

200936202A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

Prader-willi症候群の実態把握と治療指針の作成

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 永井 敏郎

平成22(2010)年 3月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

Prader-willi症候群の実態把握と治療指針の作成

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 永井 敏郎

平成22(2010)年 3月

目 次

I	総括研究報告		
	Prader-willi症候群の実態把握と治療指針の作成	1
	研究代表者 獨協医科大学 永井敏郎		
II	分担研究報告		
1	効果的な治療法の確立と治療指針の作成	7
	獨協医科大学	永井敏郎	
2	遺伝的発症器所の解明と（エビ）遺伝子型－表現型解析	11
	国立成育医療センター研究所	緒方勤	
3	Prader-Willi症候群における成長ホルモン療法に関する研究	15
	旭川医科大学	藤枝憲二	
4	性腺機能不全における治療効果の判定	18
	国立成育医療センター	堀川玲子	
5	Prader-Willi症候群患者における向精神薬の使用状況	20
	獨協医科大学	村上信行	
III	研究成果の刊行一覧表	23
IV	研究成果の刊行物・別刷り	25

總 括 研 究 報 告

Prader-willi 症候群の実態把握と治療指針の作成

研究代表者 永井 敏郎 獨協医科大学小児科 教授

研究要旨

本研究の目的は、本邦における Prader-Willi 症候群の実態把握と、それに基づく治療指針の作成である。本年度、全国病院医師を対象とする実態調査、全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査、成長ホルモン治療効果の評価、性ホルモン治療効果の評価、向精神薬治療効果の評価、合併症の評価（糖尿病や側弯症）、詳細な遺伝子診断を行った。その結果、詳細な実態把握の基盤整備や患者会との連携活動が確立し、また、効率的診断法と治療法のあり方を提唱した。

研究分担者

緒方勤、国立成育医療センター研究所
藤枝憲二、旭川医科大学
堀川玲子、国立成育医療センター
村上信行 獨協医大越谷病院

A. 研究目的

本研究の目的は、Prader-Willi 症候群 (PWS) の実態把握と、それに基づく治療指針の作成である。その必要性は、本症候群が、乳児期早期の筋緊張低下、乳児期以降の過食と高度の肥満傾向およびその結果としての糖・脂質代謝異常、中枢性（および続発性）性腺機能低下、成長障害、精神発達遅延など、生涯にわたり QOL の低下を招く難病であるにもかかわらず、現行治療法の評価、遺伝的異質性による症状や治療反応性の解析、長期予後の解明がなされていないことにある。

本研究では、これらの PES 患者の諸症状について現状のまとめと治療方針について研究した。

B. 研究方法

全国病院医師を対象とする実態調査では、患者数、診断根拠、治療内容、合併症などについて、全国病院医師を対象とする患者実態調査を行った。

全国患者会を対象とする詳細な実態調査では、食生活、活動性、合併症、治療内容とその効果および副作用、生殖補助医療の有無など、多岐にわたる詳細な調査を実施した。

成長ホルモン治療効果、性ホルモン治療効果、向精神薬治療効果、合併症（糖尿病 (DM)、側弯症、）については、患者データ（獨協医科大学越谷病院小児科受診患者および成長科学協会登録患者）をもとに解析した。遺伝子解析については、獨協医科大学越谷病院小児科でフォロー中の PWS 患者 156 名に対して、メチル化試験、染色体検査、FISH、マイクロサテライト解析、MLPA を行い、各々の発症原因を解析した。その結果をもとに、30 歳以上の母親から生まれた児の数が、20-29 歳の母親より生まれた児の数を上回った 2003 年前後における各々の発症病因の割合を比較した。また、生殖補助医療との関連について解析した。

（倫理面への配慮）

臨床的解析については、患者もしくは家族から研究の内容、臨床データの使用について同意を得た。また臨床データより、個人情報特定することはできない。

遺伝子解析の遂行にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守し、検体の収集を含めた研究計画については、国立成育医療センター、および各検体の収集施設において予め倫理委員会の承認を得ている。検体は、書面によるインフォームド・コンセントを取得後に収集している。

C. 研究結果

全国病院医師を対象とする実態調査：

患者数、診断根拠、治療内容、合併症などについて、全国の小児遺伝学会会員、小児内分泌学会会員、全国重症心身障害児施設神経科医など、計 1504 名を対象としてアンケート調査を行い、692 名 (46.0%) の医師から回答を得た。その結果、把握できた患者数が 1,147 名 (男性 604 名、女性 543 名) であり、さらに 0-55 歳まで、5 歳間隔で患者数を把握した。また、診断根拠は、本症候群責任インプリンティング領域の遺伝子解析によるものが 1010 名を占め、その内訳は欠失が 798 名、メチル化異常のみの同定が 194 名、エピ変異が 18 例であった。しかし、商業ラボではできない第 15 染色体母親性ダイソミーの解析は、ほとんどなされていなかった。その他の調査結果は、現在解析中である。

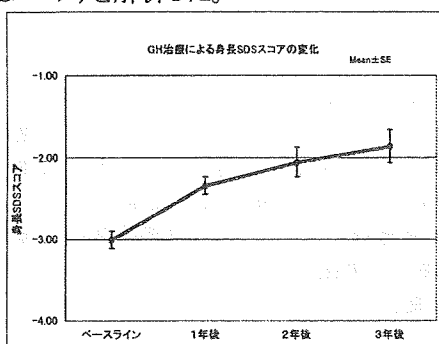
年齢別患者数			
年齢	男	女	合計
0-5歳	172	158	330
6-10歳	132	124	256
11-15歳	117	97	214
16-20歳	81	57	138
21-25歳	47	59	106
26-30歳	23	29	52
31-35歳	14	11	25
36-40歳	5	2	7
41-45歳	6	1	7
46-50歳	2	0	2
51-55歳	1	1	2
年齢不明	4	4	8
合計	604	543	1147

全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査：

全国患者会連合大会を10月に開催した。これにより、患者会の全面的な協力体制のもとに、567名を対象として、食生活、活動性、合併症、治療内容とその効果および副作用、生殖補助医療の有無など、多岐にわたる詳細な調査が実施された。現在、詳細を解析中である。

