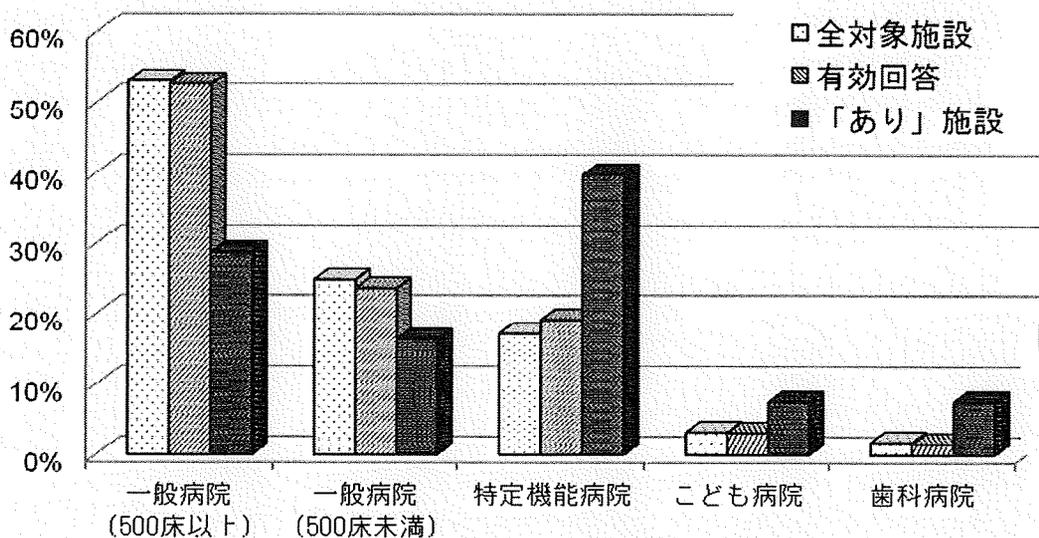


図 2 全体に対する各病院種別割合

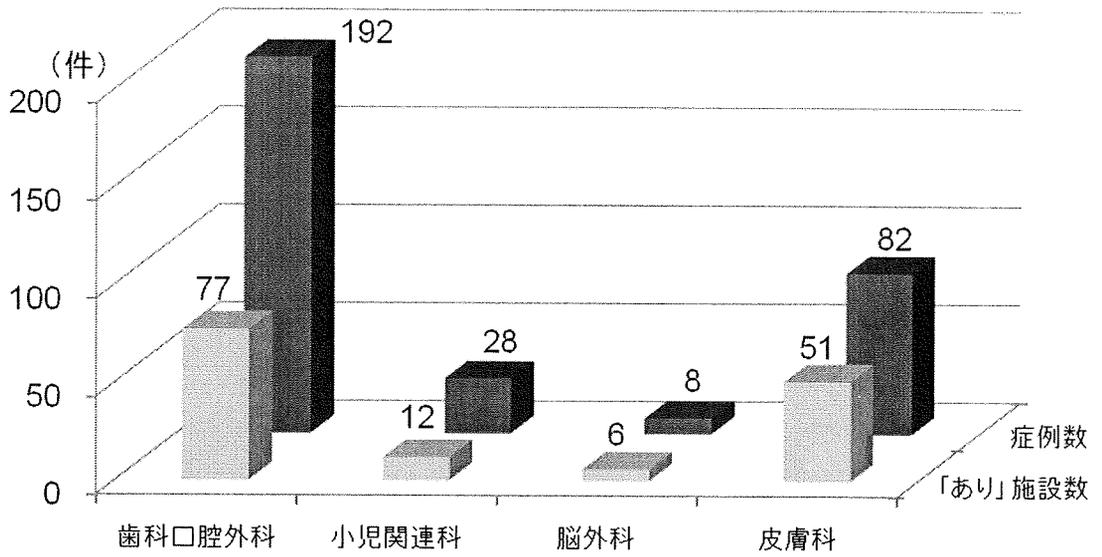


図 3 各科別「あり」施設数、症例数

図4 都道府県別症例分布

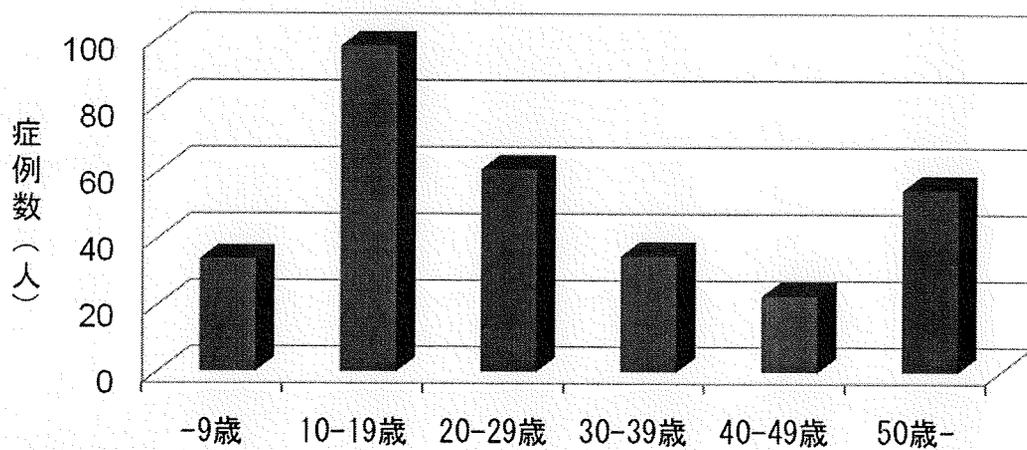
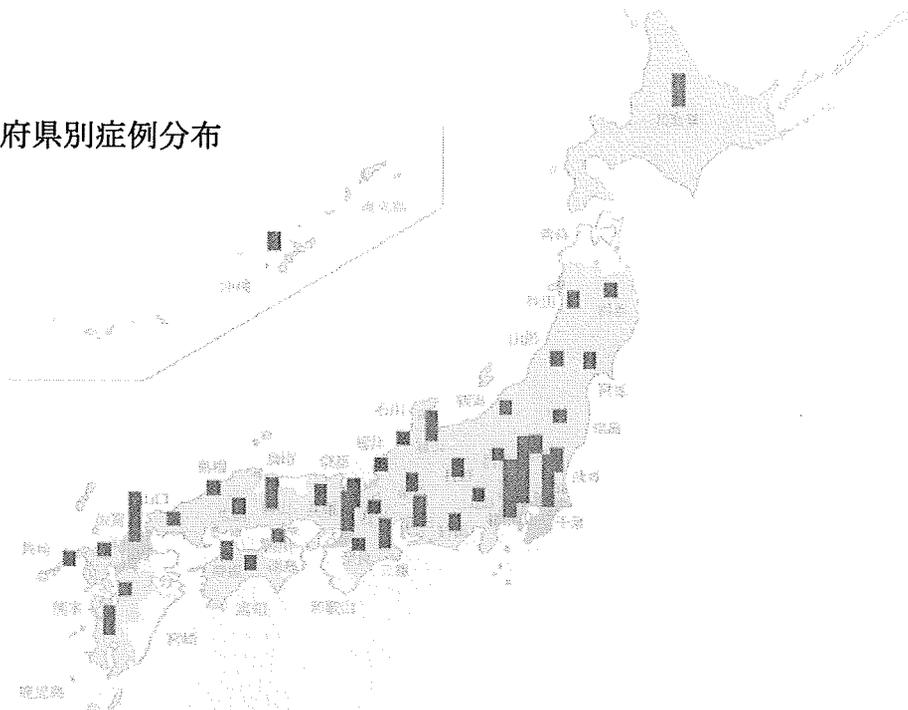


図 5 全体の年齢分布

表 2 症例詳細

		全体	歯科口腔外科	小児関連科	脳神経外科	皮膚科
症例数 (科別%)		311	192 (61.7%)	28 (9.0%)	8 (2.6%)	83 (26.7%)
男:女		168:138	97:94	18:9	2:5	51:30
年齢分布	9歳未満	34	17	9	3	5
	10-19歳	98	76	13	2	7
	20-29歳	61	42	3	1	15
	30-39歳	35	25	1	1	8
	40-49歳	23	11	1	1	10
	50歳以上	55	18	0	0	37
症状	骨奇形	96	53	19	1	23
	発達遅滞	54	25	15	1	13
	歯科疾患	241	175	21	2	43
	皮膚科疾患	178	82	18	2	76
	脳外科疾患	76	39	14	7	16
	その他	26	13	7	0	6
遺伝子検査		45	19	12	4	10

