

#### 呼吸障害

- 腹壁の異常（臍帯ヘルニア、腹直筋離開）
- 特徴的顔貌（前額部突出、眼瞼裂狭小、平坦な鼻梁、小顎）

#### 副症状

- 発達遅延
- 哺乳不良
- 翼状頸・短頸
- Laryngomalacia
- 関節拘縮
- 側弯症
- 鼠径ヘルニア

#### 治療指針(案)

現時点において、治療は対症療法となる。

##### ① 胎児期

羊水過多をきたすため安静入院、子宮収縮抑制剤投与などの早産管理が必要となる。羊水過多が著明で母体の圧迫症状などがでることも多く、適宜羊水吸引術を施行する。できるだけ満期まで妊娠継続する。

##### ② 新生児期

呼吸障害：出生時からほとんどの症例で人工呼吸器管理を必要とする重症の呼吸障害を呈する。一方で酸素投与のみで症状が軽快する軽症例も少ないが存在する。呼吸障害の重症度が生命予後に大きく関与する。呼吸障害の改善に長い時間を必要とする症例が多いが、急性期をのりきれば成長に伴って改善する場合も多い。呼吸障害の原因となる喉頭軟化、気管・気管支軟化、胸郭低形成に対し根本的な治療はなく、成長に伴って改善するのを待機するしかないため、数ヶ月の人工呼吸器、1年程度の酸素使用（特異に夜間）を必要とすることが多い。

腹壁異常：臍帯ヘルニアは出生時より問題となる。外科手術を必要とするが、臍帯ヘルニアの還納により腹圧が上昇し、呼吸障害が悪化する可能性があり注意が必要である。

##### ③ 乳児期以降

呼吸障害：在宅人工呼吸器で退院する症例も存在する。人工呼吸器からの離脱に関しては、気管気管支軟化症のほかに、胸郭の成長が極めて重要であり、胸郭発達を促す方法としての早期からの呼吸リハビリテーション

の導入は極めて重要である。気管気管支軟化症に対し気管切開を必要とする症例を約 1/3 に認める。

蠕動機能障害（慢性便秘）：従来記載の乏しい重篤な合併症として注意する必要がある。

発達障害：DQ は 32 から 48 であり発達障害を認める。長期呼吸管理にも関わらず、児なりの発達は期待でき、長期生存 3 例はいずれも 4 歳までに独歩達成を得ている。幼児期後半頃より、社会性の獲得を認めている。よって、適切な呼吸管理下での療育参加などが、長期的な発達予後改善を促す。

経口摂取障害：3 歳ころまでの経管栄養、胃ろうを必要とする症例を認める。

#### D. 考察

14 番染色体父性片親性ダイソミー表現型を示す患者において、ダイソミーが 62%、微小欠失が 21%、エピ変異が 17%と判明した。このようなデータは世界的にもなく、本疾患患者家族への遺伝カウンセリングの際の重要なデータとなる。さらに、診断、治療指針の試案を作成できたことは当初の予想を大きく上回るものであった。

#### E. 結論

14 番染色体父性片親性ダイソミー関連疾患の遺伝子診断法を確立し、ダイソミーが 62%、微小欠失が 21%、エピ変異が 17%であると判明した。自験例における臨床像の解析から診断基準、治療指針の試案を作成した。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. [Kagami M](#), O'Sullivan MJ, Green AJ, Watabe Y, Arisaka O, Masawa N, Matsuoka K, Fukami M, Matsubara K, Kato F, Ferguson-Smith AC, Ogata T. The IG-DMR and the MEG3-DMR at Human Chromosome 14q32.2: Hierarchical Interaction and Distinct Functional Properties as Imprinting Control Centers. *PLoS Genetics* (accepted).
2. Kobayashi H, Yamada K, Morita S, Hiura H, Fukuda A, [Kagami M](#), Ogata T, Hata K, Sotomaru Y, Kono T. Identification of the mouse paternally expressed

imprinted gene Zdbf2 on chromosome 1 and its  
imprinted human homolog ZDBF2 on chromosome 2.  
*Genomics* 93 (5): 461–472, 2009.

3. Hosoki K, Kagami M, Tanaka T, Kubota M, Kurosawa K, Kato M, Uetake K, Tohyama J, Ogata T, Saitoh S. Maternal uniparental disomy 14 syndrome demonstrates Prader-Willi syndrome-like phenotype. *Journal of Pediatrics* 155 (6): 900–903, 2009.

4. 鏡雅代, 細木華奈, 加藤芙弥子, 西村 玄, 斎藤伸治, 緒方勤. 14 番染色体母性片親性ダイソミーは Prader-Willi 症候群の鑑別疾患である. ホルモンと臨床(印刷中)

## 2. 学会発表

1. Kagami M, Fukami M, O'Sullivan M, Green A, Takada S, Kato F, Ferguson-Smith A, Ogata T. Essential role of the *MEG3*-DMR in the regulation of the maternally inherited human chromosome 14q32.2 imprinting region. The 24th Naito Conference, Sapporo, 2009.

2. 鏡雅代, 高田修司, 加藤芙弥子, Anne C Ferguson-Smith, 緒方勤. 14 番染色体インプリンティング遺伝子群の調節において, IG-DMR と *MEG3*-DMR は異なった役割をはたす. 第 3 回日本エピジェネティクス研究会, 2009.

3. 鏡雅代, 高田修司, 加藤芙弥子, Ann C Ferguson-Smith, 緒方勤. 14 番染色体インプリンティング遺伝子群の調節において, IG-DMR と *MEG3*-DMR は異なった役割を果たす. 第 54 回日本人類遺伝学会, 2009.

4. 鏡雅代, 加藤芙弥子, 松原圭子, 渡部功, 有阪治, 緒方勤. 14 番染色体インプリンティング遺伝子群の調節において, IG-DMR と *MEG3*-DMR は異なった役割をはたす. 第 43 回日本小児内分泌学会, 2009.