成長ホルモン治療効果の評価：

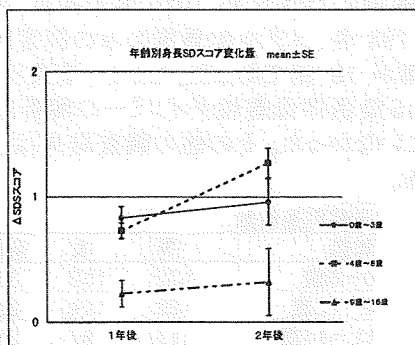
1) GH治療効果：GH治療開始時年齢は生後4か月～16歳、平均6.1歳であった。GH治療開始後1年目、2年目、3年目につれてドロップアウトおよび未報告例があり、それぞれ97例、55例、35例の身長SDスコアおよび変化量(ΔSDSスコア)を解析した。



図に示すように、GH治療前の平均SDスコア(-3.0)に対して、治療後1年目には平均SDスコア-2.34と著明に改善した。

2) 年齢依存性：年齢別のGH治療の効果を検討するために、GH治療開始時の年齢を0-3歳(39例)、4-8歳(37例)9-16歳(21例)の3群に分け、治療後1年目および2年目の治療前からの身長SDSスコアの変化量(ΔSDSスコア)を解析した。

9-16歳の群では、他の2群に比較して有意にΔSDSスコアは低く、1年目では平均0.23、2年後は0.32であった(図)。



3) 遺伝学的病型：PWSの遺伝学的病型を15番染色体欠失およびメチル化テストを施行し、片親性ダイソミーまたは刷り込み変異を示すメチル化陽性例の2群に対してGH治療の効果の差異を検討した。染色体欠失例は71例(73%)、メチル化陽性例は26例(27%)であり、平均年齢はそれぞれ5.7歳、7.0歳であった。2群間でのGH治療後の身長SDスコアの変化には有意差はなかった。

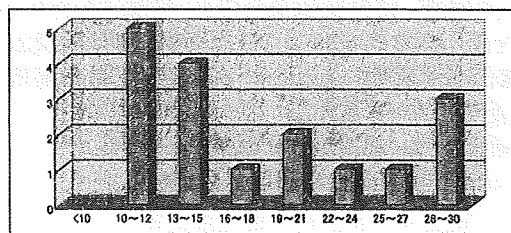
性ホルモン治療

行動異常を示した症例は認めず、6名は過敏性の改善を認めた。対象全例で皮膚の色素沈着とひげが増加し、自信を持つようになった。8名では勃起を認め、そのうちの1名は月に1回の射精を認めた。BMDと除脂肪体重は有意に増加した。脂肪率とBMIには変化を認めなかった。

合併症-1 糖尿病(DM)

DM頻度は65名中17名(26.2%)であった。発症時年齢は10-15歳と28-30歳の二峰性にピークがみられた(中央値15歳)。DM群(17名)と非DM群(48名)の二群間比較では在胎週数、出生体重で有意差を認めなかったが、現在の年齢(P<0.05)、BMI(P<0.01)では有意差があり、DM群で高齢かつ肥満が顕著であった。発症要因の検討では性差、遺伝子型で有意差を認めなかったが、GH使用歴に関しては、使用患者は少数で、有意差(P<0.05)を認めた。DM家族歴がある患者は、DM群16名中3名(18.8%)であった。発症時のインスリン分泌に関しては、HOMA-R 2.5以上の抵抗性亢進例が10名中7名(70%)、尿中C-ペプチド20μg/日以下の分泌低下例が6名中2名(33.3%)であった。慢性合併症に関しては、蛋白尿1名(5.9%)、微量アルブミン尿4名(23.5%)、単純網膜症2名(11.8%)であった。治療歴に関しては、インスリン使用例が17名中11名(64.7%)であり、うち3名(27.3%)が離脱した。

DM発症時年齢分布



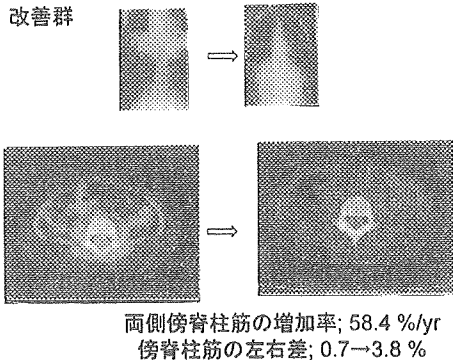
中央値15歳(10~29歳)

合併症-2 側弯症：

1) 35名中22名は経過中に側弯は認められなかった(無側弯群)。5名ではGH開始前から側弯症が認められたが、経過中変化が認められなかった(無変化群)。6名ではGH療法開始前から側弯症が認められ、経過中に増悪が認められた(増悪群)。2名ではGH開始前から側弯症が認められたが、経過中に側弯が改善した(改善群)。

2) 筋増大率は無側弯群では8.8-114.1%/year(中央値34.6%/year)、無変化では0.5-54.0%/year(中央値41.3%/year)、増悪群では2.3-38.6%/year(中央値8.0%/year)、改善群はそれぞれ58.8、27.8%/yearであった。無側弯群と増悪群、無変化群と増悪群間で有意差が認められた。左右差は開始時無側弯群では0.4-22.8%(中央値6.9%)、無変化群では0.7-21.0%(中央値8.8%)、増悪群では5.3-13.9%(中央値10.4%)、改善群ではそれぞれ0.7 and 5.3%であった。これに対して終了時では0.7-7.7%(中央値4.3%)、無変化群では0.2-8.2%(中央値5.8%)、増悪群では7.8-17.3%(中央値11.7%)、改善

群ではそれぞれ 1.8、5.0%であった。無側弯群と無変化群では優位に左右差が減少した。



分子遺伝的解析

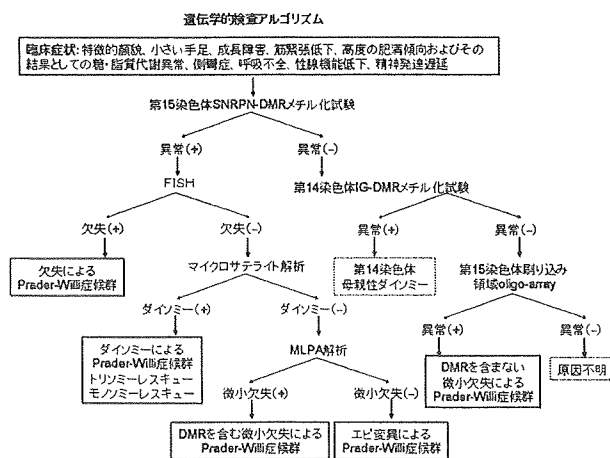
1) 原因疾患の変化: 2002 年以前に出生した患者では欠失が 83%、trisomy rescue を介した UPD(trisomy rescue type UPD)が 14%に認められたのに対し、2003 年以降に出生した患者では欠失が 60%、trisomy rescue type UPD が 28%に認められ、2003 年以降出生群において UPD 比率の増加を認めた ($p=0.014$)。母親の年齢が上昇するほど、または児の出生年次が最近であるほど、trisomy rescue type UPD の割合が増加していた。2002 年以前と 2003 年以降出生群の母親年齢を比較すると、2003 年以降で上昇(2002 年以前中央値 30 歳(19-48)vs. 2003 年以降中央値 35(23-45), $p=0.00041$)していたが、trisomy rescue type UPD 群でのみ母親の出産年齢の上昇を認めた ($p=0.031$)。さらに、少なくとも 11 名の患者が生殖補助医療で出生し、この頻度が一般集団の生殖補助医療による出生児の割合よりも有意に高いこと(したがって、本排卵誘発を含む生殖補助医療がリスク因子となりうる)が判明した。