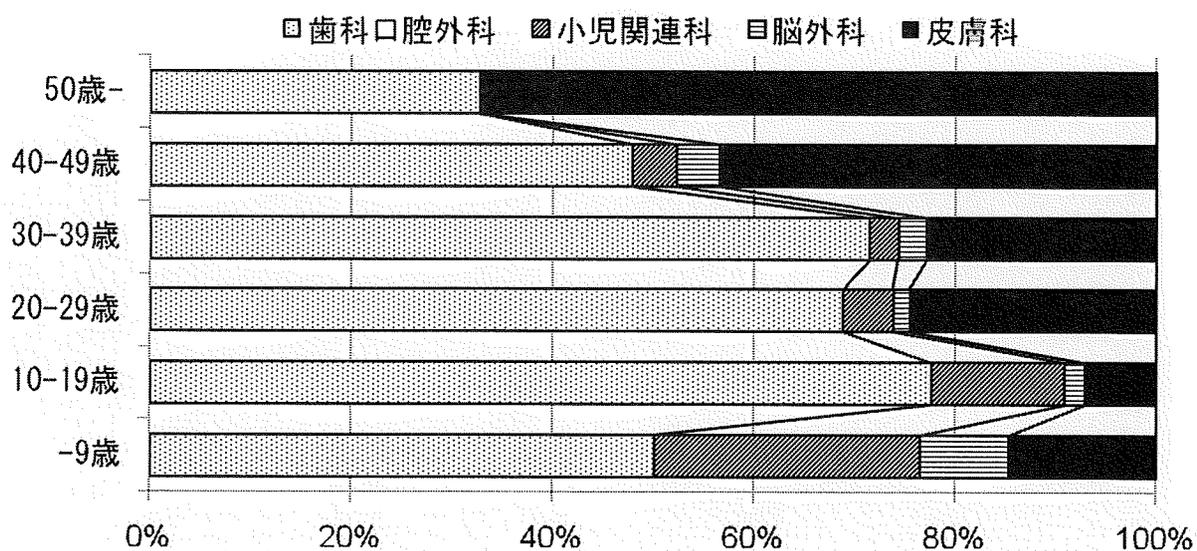


図 6 各年齢層における各科割合

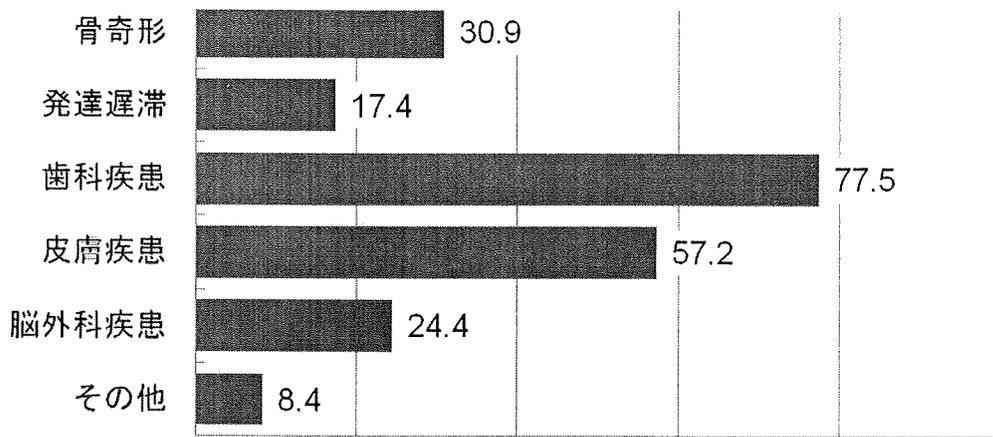


図 7 主要症状の頻度

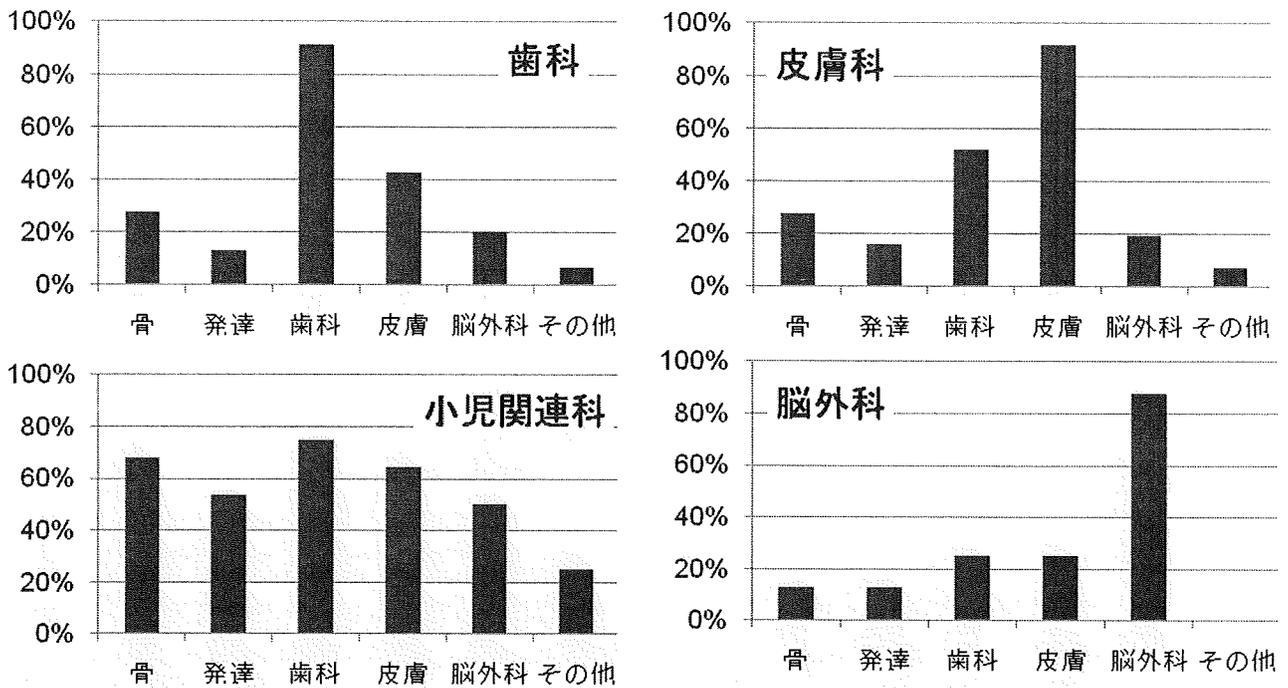


図 8 各科別症状頻度

Gorlin 症候群の病態解明と治療法確立のための臨床的研究

分担研究者 宮下 俊之 北里大学医学部・分子遺伝学・教授

研究要旨

我々は以前より母斑基底細胞癌症候群(NBCCS)(別名 Gorlin 症候群)(常染色体優性遺伝をする神経皮膚症候群、高発癌性遺伝疾患でもある)の遺伝子解析を行ってきた。今年度我々は、通常の PCR-シーケンシング法で責任遺伝子 *PTCH1* に変異が見出されなかった症例について、コピー数解析用のカスタムアレイを作製しアレイ CGH 法で解析したところ、2 家系でそれぞれ 1.1 Mb と 2.4 Mb にわたるゲノムの半量欠損を認め、*PTCH1* はいずれの欠損領域にも含まれていた。昨年度までに解析した症例を含めると、日本人 NBCCS の 16%(5/32) は *PTCH1* 遺伝子の全欠損が原因であり、通常の方法で変異が見出されない家系に限ると、遺伝子欠損例は 63%(5/8) であった。以上の点から、変異陰性例では *PTCH1* のコピー数解析が重要と考えられた。

A. 研究目的

NBCCS は常染色体優性遺伝をする小奇形を伴う神経皮膚症候群である。それと同時に基底細胞癌、髄芽腫等を多発する高発癌性遺伝疾患でもある。ショウジョウバエの体節形成時に作用する遺伝子 *ptc* のヒトホモログ *PTCH1* がこの疾患の責任遺伝子として同定されている。我々は以前より母斑基底細胞癌症候群 NBCCS の遺伝子解析を行ってきたが、依然一部の症例で変異が見出されない現状にある。本年度は責任遺伝子 *PTCH1* に変異の認められなかった 2 例(G35、G36)について *PTCH1* の欠損の可能性を考えて解析を行った。

B. 研究方法

コピー数解析には、Agilent 社に委託してカスタム作製したオリゴヌクレオチドマイクロアレイを用いた。オリゴヌクレオチドの長さは約 60nt で

あり、*PTCH1* をはさむ約 20 Mb の領域に 52,761 個のオリゴヌクレオチドプローブ(プローブ間の中央値 394bp)を作製した。250 ng の DNA を断片化した後、NBCCS の血液由来 DNA は Cy5 で、正常日本人由来 DNA は Cy3