5. 鏡雅代, 高田修司, 深見真紀, 山澤一樹, 松原圭子, 加藤芙弥子, Anne C Ferguson-Smith, 緒方勤. Hierarchical interaction and distinct functional properties of the IG-DMR and the *MEG3*-DMR at the human chromosome 14q32.2 imprinted region.

第 32 回日本分子生物学会年会、横浜、12 月 9-12 日、2009.

6. 鏡雅代. 14 番染色体インプリンティング遺伝子群の調節において, IG-DMR と *MEG3*-DMR は異なった役割をはたす. 文部科学省・科学研究費補助金・特定領域研究「生殖系列の世代サイクルとエピゲノムネットワーク」第 2 回公開シンポジウム. 2009 年(平成 21 年)11 月 26 日, 東京.

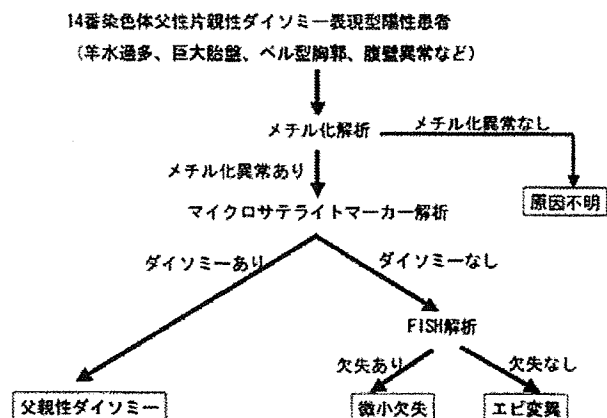
7. 山澤一樹, 鏡雅代, 松原圭子, 中林一彦, 秦健一郎, 肥塚直美, 堀川玲子, 緒方勤. Silver-Russell 症候群を呈する雌性単為生殖キメラおよび Beckwith-Wiedemann 症候群を呈する雄性単為生殖キメラ. 第 32 回日本小児遺伝学会学術集会, 2009.

8. 宮寄治, 鏡雅代, 緒方勤, 西村玄. 14 番父性片親ダイソミー (UPD14) における胸郭変形の検討. 第 68 回日本医学放射線学会総会, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし
3. その他

図



## 研究成果の刊行一覧表

別紙4

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Kagami M, O'Sullivan MJ, Green AJ, Watabe Y, Arisaka O, Masawa N et al.	The IG-DMR and the <i>MEG3</i> -DMR at Human Chromosome 14q32.2: Hierarchical Interaction and Distinct Functional Properties as Imprinting Control Centers.	<i>PLoS Genetics</i>			accepted
Kobayashi H, Yamada K, Morita S, Hiura H, Fukuda A, Kagami M et al.	Identification of the mouse paternally expressed imprinted gene <i>Zdbf2</i> on chromosome 1 and its imprinted human homolog <i>ZDBF2</i> on chromosome 2.	Genomics	93	461-72	2009
Hosoki K, Kagami M, Tanaka T, Kubota M, Kurosawa K, Kato M. et al.	Maternal uniparental disomy 14 syndrome demonstrates Prader-Willi syndrome-like phenotype.	J Pediatr	155(6)	900-903.	2009
Yamanaka M, (ほか4名), Shibasaki J, Kurosawa K.	Prenatal Findings of Paternal Uniparental Disomy 14: Report of Four Patients.	Am J Med Genet Part A	152A	789-791.	2010
鏡雅代, 細木華奈, 加藤美弥子, 西村玄, 斎藤伸治, 緒方勤.	14番染色体母性片親性ダイソミーはPrader-Willi症候群の鑑別疾患である.	ホルモンと臨床			印刷中
小澤克典, 石川浩史, (ほか5名), 黒澤健司, 柴崎淳, 山中美智子	胎児期から14番染色体父性片親ダイソミーを強く疑った1例	日本遺伝カウンセリング学会誌	30	19-22	2009



研究成果の刊行物・別刷り

## 胎児期から14番染色体父性片親ダイソミーを強く疑った1例

小澤克典<sup>1)</sup>, 石川浩史<sup>1)</sup>, 丸山康世<sup>1)</sup>, 永田智子<sup>1)</sup>, 長瀬寛美<sup>1)</sup>  
 古谷憲孝<sup>2)</sup>, 吉橋博史<sup>2)</sup>, 黒澤健司<sup>2)</sup>, 柴崎淳<sup>3)</sup>, 山中美智子<sup>4)</sup>

### A case of prenatally suspected as paternal uniparental disomy 14.

Katsusuke OZAWA<sup>1)</sup>, Hiroshi ISHIKAWA<sup>1)</sup>, Yasuyo MARUYAMA<sup>1)</sup>, Tomoko NAGATA<sup>1)</sup>, Hiromi NAGASE<sup>1)</sup>,  
 Noritaka FURUYA<sup>2)</sup>, Hiroshi YOSHIHASHI<sup>2)</sup>, Kenji KUROSAWA<sup>2)</sup>, Atsushi SHIBAZAKI<sup>3)</sup>, Michiko YAMANAKA<sup>4)</sup>