2) 第 14 染色体母親性ダイソミー解析

第 15 染色体長腕近位部のインプリンティング領域に異常を認めなかった患者 4 例において、第 14 染色体母親性ダイソミーが同定された。

3) 診断アルゴリズムの開発

以上から、図に示す診断アルゴリズムを提唱した。



D. 考察

全国病院医師を対象とする実態調査

これにより、プラダーウイリ症候群の詳細な現状把握の基盤が整備された。

全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査

この全国患者会の開催は、全国患者会間の連携および患者会と医療者間の連携強化に基盤を確固とするものである。また、患者会でなければできない詳細な調査がなされたことは、プラダーウイリ症候群の衣料研究を大きく進展させるものである。

成長ホルモン治療の評価

従来から報告されているように、PWSにおける身長 SDS に対する GH 治療の有用性が大規模な集約データ解析でも明らかになった。GH 治療は身長 SDS の改善だけではなく、筋力向上や体組成改善、また知能や性格にも関与する可能性があり、積極的に進められるべき治療である。

本研究では、年長児 (9 歳以降) における身長 SDS の反応性の低下が示されたが、これは性腺機能低下による思春期年齢における性ホルモンの関与が少ないことと関連がある可能性がある。しかし、GH 治療の身長促進以外の効果も考慮すると一概には GH 治療を否定するものではない。

遺伝学的病型による差異は少なくとも身長 SDS に関してはみられなかった。欠失例、メチル化陽性例の頻度は、従来からの頻度と一致しており、この 2 群間での他の要素についての比較検討が必要と思われる。

今後は体組成変化に関する検討と糖代謝、脂質代謝への影響、側湾症などの副作用の面からの解析を進める予定である。

性ホルモン治療の評価

思春期後の PWS 男性患者に対してテストステロン補充療法を行っても、行動異常は増加しないばかりか、何人かでは行動の改善が認められた。また、投与されたものは全て自信を持つようになった。脂肪率と BMI は変化なかったが、BMD と除脂肪体重は増加した。

合併症-1 糖尿病(DM)

PWS の DM 合併に関する過去の報告と比較した結果、肥満例が多く、DM 家族歴・GH 治療歴との相関は低いこと、またインスリン治療を要する頻度が多いことに関してはほぼ一致していた。しかし、発症年齢は 10-29 歳(中央値 15 歳)と早期であった。また DM 発症時の BMI が $43.3 \pm 12.7(\text{kg}/\text{m}^2)$ と著明な肥満であることから、食事・運動療法が徹底されていない PWS 患者は学童期以降、DM 発症に常に注意を払うべきと思われる。GH 治療との関係に関しては、肥満の影響はもちろん、DM 群の年齢層が高いことから、本邦で 2002 年に導入された GH が使用出来なかった可能性が考えられる。今後、GH 治療群を長期的に追跡し、DM 発症との関連を調査する必要がある。DM の病態としては、健常人の 2 型 DM と同様、過食・肥満に伴うインスリン抵抗性亢進が原因との報告がある一方、年齢・性別をマッチした単純性肥満に比べ、インスリン分泌能が低下しているとの報告もみられる。今回の検討では、インスリン抵抗性亢進が多い傾向がみられたが、内臓脂肪との相関などの検討も今後必要と考えられた。

腎症・網膜症への進展は、通常の DM と比較し、大きな違いは認められなかった。治療に関しては、食事・運動療法に加え、全例で経口血糖降下剤、インスリン治療を行っていた。経口血糖降下剤の選択に関しては、ビッグアナイド、 α -GI の頻度が高く、通常の肥満・インスリン抵抗性亢進例の DM における治療と同様の傾向がみられた。インスリン治療に関しては、減量に成功した 3 例で離脱が可能であったため、食事・運動療法の徹底が根本であると思われた。

合併症-2 側弯症

GH 療法開始時に側弯症のない 22 名の PWS 症候群患者では側弯症を発症しなかった。これに対して GH 療法開始時に側弯症のあった患者 13 名中側弯症の変化のないもの 5 名、増悪したもの 6 名、2 名に改善がみられた。2 名に GH 療法中に改善がみられたことは大変興味深いものであった。増悪群では、傍脊柱筋の増大率が無側弯群や無変化群に比して低い。また、無側弯群や無変化群では筋の左右差が改善するのに対して増悪群では左右差の改善が認められなかった。このことから傍脊柱筋を検討することで側弯症の増悪を予測するものと考えられた。

分子遺伝的解析

第一に、本邦における晩婚化を背景とした出産年齢の高齢化は、trisomy type UPD 患者の割合の増加に強く関与しているものと考えられる。しかし、母親年齢の上昇が trisomy rescue type UPD 発症を招く詳細な機序や、出産年齢の上昇以外に UPD 患者の比率を上昇させる要因については、さらなる検討が必要である。第二に、生殖補助医療により生まれた患者が優位に多いことは、高齢出産とは別の生殖補助医療に関わる因子が PWS の発症に関連することを示唆する。その候補として、体外培養や排卵誘発剤の使用が危惧される。第三に、UPD 患者群と欠失患者群の間には、少なくとも成長ホルモン分泌において差異が存在すると推測される。今後の解析により、より詳細なデータが得られると期待される。第四に、PWS の臨床像を示す患者の中に第 14 染色体母親性ダイソミーが存在することが明確となった。これは、より正確な遺伝子診断を推進すると考えられる。最後に、これらを勘案して作成された診断アルゴリズムは、PWS の正確な診断とそれに基づく(エピ)遺伝子型-表現型解析を可能とし、PWS 患者の医療に大きく貢献すると考えられる。