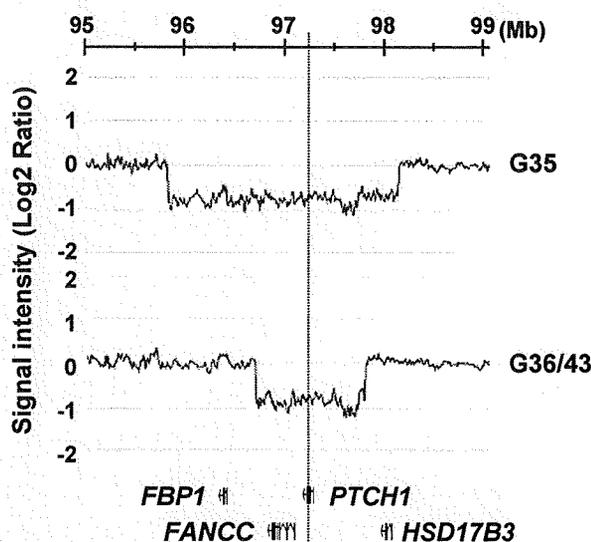


図1 NBCCS 2家系で見出された *PTCH1* の半量欠損。縦線は *PTCH1* の位置を表す。マイクロアレイプロフィールの下にこの領域に含まれる疾患遺伝子を示した。

患者番号	年齢	大きさ	欠損 RefSeq 遺伝子 ^b	欠損疾患 遺伝子 ^b	欠損形成機序	非典型的臨床症状
G19	10	165 kb	1	1	Alu-mediated NAHR	None
G27	40	165 kb	1	1	Alu-mediated NAHR	None
G36	8 M	1.1 Mb	9	2	Alu-mediated NAHR	None
G43	32	1.1 Mb	9	2	Alu-mediated NAHR	None
NS6	NA	1.2 Mb	13	3	Alu-mediated NAHR	None
G35	5	2.4 Mb	22	4	NHEJ	None
G10	8	5.3 Mb	58	6	NHEJ	severe mental and motor retardation, epilepsy, hypotonia, inguinal hernia
G5	12	11 Mb	93	13	NHEJ	severe mental and motor retardation, epilepsy, hypotonia, webbed neck, hydronephrosis

表 1 現在までに報告されている遺伝子欠損を伴う NBCCS 症例

で標識して array-based comparative genomic hybridization (aCGH) を行った。

aCGH で半量欠損が見出された場合、近位および遠位切断点と思われる領域にプライマーを作製し、PCR で欠損特異的な産物が産生される条件を探した。欠損特異的 PCR 産物を直接シーケンスして切断点の塩基配列を明らかにした。

(倫理面への配慮)

本研究は北里大学、東京女子医科大学、千葉大学倫理委員会の承認を得た上、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守して行われた。

C. 研究結果

症例 G35 と G36 でそれぞれ 2.4 Mb、1.1 Mb の *PTCHI* 遺伝子を含むゲノム半量欠損が見出された(図 1)。切断点の塩基配列より、G35 は非相同性断端結合によって、また G36 は *Alu* 配列を介する非対立相同組み替えによって欠損が生じたと考えられた。G36 の母親であり、かつ NBCCS 患者である G43 から全く同じ切断点の配列が得られた。我々が以前見出した *PTCHI* 欠損例と、他のグループが報告した 1 例(Takahashi C et al., 2009. J Hum Genet 54:

403-408) (SN6) を含めて表 1 にまとめた。これが現在までに明らかとなっている切断点の塩基配列まで解析された NBCCS 全家系であり、全て日本人である。欠損範囲は 165 kb から 15 Mb であった。2.4 Mb までの欠損例では NBCCS に典型的な症状以外の所見を認めなかったが、5.3 Mb より大きい欠損を持つ 2 例では高度の精神運動発達遅延、てんかん、筋緊張低下等の非典型的所見を呈しており、*PTCHI* と共に欠失している複数の隣接遺伝子による症状と考えられた。切断点のクローニングにより、1.2 Mb までの欠損例は *Alu* 配列を介する非対立相同組み替え (*Alu*-mediated NAHR) によりゲノム欠損が生じていることが明らかとなった。一方 2.4 Mb 以上の欠損は非相同性断端結合 (NHEJ) によって生じていた。

D. 考察

我々は今までに日本人 NBCCS 患者 32 家系の遺伝子解析を行い、24 家系で *PTCHI* の変異を見出している。PCR シーケンス法で変異が見つからなかった残り 8 家系で、高密度オリゴヌクレオチドマイクロアレイを用いてコピー数解析を行った結果、5 家系で *PTCHI* を含むゲノム領域の 1 コピー欠損が見出された。従って