#### Summary

This report describes a case of paternal uniparental disomy 14 (pUPD 14) prenatally suspected as pUPD 14 by transmaternal X-ray photo of the fetus which showed the typical deformation of ribs called "coat hanger appearance". The mother was 28 years of age and the father was 29 years of age, past history and familial history of both were nothing particular. The mother was referred to our hospital because of suspect of fetal omphalocele at 19 weeks of gestation. The fetal ultrasound examination revealed omphalocele (2.5 cm x 2.5 cm) with wide stalk of the hernia without any other findings. We have informed about the natural history of congenital omphalocele including the probability of other complication and/or anomalies. Polyhydramnios was developed after 22 weeks of gestation which required serial amnio-reduction. The amniotic fluid karyotyping revealed 46, XX. Other fetal findings, such as narrow thorax, slight shortness of the limbs, slightly enlarged lateral ventricles and enlarged abdominal circumference with atypical omphalocele with wide stalk, have become obvious, therefore we suspected pUPD 14. The X-ray photo of the fetal thorax through mother showed "coat hanger appearance" which was taken at 33 weeks of gestation. Thus we informed the parents about pUPD 14. A female infant weighed 3,372 grams was born at 36 weeks of gestation by cesarean section because of breech presentation with Apgar scores 5/5 (1 minute / 5 minutes). She needed mechanical ventilation for 5 days for respiratory distress, however, she discharged from hospital at 51 days with home oxygen therapy. The finding of chest X-ray photo after birth was same as prenatal, and pUPD 14 was confirmed by methylation PCR analysis.

キーワード: paternal uniparental disomy 14 (pUPD 14), X-ray photo of the fetus, omphalocele, Polyhydramnios, prenatal information

14番染色体父性片親ダイソミー、胎児レントゲン、臍帯ヘルニア、羊水過多症、出生前の情報提供

## 【緒言】

片親性ダイソミー (UPD) は、相同染色体の両方ともが片親に由来し、その染色体上の imprinting 遺伝子に起因する異常であり<sup>1)~3)</sup>、Prader-Willi 症候群の maternal UPD15、Angelman 症候群の paternal UPD15、Beckwith-Wiedemann 症候群の paternal UPD11などが知られている。UPD の発生機序としては、trisomy rescue、monosomy duplication、gemate complementation、somatic recombinationなどが考えられている。14番染色体父性片親ダイソミー (pUPD14) は、14q32.2に存在する imprinting 遺伝子の発現異常に起因し、特徴的な顔貌、胸郭低形成による呼吸障害、腹壁異常、発達遅滞を伴い、胎児期には羊水過多を主症状とする疾患である。呼吸障害のため生後1年以内に死亡することも少なくない疾患であり、Mattes らがまとめた pUPD14の19例では、少なくとも7例が1年以内に死亡している<sup>4)</sup>。しかし、その時期を乗り越えると長期生存も可能である。胸部レントゲン写真上、coat hanger appearance と呼ばれる肋骨が波打つような特徴的な形態から出生後の診断は比較的容易である。一方、胎児期の超音波検査による pUPD14の出生前診断の可能性を論じた報告<sup>1)</sup>もあるが、出生前に本疾患を積極的に疑った症例の報告は殆ど無い。今回、胎児期に pUPD14を強く疑った1例を経験した。本症例の経験を元に、出生前の両親への情報提供のあり方や、出生後の治療の準備について考察したい。

## 【症例】

母体は28歳、1回経妊0回経産で既往症、家族歴に特記すべき事なく、夫は29歳で同様に既往歴、家族歴に特記すべきことはない。自然妊娠に至り、妊娠19週5日、胎児臍帯ヘルニアの疑いで紹介、当院を受診された。初診時には、2.2cm×2.5cmの茎が太い胎児臍帯ヘルニアを認めしたが、それ以外の明らかな異常所見は認められなかった。本人と夫に臍帯ヘルニアの予想される経過、治療法、予後、また他の合併奇形の可能性について説明した。外来経過観察としていたが、妊娠22週頃より羊水過多となり、妊娠24週から34週の間、羊水過多症による母体症状軽

減のため計3回の羊水穿刺・排液を要した。臍帯ヘルニアは、腹部全体が膨隆した、基部が太い非典型的な像 (図1) を呈しており、妊娠27週頃からはベル型の胸郭狭小 (図2)、軽度の四肢短縮、軽度の側脳室拡大などの所見を認めるようになった。複数の異常所見を認めることから染色体異常症の可能性を考慮し、本人と夫に説明し染色体検査および遺伝子検査の承諾を得た上で、妊娠24週に羊水染色体検査 (G 分染法) を提出したが、正常核型であった。一方、胸部の変形や四肢短縮などの所見から骨系統疾患の可能性も考慮し、妊娠33週に経母体的に胎児レントゲン検査を施行した。胎児正面像での肋骨は特徴的な彎曲を示しており、pUPD14の新生児レントゲン所見に酷似していた (図3)。

そこで妊娠34週に、本人と夫へ①胎児の超音波画像では、典型的な臍帯ヘルニアではなく、羊水過多もあり、基礎疾患の存在を強く疑う。②胎児のレントゲン画像で見られる肋骨の形状から、pUPD14が最も疑われる。③この場合、出生後は呼吸障害が問題となり、長期の呼吸管理が予想され、多くは人工呼吸器が必要となる。また発達遅滞も伴うが、いずれの症状も個人差がある、という情報を新生児科医師、遺伝科医師とともに説明し、また出生後の治療方針についても説明を行った。そして pUPD14の発生機序の説明を行い、次子再発リスクが増加する可能性は低いこともお話しした。二人には戸惑う様子も見られたが、出生後の治療に備えることを再確認した。

羊水過多による切迫早産のコントロールが困難となり、骨盤位であったため、妊娠36週3日に選択的帝王切開術を施行した。新生児は体重3,372g、身長45cmの女児で、Apgar Score 5点 (1分後)、5点 (5分後) であった。呼吸障害のため気管内挿管を要した。肉眼的所見として、①腹直筋離開、②小腸が脱出した約4cm径の臍帯ヘルニア (図4)、③毛深い前額、長い人中、④短頸、⑤手指の関節拘縮といった身体所見を認めた。出生後の胸部レントゲン写真では、胎児期と同様に肋骨が coat hanger appearance を呈しており、pUPD14の臨床診断に至った。日令1に臍帯ヘルニア還納術を施行した。呼吸状態は比較的安定しており、5日間の人工呼吸管理を要したが、日令51に在宅酸素・注入栄養で退院となった。その間にメチル化 PCR 解析で遺伝子でも pUPD14の診断が確定した (国立成育医療センターの鏡雅代先生、緒方勤先生により解析)。