E. 結論

全国病院医師を対象とする実態調査、全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査、成長ホルモン治療効果の評価、性ホルモン治療効果の評価、向精神薬治療効果の評価、合併症の評価(糖尿病や側弯症)、詳細な遺伝子診断を行った。その結果、詳細な実態把握の基盤整備や患者会との連携活動が確立し、また、効率的診断法と治療法のあり方を提唱しえた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Nakamura Y, Nagai T, Iida T, Ozeki S, Nohara Y. Epidemiological aspects of scoliosis in a cohort of Japanese patients with Prader-Willi syndrome. *Spine J* 9;809-816, 2009.
2. Yuka Wada, Gen Nishimura, Toshiro Nagai, Hideaki Sawai, Magumi Yoshitaka, Shinichiro Miyagawa, Takushi Hanita, Seiji Sato, Tomonobu Hasegawa, Shumpei Ishikawa, Tsutomu Ogata. Mutation analysis of SOX9 and single copy number variant analysis of the upstream region in eight acampomelic campomelic dysplasia. *Am J Med Genet Part A* 149A:2882-2885, 2009
3. Fukami m, Nishimura G, Homma K, Nagai T, Hanaki K, Uematsu A, Ishii T, Numakura C, Sawada H, Nakacho M, Koease T, Motomura K, Haruna H, Nakamura M, Ohnishi A, Adachi M, Tajima T, Hasegawa Y, Hasegawa T, Horikawa R, Fujieda K, Ogata T. Cytocrome P450 oxidoreductase deficiency identification and characterization of biallelic mutations and genotype-phenotype correlations in 35 Japanese patients. *J Clin Endocrinol Metab* 94:1723-1731, 2009.
4. Isojima T, Yokoya S, Ito J, Horikawa R, Tanaka T. New reference growth charts for Japanese girls with Turner syndrome. *Pediatr Int.* 51(5):709-14, 2009.
5. Isojima T, Yokoya S, Ito J, Horikawa R, Tanaka T. Inconsistent determination of overweight by two anthropometric indices in girls with Turner syndrome. *Acta Paediatr.* 98(3):513-8, 2009.
6. 堀川玲子 早産児の二次性徴、生殖機能 周産期医学 39(5):609-614, 2009.
7. 堀川玲子 思春期と内分泌 小児疾患診療のための病態生理 小児内科・小児外科 22-31: , 2009.
8. 堀川玲子 思春期における身体成熟 小児科 50(11): 1681-1689, 2009.
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* (in press).
2. 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.
3. 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.
4. 緒方勤, 伊達木澄人, 山澤一樹. 胎内発育に影響する因子: IUGR の遺伝的要因. 藤枝憲二, 編集. SGA 性低身長症のマネジメント. メディカルレビュー社. 57-68, 2009.

5. 緒方勤. 胎児診断された第14染色体父性ダイソミーの症例:インプリンティング疾患における胎盤解析の重要性. 第1回胎児骨系統疾患フォーラム記録集. 15-18, 2009.
6. 山澤一樹, 緒方勤. シルバーラッセル症候群における分子遺伝学および臨床学的所見とその相関. ホルモンと臨床(印刷中)
7. 緒方勤. 先天性疾患のエピジェネティクス:第14染色体ダイソミー表現型発症機序をモデルとして. 細胞工学 28 (6): 572-577, 2009.
8. 緒方勤. エピジェネティクスと遺伝疾患. 小児科診療 72 (1): 39-44, 2009.
2. 学会発表
 1. Ogata T. Silver-Russell syndrome as a human imprinting disorder. Prenary Lecutre. In: The 14th Annual Scientific Meeting of Korean Society for Pediatric Endocrinology. October 24, Seoul, 2009.
 2. Ogata T. (Epi)genetic mechanisms leading to the development of upd(14)pat/mat phenotypes. In: The Seminar for Department of Physiology, Development & Neuroscience, University of Cambridge, March 6, Cambridge, 2009.
 3. 緒方勤. 胎児成長発達とゲノムインプリンティング. 第18回東海新生児研究会. 2009年(平成21年)11月7日, 名古屋
 4. Nakabayashi K, Yoshida W, Yamazawa K, Kusumi M, Ogata T., Hata K. MeDIP-chip detection and quantitative DNA methylation analysis of differentially methylated regions in imprinted loci. The 47th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics. 2009.
 5. 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.
 6. 鏡雅代, 高田修司, 深見真紀, 山澤一樹, 松原圭子, 加藤美弥子, 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.
 7. 山澤一樹, 鏡雅代, 松原圭子, 肥塚直美, 堀川玲子, 緒方勤. シルバーラッセル症候群の表現型とモザイクターナー症候群の核型を有する雌性単為生殖キメラ症例. 第43回日本小児内分泌学会, 2009.
 8. 鏡雅代, 加藤美弥子, 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は異なる役割をはたす. 第43回日本小児内分泌学会, 2009.
 9. 松原圭子, 山澤一樹, 中林一彦, 内木康博, 堀川玲子, 緒方勤. 片方のみがSilver-Russell症候群とH19-DMRの低メチル化を呈した一卵性双胎女児. 第43回日本小児内分泌学会, 2009.
 10. 勝島由利子, 山澤一樹, 勝島史夫, 緒方勤. 成長ホルモン分泌不全を合併し, H19-DMRの低メチル化を来したSilver-Russell症候群の1女児例. 第43回日本小児内分泌学会, 2009.
 11. 鏡雅代, 高田修司, 加藤美弥子, 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は異なる役割を果たす. 第54回日本人類遺伝学会, 2009.
 12. 中林一彦, 吉田亘, 山澤一樹, 永江玄太, 油谷浩幸, 緒方勤, 秦健一郎. DNAメチル化プリファイリングによるゲノムインプリンティング領域の網羅的解析. 第54回日本人類遺伝学会, 2009.
 13. 松原圭子, 山澤一樹, 中林一彦, 緒方勤. 片方のみがSilver-Russell症候群とH19-DMRの低メチル化を呈した一卵性双胎女児. 第54回日本人類遺伝学会, 2009.
 14. 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.
 15. 鏡雅代, 高田修司, 加藤美弥子, Anne C Ferguson-Smith, 緒方勤緒方勤. 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は異なる役割をはたす. 第3回日本エピジェネティクス研究会, 2009.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
Estrogen receptor alpha gene, genomic DNA, and diagnosis marker. 米国特許出願 Patent No: US 7,601,828 B2, 2009年10月13日
 1. 実用新案登録
なし
 2. その他
なし

分 担 研 究 報 告

効果的な治療法の確立と治療指針の作成

研究代表者 永井 敏郎 獨協医科大学小児科 教授

研究要旨

Prader-Willi 症候群の全国病院医師を対象とする患者実態調査、全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査を行い、また、糖尿病(DM)発症率・発症要因・治療法について調査した。その結果、把握できた患者数が 1,147 名(男性 604 名、女性 543 名)であり、さらに 0-55 歳まで、5 歳間隔で患者数を把握しえた。また、患者会を対象とする詳細な実態調査と患者会との密接な連携が開始された。DM 合併率は 10 歳以上で 26.2%であった。発症年齢が 10 代前半と早期で、加齢とともに合併率は増加した。また肥満は DM 発症のハイリスクであった。DM 合併者で、過去に成長ホルモン使用歴のある者は少数であった。インスリン分泌能に関しては抵抗性亢進例が多く、慢性合併症に関しては、腎症合併例が 29.4%、眼合併例が 11.8%であった。治療法に関してはインスリン使用例が 64.7%と多数であった。側弯症に関して、成長ホルモン使用で改善、不変、増悪するかが PWS 症候群患者の傍脊柱筋を検査することで予測できることが明らかとなった。

共同研究者

土屋 貴義 獨協医大越谷病院小児科 助教

A. 研究目的

本研究の目的は、Prader-Willi 症候群(PWS)の実態把握と、それに基づく治療指針の作成である。その必要性は、本症候群が、乳児期早期の筋緊張低下、乳児期以降の過食と高度の肥満傾向およびその結果としての糖・脂質代謝異常、中枢性(および続発性)性腺機能低下、成長障害、精神発達遅延など、生涯にわたり QOL の低下を招く難病であるにもかかわらず、現行治療法の評価、遺伝的異質性による症状や治療反応性の解析、長期予後の解明がなされていないことにある。

本分担研究では、ほかの分担研究で扱っていない重要なテーマとして、全国実態調査、PWS の糖尿病(DM)と側弯症について現状のまとめと治療方針について研究した。PWS の糖尿病(DM)発症率は 7-20%とされるが、本邦での報告は少ない。発症要因は過食・肥満に起因するインスリン抵抗性亢進の他に、分泌低下を認めた症例も存在し、詳細は不明である。また PWS の摂食行動異常、精神発達遅滞、独特な性

格障害等の影響で、積極的な治療が施行されていない場合も多い。今回我々は当院通院中の学童期以降(10 歳以上)PWS 患者で、DM 発症率、発症要因、治療法について調査した。一方、PWS の側弯症は高頻度にみられる合併症の一つであり、その頻度は近年 40~50%と報告されている。側弯症が高頻度にみられる PWS 症候群においてその低身長に対して成長ホルモン(GH)療法が開始された。GH 療法により側弯症が増加・増悪することが危惧された。

B. 研究方法

全国病院医師を対象とする実態調査:患者数、診断根拠、治療内容、合併症などについて、全国病院医師を対象とする患者実態調査を行った。

全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査:食生活、活動性、合併症、治療内容とその効果および副作用、生殖補助医療の有無など、多岐にわたる詳細な調査を実施した。

糖尿病(DM):当院受診歴のある PWS 患者 153 名(0-53 歳)のうち、10 歳以上の 65 名(10-53 歳)を対象とした(10 歳未満の DM 罹患者は存在しなかった)。DM

の診断は日本糖尿病学会(1999年)診断基準に基づいた。発症要因に関しては、年齢、性別、遺伝子型(欠失型、非欠失型)、在胎週数、出生体重、BMI、成長ホルモン(GH)治療歴について調査した。統計学的検討には Student-t、Mann Whitney の検定を使用した。

側弯症:対象は、当科において外来フォロー中の PWS 症候群患者で GH 療法を行い、定期的に側弯症のフォローおよび体組成評価のため腹部 CT scan を行うことができた 35 名である。年齢は 2 歳から 16 歳。男性 22 名、女性 13 名。欠失型 23 名、非欠失型 12 名。6 ヶ月毎に脊椎 X 線写真をとり、Cobb 角 10 度以上を側弯とした。体組成評価のため腹部 CT scan を行った同じフィルムを用いて傍脊柱筋の面積を測定した。傍脊柱筋の増大率 $\left[\frac{\text{latest total muscle volume} - \text{first total muscle volume}}{\text{first total muscle volume} \times \text{period of observation (year)}} \times 100\right]$ とその左右差 $\left[\frac{\text{larger muscle volume} - \text{smaller muscle volume}}{\text{smaller muscle volume}} \times 100\right]$ について検討した。

(倫理面への配慮)

本研究に当たって、患者もしくは家族から研究の内容、臨床データの使用について同意を得た。また臨床データより、個人情報特定することはできない。

C. 研究結果

全国病院医師を対象とする実態調査:患者数、診断根拠、治療内容、合併症などについて、全国の小児遺伝学会会員、小児内分泌学会会員、全国重症心身障害児施設神経科医など、計 1504 名を対象としてアンケート調査を行い、692 名(46.0%)の医師から回答を得た。その結果、把握できた患者数が 1,147 名(男性 604 名、女性 543 名)であり、さらに 0-55 歳まで、5 歳間隔で患者数を把握しえた。また、診断根拠は、本症候群責任インプリンティング領域の遺伝子解析によるものが 1010 名を占め、その内訳は欠失が 798 名、メチル化異常のみの同定が 194 名、エピ変異が 18 例であった。しか

年齢別患者数			
年齢	男	女	合計
0-5歳	172	158	330
6-10歳	132	124	256
11-15歳	117	97	214
16-20歳	81	57	138
21-25歳	47	59	106
26-30歳	23	29	52
31-35歳	14	11	25
36-40歳	5	2	7
41-45歳	6	1	7
46-50歳	2	0	2
51-55歳	1	1	2
年齢不明	4	4	8
合計	604	543	1147

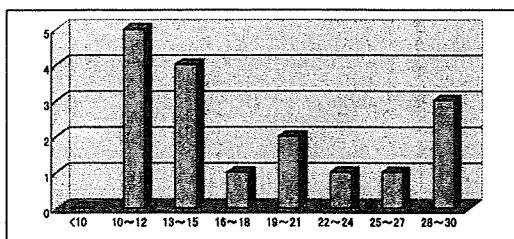
し、商業ラボではできない第 15 染色体母親性ダイソミーの解析は、ほとんどなされていなかった。その他の調査結果は、現在解析中である。