## 【考察】

pUPD14は、特徴的な顔貌や呼吸障害、胸部レントゲンの波打つような肋骨像や腹壁異常から、出生後の臨床診断は比較的容易である。しかし出生前診断の立場でみ

1) 神奈川県立こども医療センター 産婦人科

2) 同 遺伝科 3) 同 新生児科

4) 大阪府立大学看護学部/看護学研究所

1) Division of Obstetrics and Gynecology, Kanagawa Children's Medical Center

2) Division of Medical Genetics, Kanagawa Children's Medical Center

3) Division of Neonatology, Kanagawa Children's Medical Center

4) Osaka Prefecture University, School of Nursing and Graduate School of Nursing

平成21年1月8日受付

平成21年2月23日受理



ると、顔貌の特徴や腹直筋離開を胎児超音波で確実に評価することは不可能であり、また胸郭の形態異常も主観的に疑うことはできても定量的評価は困難である。このようなことから、pUPD14の出生前診断についてはほとんど検討されてこなかった。MattesらはpUPD14と診断された19例について、胎児期の所見をまとめている。羊水過多を17例に、早産を11例に認めた。また、臍帯ヘルニアは6例に合併していたが、その形態的特徴については言及していない。さらに、胸郭の形態異常を胎児期に指摘されていた例は3例に留まっていた<sup>4)</sup>。今回の症例では、基部が太い非典型的な臍帯ヘルニア像と胸郭の低形成を疑う超音波所見から胎児レントゲンを撮影した結果、出生前にpUPD14を疑うに至った。しかし、pUPD14症例の全てが出生前にこのような特徴的なレントゲン所見を呈するのかが不明である。また、超音波で認められた基部の太い臍帯ヘルニアの像がpUPD14に特徴的な所見なのか他の疾患でも認められる所見なのかははっきりしない。そもそもpUPD14は頻度が高い疾患とは言えず、出生前の診断に必要な所見の集積は容易ではない。

しかしながら羊水過多に伴って腹壁異常、胸郭の低形成が疑われた時には本疾患も念頭に置き、必要に応じて胎児レントゲン撮影を行うことにより、出生前の適切な情報提供、および出生後の円滑な治療に結びつけられる可能性がある。しかしながら、pUPD14を出生前に疑う基準は現時点では確定しておらず、また本疾患の予後は幅が広いので、家族への情報提供は慎重に行う必要があると考える。今後、症例を集積することによって、pUPD14

の出生前診断における基準が確立することが望まれる。

### 【結語】

胎児超音波検査所見に加え、特徴的な胎児胸部レントゲン所見から、出生前にpUPD14を疑うことができた症例を経験した。出生前の情報提供と、新生児期の治療の準備のためには出生前診断は必要であるが、一方で胎児の特異的な所見は確立しておらず、出生前診断に限界がある点についても情報提供を行う必要がある。今後とも症例を重ねた検討が必要である。(尚、本症例においては患者さんの同意を得て報告している。)

### 【文献】

1. Logos Curtis, Eric Antonelli, Yvan Vial, et al: Prenatal diagnostic indicators of paternal uniparental disomy 14, *Prenat Diagn*, 26:662-666, 2006.
2. Philip D. Cotter, Sara Kaffe, Leslie D. McCurdy, et al: Paternal Uniparental Disomy for Chromosome 14: A Case Report and Review, *Am J Med Genet*, 70:74-79, 1997.
3. 黒澤健司, 五十嵐葉子, 佐藤義朗, 他: 新しい奇形症候群 父性片親ダイソミー-14, *こども医療センター医学誌*, 32(3): 123-125, 2003.
4. Joerg Mattes, Bruce Whitehead, Thomas Liehr, et al: Paternal Uniparental Isodisomy for Chromosome 14 With Mosaicism for a Supernumerary Marker Chromosome 14, *Am J Med Genet*, 143A:2165-2171, 2007.

図1 胎児超音波画像：腹部全体が膨隆した、基部が太い非典型的な臍帯ヘルニア像（水平断）。

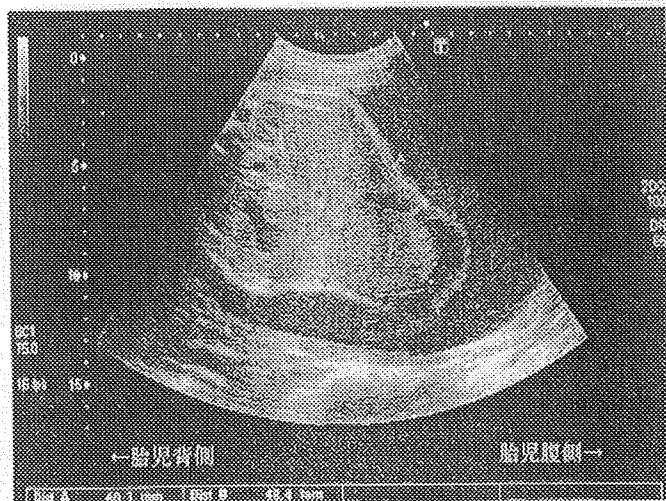


図2 胎児超音波画像： ベル型の胸郭狭小像（矢状断）。

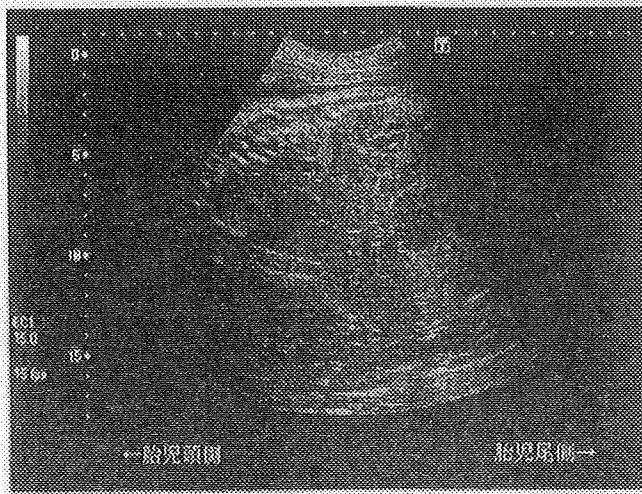


図3 胎児レントゲン画像： 特徴的な波打つような肋骨の形態像（coat hanger appearance）。



図4 小腸が脱出した約4cm径の臍帯ヘルニア（出生直後）。



## 14 番染色体母性片親性ダイソミーは Prader-Willi 症候群の鑑別疾患である

鏡 雅代<sup>1</sup> 細木 華奈<sup>3</sup> 加藤 芙弥子<sup>1</sup> 西村 玄<sup>2</sup> 斎藤 伸治<sup>3</sup> 緒方 勤<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 国立成育医療センター研究所小児思春期発育研究部

<sup>2</sup> 都立清瀬小児病院放射線科

<sup>3</sup> 北海道大学医学部小児科

## はじめに

遺伝子は通常親由来にかかわらず両方のアレルから発現するが、父親由来アレルからのみ発現する父性発現遺伝子 (Paternal Expressed Genes: PEGs) と母親由来アレルからのみ発現する母性発現遺伝子 (Maternal Expressed Genes: MEGs) が存在する<sup>1)</sup>。これらの親由来により発現が異なる遺伝子をインプリンティング遺伝子という<sup>1)</sup>。インプリンティング遺伝子は、クラスターとなって存在しドメインを形成することが多く、胎盤において強く発現している<sup>2)</sup>。インプリンティング遺伝子は胎盤を形成する動物においてのみ同定されており、胎盤、胎児の発育に大きな役割を果たしていることが明らかとなっている<sup>2)</sup>。

インプリンティング遺伝子の発現には、ゲノムに父親由来もしくは母親由来がマーキングされるゲノムインプリンティングというメカニズムがかかわっている。インプリントは、遺伝子のプロモーター領域にしばしば存在する CpG 配列が繰り返される CpG islands のシトシンにメチル化修飾を入れることであり、遺伝子の発現はインプリントをうけることにより抑制される。親由来によってメチル化修飾が異なる領域をメチル化可変領域 (Differentially methylated region: DMR) といい、いくつかのインプリンティングドメインにおいては DMR がインプリンティングセンターとして作用する。DMR のメチル化修飾は、配偶子形成過程で完全に消去され、配偶子の性に一致して再度樹立される<sup>1)</sup>。

14 番染色体長腕の 32.2 領域 (14q32.2) には、インプリンティング遺伝子がクラスターとなって存在しており、PEG としては DLK1、RTL1、MEG としては MEG3 (GTL2)、RTL1as (RTL1 antisense)、MEG8、microRNA や snoRNA がある<sup>3) 4)</sup> (図 1)。DLK1、RTL1 はタンパクをコードし、MEG3、MEG8、microRNA、snoRNA はタンパクをコードしない RNA 遺伝子である。これらの遺伝子群の発現には、生殖細胞で DMR が確立している DLK1-MEG3 intergenic DMR (IG-DMR) と受精後に DMR が確立する MEG3-DMR のメチル化状態が関与しており、ともに父親由来染色体でメチル化修飾をうけ、母親由来染色体ではメチル化修飾をうけない<sup>3) 4)</sup>。

インプリンティング遺伝子群の存在を裏付けるように、14 番染色体がともに母親に由来する 14 番染色体母親性ダイソミー (upd(14)mat) と、ともに父親に由来する 14 番染色体父親性ダイソミー (upd(14)pat) はその臨床像が異なる。upd(14)mat は胎児期・出生後の成長障害、新生児期の筋緊張低下、小さな手、哺乳障害、思春期早発傾向、などの症状を示す<sup>4) 5)</sup>。一方、upd(14)pat は、羊水過多、胎盤過形成、ベル型・コートハンガー型と形容される胸郭低形成、臍帯ヘルニアや腹直筋離開といった腹壁異常、特徴的顔貌を示す<sup>4) 6)</sup>。これらの臨床症状は MEGs と PEGs の発現異常により生じることが明らかとなっている<sup>3) 4)</sup>。

近年、Mitter らは Prader-Willi 症候群 (PWS) を疑われた患者 33 例中 4 例で upd(14)mat であったと報告している<sup>7)</sup>。我々は PWS 症状陽性で、15q11-q13 の

欠失および SNURF-SNRPN の DNA メチル化異常が否定された 29 症例において 14 染色体インプリンティングドメインの解析を行い、メチル化異常を認めた症例についてその臨床像について報告する。