全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査:全国患者会連合大会を 10 月に開催した。これにより、患者会の全面的な協力体制のもとに、567 名を対象として、食生活、活動性、合併症、治療内容とその効果および副作用、生殖補助医療の有無など、多岐にわたる詳細な調査が実施しえた。現在、詳細を解析中である。

糖尿病(DM):DM 頻度は 65 名中 17 名(26.2%)であった。発症時年齢は 10-15 歳と 28-30 歳の二峰性にピークがみられた(中央値 15 歳)。DM 群(17 名)と非 DM 群(48 名)の二群間比較では在胎週数、出生体重で有意差を認めなかったが、現在の年齢($P < 0.05$)、BMI($P < 0.01$)では有意差があり、DM 群で高齢かつ肥満が顕著であった。発症要因の検討では性差、遺伝子型で有意差を認めなかったが、GH 使用歴に関しては、使用患者は少数で、有意差($P < 0.05$)を認めた。DM 家族歴がある患者は、DM 群 16 名中 3 名(18.8%)であった。発症時のインスリン分泌に関しては、HOMA-R 2.5 以上の抵抗性亢進例が 10 名中 7 名(70%)、尿中 C-ペプチド $20 \mu\text{g}/\text{日}$ 以下の分泌低下例が 6 名中 2 名(33.3%)であった。慢性合併症に関しては、

蛋白尿 1 名(5.9%)、微量アルブミン尿 4 名(23.5%)、単純網膜症 2 名(11.8%)であった。治療歴に関しては、インスリン使用例が 17 名中 11 名(64.7%)であり、うち 3 名(27.3%)が離脱した。

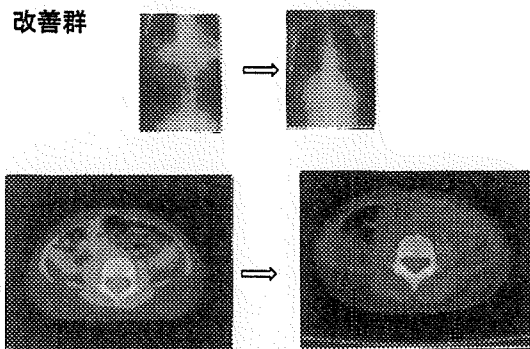
DM発症時年齢分布



中央値15歳(10~29歳)

側弯症:①35 名中 22 名は経過中に側弯は認められなかった(無側弯群)。5名ではGH開始前から側弯症が認められたが、経過中変化が認められなかった(無変化群)。6名ではGH療法開始前から側弯症が認められ、経過中に増悪が認められた(増悪群)。2名ではGH開始前から側弯症が認められたが、経過中に側弯が改善した(改善群)。②筋増大率は無側弯群では8.8-114.1%/year(中央値34.6%/year)、無変化では0-54.0%/year(中央値41.3%/year)、増悪群では2-38.6%/year(中央値8.0%/year)、改善群はそれぞれ58.8、27.8%/yearであった。無側弯群と増悪群、無変化群と増悪群間で有意差が認められた。左右差は開始時無側弯群では0.4-22.8%(中央値6.9%)、無変化群では0.7-21.0%(中央値8.8%)、増悪群では5.3-13.9%(中央値10.4%)、改善群ではそれぞれ0.7 and 5.3%であった。これに対して終了時では0.7-7.7%(中央値4.3%)、無変化群では0.2-8.2%(中央値5.8%)、増悪群では7.8-17.3%(中央値11.7%)、改善群ではそれぞれ1.8、5.0%であった。無側弯群と無変化群では優位に左右差が減少した。

改善群



両側傍脊柱筋の増加率: 58.4%/yr
傍脊柱筋の左右差: 0.7→3.8%

D. 考察

全国病院医師を対象とする実態調査:これにより、プラダーウイリ症候群の詳細な現状把握の基盤が整備された。

全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査:この全国患者会の開催は、全国患者会間の連携および患者会と医療者間の連携強化に基盤を確固とするものである。また、患者会でなければできない詳細な調査がなされたことは、プラダーウイリ症候群の衣料研究を大きく進展させるものである。

糖尿病(DM):PWSのDM合併に関する過去の報告と比較した結果、肥満例が多く、DM家族歴・GH治療歴との相関は低いこと、またインスリン治療を要する頻度が多いことに関してはほぼ一致していた。しかし、発症年齢は10-29歳(中央値15歳)と早期であった。またDM発症時のBMIが $43.3 \pm 12.7(\text{kg}/\text{m}^2)$ と著明な肥満であることから、食事・運動療法が徹底されていないPWS患者は学童期以降、DM発症に常に注意を払うべきと思われる。GH治療との関係に関しては、肥満の影響はもちろん、DM群の年齢層が高いことから、本邦で2002年に導入されたGHが使用出来なかった可能性が考えられる。今後、GH治療群を長期的に追跡し、DM発症との関連を調査する必要がある。DMの病態としては、健常人の2型DMと同様、過食・肥満に伴うインスリン抵抗性亢進が原因との報告がある一方、年齢・性別をマッチした単純性肥満に比べ、インスリン分泌能が低下しているとの報告もみられる。今回の検討では、インスリン抵抗性亢進が多い傾向がみられたが、内臓脂肪との相関などの検討も今後必要と考えられた。腎症・網膜症への進展は、通常のDMと比較し、大きな違いは認められなかった。治療に関しては、食事・運動療法に加え、全例で経口血糖降下剤、インスリン治療を行っていた。経口血糖降下剤の選択に関しては、ビグアナイド、 α -GIの頻度が高く、通常の肥満・インスリン抵抗性亢進例のDMにおける治療と同様の傾向がみられた。インスリン治療に関しては、減量に成功した3例で離脱が可能であったため、食事・

運動療法の徹底が根本であると思われた。

側弯症:GH 療法開始時に側弯症のない 22 名の PWS 症候群患者では側弯症を発症しなかった。これに対して GH 療法開始時に側弯症のあった患者 13 名中側弯症の変化のないもの 5 名、増悪したもの 6 名、2 名に改善がみられた。2 名に GH 療法中に改善がみられたことは大変興味深いものであった。増悪群では、傍脊柱筋の増大率が無側弯群や無変化群に比して低い。また、無側弯群や無変化群では筋の左右差が改善するのに対して増悪群では左右差の改善が認められなかった。このことから傍脊柱筋を検討することで側弯症の増悪を予測しうるものと考えられた。

E. 結論

全国病院医師を対象とする実態調査、全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査を行い、糖尿病(DM)と側弯症の詳細な調査がなえた。:

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. Nakamura Y, Nagai T, Iida T, Ozeki S, Nohara Y. Epidemiological aspects of scoliosis in a cohort of Japanese patients with Prader-Willi syndrome. Spine J 9;809-816, 2009.
2. Yuka Wada, Gen Nishimura, Toshiro Nagai, Hideaki Sawai, Magumi Yoshitaka, Shinichiro Miyagawa, Takushi Hanita, Seiji Sato, Tomonobu

Hasegawa, Shumpei Ishikawa, Tsutomu Ogata. Mutation analysis of SOX9 and single copy number variant analysis of the upstream region in eight acampomelic campomelic dysplasia. Am J Med Genet Part A 149A:2882-2885,2009

3. Fukami m, Nishimura G, Homma K, Nagai T, Hanaki K, Uematsu A, Ishii T, Numakura C, Sawada H, Nakacho M, Koease T, Motomura K, Haruna H, Nakamura M, Ohnishi A, Adachi M, Tajima T, Hasegawa Y, Hasegawa T, Horikawa R, Fujieda K, Ogata T. Cytocrome P450 oxidoreductase deficiency identification and characterization of biallelic mutations and genotype-phenotype correlations in 35 Japanese patients. J Clin Endocrinol Metab 94:1723-1731,2009.

学会発表:日本小児内分泌学会, 2009 年, 宇都宮

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

遺伝的発症機序の解明と(エピ)遺伝子型—表現型解析

研究分担者 緒方勤 国立成育医療センター研究所 部長

研究要旨

Prader-Willi 症候群 (PWS) 患者の遺伝的発症原因の解明を介して以下のことを明らかとした。(1) 本邦における晩婚化を背景とした出産年齢の高齢化は、trisomy type の第15染色体母親性ダイソミー患者の割合の増加に強く関与しているものと考えられる。(2) 生殖補助医療により生まれた患者が優位に多いことは、高齢出産とは別の生殖補助医療に関わる因子がPWSの発症に関連することを示唆する。(3) UPD患者群と欠失患者群の間には、少なくとも成長ホルモン分泌において差異が存在する。(4)PWSの臨床像を示す患者の中に第14染色体母親性ダイソミーが存在する。(5)診断アルゴリズムの作成は、PWSの正確な診断とそれに基づく(エピ)遺伝子型—表現型解析を可能とし、PWS患者の医療に大きく貢献すると考えられる。

共同研究者

松原 圭子 (国立成育医療センター研究所)

A. 研究目的

Prader-Willi 症候群 (PWS) は、15000-20000 人に 1 人の頻度で発症する先天性疾患で、第15染色体長腕近位部のインプリンティング領域の異常に起因する。従来から患者の 70%程度で父性由来 15 番染色体 q11-13 領域の欠失が、25-30%で 15 番染色体母性片親性ダイソミー (UPD: uniparental disomy) が、5%未満で 15 番染色体上のインプリント調節領域の異常が認められるとされている。そして、UPD 発症機序のひとつに、15 番染色体を 2 つ持つ卵子が正常な精子と受精した後、trisomy rescue を介して父親由来の 15 番染色体が取り除かれ、母親由来の 15 番染色体のみが残った結果 UPD となるものが知られている。異数性を有する卵子の形成は減数分裂時の不分離に起因しており、この過程には母親の高年齢の関与が大きいと考えられている。近年、本邦においても女性の晩婚化と出産年齢の上昇が進んでおり、PWS 患者における UPD 頻度が増加していることが推察される。しかし、その推移を解析した研究はない。さらに、生殖補助医療の影響や発症原因と臨床像との関連を解析した報告もほとんど見られない。

本研究の目的は、これら未説明の問題を解明し、本症候群の医療の向上に貢献することである。

B. 研究方法

(1) 遺伝的発症原因の解明

獨協医科大学越谷病院小児科でフォロー中の PWS 患者 156 名に対して、メチル化試験、染色体検査、FISH、マイクロサテライト解析、MLPA を行い、各々の発症原因を解析した。その結果をもとに、30 歳以上の母親から生まれた児の数が、20-29 歳の母親より生まれた児の数を上回った 2003 年前後における各々の発症病因の割合を比較した。また、生殖補助医療との関連について解析した。

(倫理面への配慮)

本研究の遂行にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守し、検体の収集を含めた研究計画については、国立成育医療センター、および各検体の収集施設において予め倫理委員会の承認を得ている。検体は、書面によるインフォームド・コンセントを取得後に収集している。

(2) 発症原因と成長ホルモン分泌と治療反応性の関連

上記患者において、発症原因と治療前の成長ホルモン負荷試験時の頂値および関連する内分泌検査との関連性を検討した。

(3) 第 14 染色体母親性ダイソミー解析

近年、PWS と臨床診断された患者の一部において第 14 染色体母親性ダイソミーが同定されている。このため、第15染色体長腕近位部のインプリンティング領域に異常を認めなかった症例において第 14 染色体母親性ダイソミーの解析を行った。

(4) 診断アルゴリズムの開発

上記のデータを元に PWS の新しい診断アルゴリズムを提唱した。

C. 研究結果

(1) 遺伝的発症原因の解明

2002 年以前に出生した患者では欠失が 83%、trisomy rescue を介した UPD(trisomy rescue type UPD)が 14%に認められたのに対し、2003 年以降に出生した患者では欠失が 60%、trisomy rescue type UPD が 28%に認められ、2003 年以降出生群において UPD 比率の増加を認めた ($p=0.014$)。母親の年齢が上昇するほど、または児の出生年次が最近であるほど、trisomy rescue type UPD の割合が増加していた。2002 年以前と 2003 年以降出生群の母親年齢を比較すると、2003 年以降で上昇(2002 年以前中央値 30 歳(19-48)vs. 2003 年以降中央値 35(23-45), $p=0.00041$)していたが、trisomy rescue type UPD 群でのみ母親の出産年齢の上昇を認めた ($p=0.031$)。さらに、少なくとも 11 名の患者が生殖補助医療で出生し、この頻度が一般集団の生殖補助医療による出生児の割合よりも有意に高いこと(したがって、本排卵誘発を含む生殖補助医療がリスク因子となりうること)が判明した。

(2) 発症原因と成長ホルモン分泌と治療反応性の関連

インスリン刺激に対する成長ホルモン頂値は、UPD 患者群において欠失患者群よりも低値であった(GH peak 3.60 ± 2.2 ng/ml vs. 11.1 ± 8.6 ng/ml, $p=0.0013$)。しかし、身長 SDS ($p=0.46$)、IGF-I 値 ($p=0.30$)、IGFBP3 値($p=0.56$)、治療開始後成長ホルモンへの反応性(1 年間 $p=0.14$, 2 年間 $p=0.56$)と、2 群の間で同等であった。