### 対象

PWS 表現型陽性で、15q11-q13 の欠失および SNURF-SNRPN の DNA メチル化異常が否定された 29 症例。

### 方法

患者末梢血白血球よりゲノム DNA を抽出したのち、EZ DNA Methylation Kit (Zymo Research) を用いて Bisulfite 処理を行った。Bisulfite 処理を行うとシトシンはウラシルに変換され、最終的にはチミンに変換されるが、CpG island のなかに存在するメチル化をうけているシトシンは変換されない。この違いを用いて MEG3-DMR 中の父親由来のメチル化アレルを特異的に増幅するプライマーセットと母親由来のメチル化をうけないアレルを特異的に増幅するプライマーセットを作成し、メチル化テストを行った<sup>8)</sup>。メチル化テストにおいて異常メチル化パターンを示した症例については、IG-DMR 中にメチル化アレルも非メチル化アレルも両方とも増幅するメチル化をうけたシトシンを含まない領域にプライマーセットを設計し、その PCR 産物を TOPO TA-cloning Kit (Invitrogen) を用いてクローニングしたのち直接シーケンス法でメチル化状態を解析した<sup>4)</sup> (図 2)。さらにダイソミーの有無を確認するため、両親のゲノム DNA と患者ゲノム DNA を用いて 14 番染色体上の 14 か所のマイクロサテライトマーカでの genotyping を行いその親由来を解析した。マイクロサテライトマーカ解析でダイソミーが否定された症例は、微小欠失の有無を同定するために、FISH 解析を行った。FISH プローブ 1、FISH プローブ 2 は、IG-DMR 領域を包含する 5,104 bp の領域と MEG3-DMR を包含する 5,182 bp の領域を LA-PCR で増幅した PCR-産物をラベルして作成した<sup>4)</sup>。

### 結果

#### <メチル化解析>

MEG3-DMR のメチル化テストにおいて、29 症例中 5 症例で upd(14)mat のメチル化パターンに一致する低メチル化を示した。症例 27 はメチル化アレル特異的プライマーでもバンドを得られたが、正常に比較してバンドの強度は低下していた。この 6 症例につき、IG-DMR のメチル化状態を解析したところコントロールに比較し低メチル化を示した。症例 27 は低メチル化傾向を示したが、モザイクにメチル化クローンが認められた (図 3)。

#### <マイクロサテライトマーカー解析>

症例 4、8、18、29 は母親性ダイソミーであることが証明された。症例 27 は母親性ダイソミーと正常のモザイクであった。症例 12 はダイソミーが否定された (図. 4a, b, c)。

#### <FISH 解析>

症例 12 はダイソミーが否定されたため、FISH 解析を行った。シグナルは FISH プローブ 1、2 ともに 2 コピー認められ、微小欠失は否定された (図 4d)。

#### 臨床像

メチル化異常を示した 6 症例の臨床像を示す (表 1)。6 例中 5 例が女兒である。出生時、出生後の成長障害が明らかである。出生時体重が正常範囲内であったエピソードの症例 12 は、出生後の著しい成長障害を認めている (図 5)。筋緊張の低下は全例に認められており、運動発達の遅れも認められているが、知的発達は 6 例中 4 例で正常である。

#### 考察

これまでに upd(14)mat およびその類縁疾患は、upd(14)mat 35 例、微小欠失 4 例、エピソード 5 例が報告されている<sup>4) 9)-12)</sup>。子宮内胎児発育遅延、出生後の成長障害、新生児・乳児期の筋緊張低下、小さな手足、哺乳不良、思春期早発傾向が認められる。14 番染色体がともに父親に由来する upd(14)pat およびその類縁疾患は羊水過多、胎盤過形成、コートハンガー型、ベル型と形容される胸郭低形成、腹壁異常といった特徴的な臨床像を呈するのに対し、upd(14)mat およびその類縁疾患は非特異的な臨床像であるため、これまでに同定された多くの症例が染色体異常を伴っていた<sup>5)</sup>。近年 Mitter らによって、PWS 様の臨床像を示す患者のなかに upd(14)mat 患者が同定されたと報告された<sup>7)</sup>。PWS は 15 番染色体インプリンティング遺伝子群の発現異常で生じる疾患で新生児・乳児期には筋緊張低下、哺乳不良、発達遅延、停留精巣などを示し、幼児期になると成長障害、小さな手足、過食、肥満、行動異常、発達遅延が明らかとなってくる<sup>13)</sup>。図 6 に PWS と upd(14)mat の臨床像をしめす。新生児期から乳児期にかけては、成長障害、哺乳不良、筋緊張低下、発達の遅れと共通する臨床像が認められる。PWS に特徴的な過食、性腺機能障害、発達遅延といった症状は新生児・乳児期では目立たず、upd(14)mat 関連疾患との鑑別を必要とする。さらに、本研究において 6 例中 5 例が女兒であることから、停留精巣などの外性器異常を同定しにくい女兒においては、鑑別にさらに注意が必要である。Mitter らの解析では PWS を疑われた 78 症例中 5 例で upd(14)mat を同定した<sup>7)</sup>。一方、Cox らは 35 例の PWS を疑われた症例で 1 例も upd(14)mat を同定できなかった<sup>14)</sup>。我々は遺伝子解析で 15 番染色体のメチル化異常、微小欠失を否定された 29 例

の PWS 表現型をもつ症例において 5 例の upd(14)mat 患者、1 例のエピ変異患者を同定した。この結果は新生児・乳児期の PWS 疑い症例の鑑別疾患として upd(14)mat を念頭におく必要性を示すものである。幼児期に入ると、upd(14)mat は比較的良好な精神運動発達を認め、食行動の異常、性腺機能障害も認められないことから鑑別は容易であると考えられる。

本研究で同定された 6 症例において、子宮内胎児発育遅延は 6 例中 5 例で認められ、出生後の成長障害は全例において  $-2.5$  SD 以下の低身長を認めた。これまで報告された upd(14)mat のうち最終身長に達した 5 例の身長の平均は  $-3.4$  SD であり<sup>4)</sup>、欠失症例、エピ変異症例のうち成人に達した 4 例全例において  $-2$  SD 以下の低身長を認め、うち 3 例は  $-2.5$  SD を下回っている<sup>9)-12)</sup>。

Upd(14)mat 表現型の原因は、欠失患者における欠失領域と表現型の比較検討により、14q32.2 領域内に存在する父性発現遺伝子である DLK1、RTL1 の発現消失が原因であることを我々は明らかにしている<sup>4)</sup>。さらに Dlk1 欠失マウスは成長障害を示し、Dlk が二倍に過剰発現するマウスでは、胎児期、出生時の過成長が報告されている<sup>15)16)</sup>。Rtl1 欠失マウスにおいて胎児、胎盤ともに成長障害を示し、Rtl1 過剰発現マウスでは胎盤過形成が同定されている<sup>17)</sup>。これらの結果は、DLK1、RTL1 が胎盤、胎児の発育因子、さらには出生後の成長因子であることを示しており、DLK1、RTL1 が子宮内胎児発育遅延、低身長の原因遺伝子である可能性を示唆するものである。

#### まとめ

新生児、乳児期に筋緊張低下、哺乳不良、発育遅延といった PWS 様の臨床像を示す症例のなかに upd(14)mat およびその類縁疾患 (upd(14)mat 4 例、upd(14)mat と正常核型のモザイク症例 1 例、エピ変異 1 例) を 6 例同定した。新生児期・乳児期において、upd(14)mat およびその類縁疾患と PWS の臨床像は類似するため、PWS 疑い症例の鑑別疾患として upd(14)mat を念頭におく必要性を示すものである。upd(14)mat およびその類縁疾患において成長障害は必発であり、その原因遺伝子であると考えられる DLK1、RTL1 は子宮内胎児発育遅延、低身長の候補遺伝子となりうる。

文献

- 1) Reik, W. et al. *Nat. Rev. Genet.* 2, 21–32, 2001.
- 2) Kaneko I.T. et al. *J. Biochem.* 133, 699–711, 2003.
- 3) da Rocha, S.T. et al. *Trends Genet.* 24, 306–316, 2008.
- 4) Kagami, M. et al. *Nat. Genet.* 40, 237–242, 2008.
- 5) Kotzot, D. *Ann. Genet.* 47, 251–260, 2004.
- 6) Kagami, M. et al. *Placenta* 29, 760–761, 2008.
- 7) Mitter, D. et al. *Am. J. Med. Genet. A.* 140, 2039–2049. 2006.
- 8) Murphy, S.K. et al. *Hum. Mutat.* 22, 92–97. 2003.
- 9) Buiting, K. et al. *Hum. Mutat.* 29, 1141–1146, 2008.
- 10) Temple, I.K. et al. *J. Med. Genet.* 44, 637–640, 2007.
- 11) Hosoki, K. et al. *Eur. J. Hum. Genet.* 16, 1019–1023, 2008.
- 12) Zechner, U. et al. *Clin. Genet.* 75, 251–258, 2009.
- 13) Bittel, D.C. et al. *Expert Rev. Mol. Med.* 7, 1–20. 2005.
- 14) Cox, H. et al. *Am. J. Med. Genet. A.* 127, 21–25, 2004.
- 15) Moon Y.S. et al. *Mol Cell Biol* 22, 5585–5592. 2002.
- 16) da Rocha, S.T. et al. *PLoS Genet.* Epub Feb 27, e1000392. 2009.
- 17) Sekita Y. et al. *Nat. Genet.* 40: 243–248. 2008.



## Legend

図 1. 14q32.2 インプリンティング領域と制御機構

- A. インプリンティング遺伝子のモデル B. 14q32.2 インプリンティング領域  
C. DLK1-DIO3 ドメインの調節機構

図 2. メチル化解析の方法

- A. Bisulphite 法 B. MEG3-DMR のメチル化テスト C. IG-DMR の Bisulfite  
Sequence 法

図 3. メチル化解析結果

上段: MEG3-DMR メチル化テスト結果 下段: Bisulphite Sequence 結果

図 4. マイクロサテライトマーカー解析と FISH 解析の結果

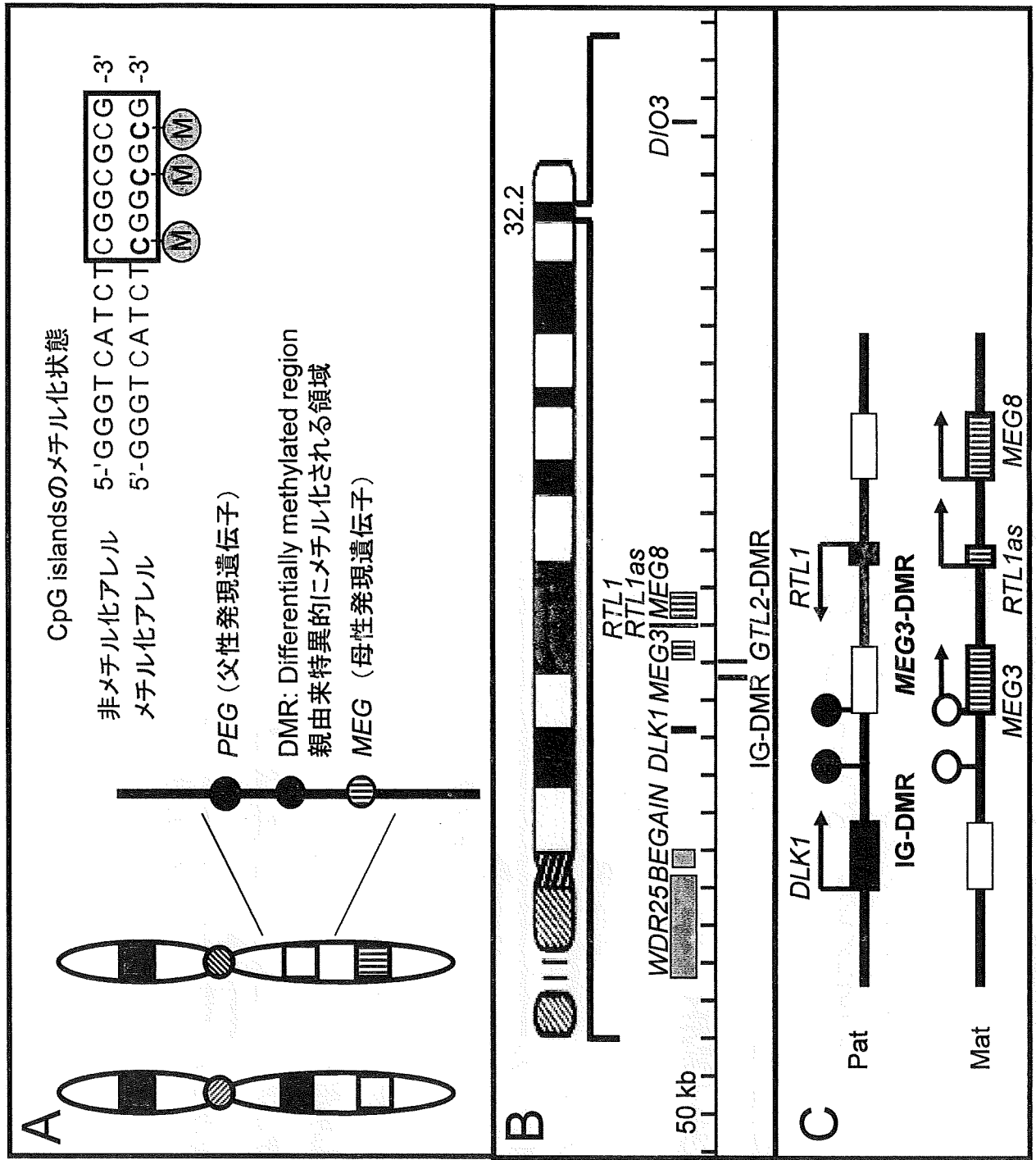
- A. 症例 4、8、18、29 のマイクロサテライトマーカー解析結果 B. 症例 27 の  
マイクロサテライトマーカー解析の結果 C. 症例 12 のマイクロサテライト  
マーカー解析の結果 D. 症例 12 の FISH 解析の結果

図 5. 症例 12 の成長曲線

図 6. Prader-Willi 症候群と 14 番染色体母親性ダイソミーの臨床像の比較



図1



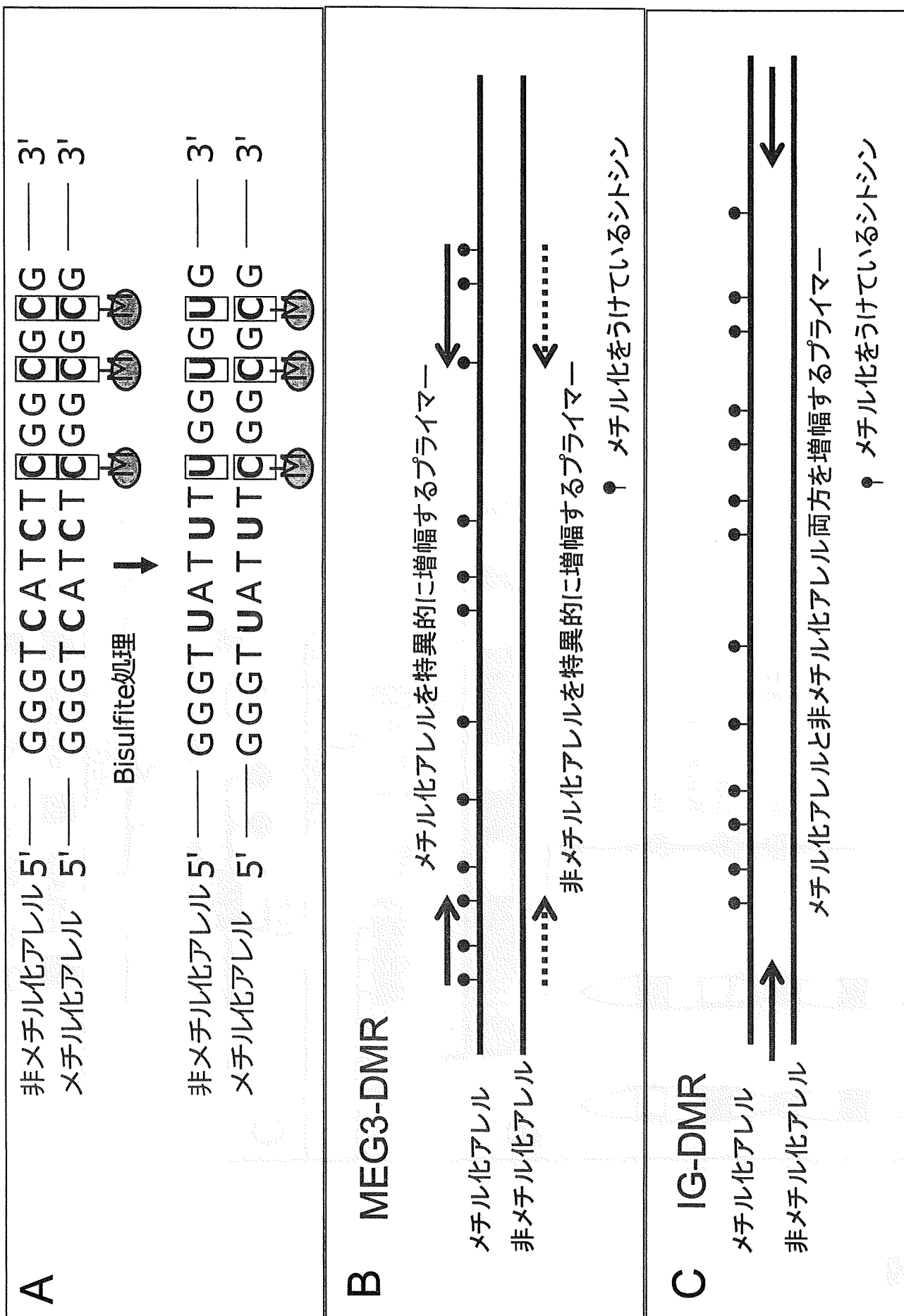


図2