(3) 第 14 染色体母親性ダイソミー解析

第15染色体長腕近位部のインプリンティング領域に異常を認めなかった患者 4 例において、第 14 染色体母親性ダイソミーが同定された。

(5) 診断アルゴリズムの開発

以上から、図に示す診断アルゴリズムを提唱した。

D. 考察

以上の成績は以下のことを示唆する。第一に、本邦における晩婚化を背景とした出産年齢の高齢化は、trisomy type UPD 患者の割合の増加に強く関与しているものと考えられる。しかし、母親年齢の上昇が trisomy rescue type UPD 発症を招く詳細な機序や、出産年齢の上昇以外に UPD 患者の比率を上昇させる要因については、さらなる検討が必要である。第二に、生殖補助医療により生まれた患者が優位に多いことは、高齢出産とは別の生殖補助医療に関わる因子がPWSの発症に関連することを示唆する。その候補として、体外培養や排卵誘発剤の使用が危惧される。第三に、UPD患者群と欠失患者群の間には、少なくとも成長ホルモン分泌において差異が存在すると推測される。今後の解析により、より詳細なデータが得られると期待される。第四に、PWSの臨床像を示す患者の中に第 14 染色体母親性ダイソミーが存在することが明確となった。これは、より正確な遺伝子診断を推進すると考えられる。最後に、これらを勘案して作成された診断アルゴリズムは、PWSの正確な診断とそれに基づく(エピ)遺伝子型-表現型解析を可能とし、PWS患者の医療に大きく貢献すると考えられる。

E. 結論

PWSにおける遺伝子診断による発症機序の解明を行い、母体高齢化や生殖補助医療の影響を同定した。さらに、エピ遺伝子型-表現型解析の遂行、鑑別診断の同定、診断アルゴリズムの作成を行った。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

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* (in press).

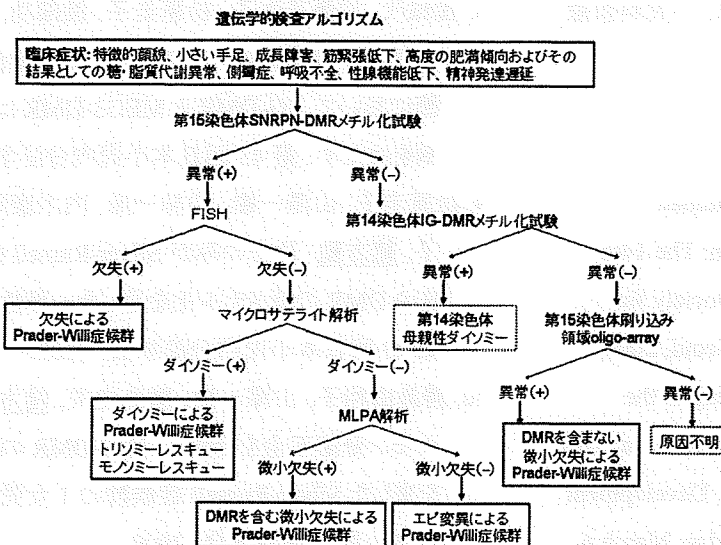
2. Hosoki K, Kagami M, Tanaka T, Kubota M, Kurosawa K, Kato M, Uetake K, Tohyama J, Ogata T, Saitoh S. Maternal uniparental disomy 14 syndrome demonstrates Prader-Willi syndrome-like phenotype. *Journal of Pediatrics* 155 (6): 900–903, 2009.
3. Kobayashi H, Yamada K, Morita S, Hiura H, Fukuda A, Kagami 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.
4. 緒方勤, 伊達木澄人, 山澤一樹. 胎内発育に影響する因子: IUGR の遺伝的要因. 藤枝憲二, 編集. SGA 性低身長症のマネジメント. メディカルレビュー社. 57–68, 2009.
5. 緒方勤. 胎児診断された第 14 染色体父性ダイソミーの症例: インプリンティング疾患における胎盤解析の重要性. 第 1 回胎児骨系統疾患フォーラム記録集. 15–18, 2009.
6. 山澤一樹, 緒方勤. シルバーラッセル症候群における分子遺伝学および臨床学的所見とその相関. ホルモンと臨床 (印刷中)
7. 緒方勤. 先天性疾患のエピジェネティクス: 第 14 染色体ダイソミー表現型発症機序をモデルとして. *細胞工* 学 28 (6): 572–577, 2009.
8. 緒方勤. エピジェネティクスと遺伝疾患. *小児科診療* 72 (1): 39–44, 2009.
2. 学会発表
 1. Ogata T. Silver-Russell syndrome as a human imprinting disorder. Prenary Lecutre. In: The 14th Annual Scientific Meeting of Korean Society for Pediatric Endocrinology. October 24, Seoul, 2009.
 2. Ogata T. (Epi)genetic mechanisms leading to the development of upd(14)pat/mat phenotyopes. In: The Seminar for Department of Physiology, Development & Neuroscience, University of Cambridge, March 6, Cambridge, 2009.
3. 緒方勤. 胎児成長発達とゲノムインプリンティング. 第 18 回東海新生児研究会. 2009 年 (平成 21 年) 11 月 7 日, 名古屋
4. Nakabayashi K, Yoshida W, Yamazawa K, Kusumi M, Ogata T, Hata K. MeDIP-chip detection and quantitative DNA methylation analysis of differentially methylated regions in imprinted loci. The 47th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics. 2009.
5. 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.
6. 鏡雅代, 高田修司, 深見真紀, 山澤一樹, 松原圭子, 加藤英弥子, 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.
7. 山澤一樹, 鏡雅代, 松原圭子, 肥塚直美, 堀川玲子, 緒方勤. シルバーラッセル症候群の表現型とモザイクターナー症候群の核型を有する雌性単為生殖キメラ症例. 第 43 回日本小児内分泌学会, 2009.
8. 鏡雅代, 加藤英弥子, 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.
9. 松原圭子, 山澤一樹, 中林一彦, 内木康博, 堀川玲子, 緒方勤. 片方のみが Silver-Russell 症候群と H19-DMR の低メチル化を呈した一卵性双胎女児. 第 43 回日本小児内分泌学会, 2009.
10. 勝島由利子, 山澤一樹, 勝島史夫, 緒方勤. 成長ホルモン分泌不全を合併し, H19-DMR の低メチル化を来した Silver-Russell 症候群の 1 女児例. 第 43 回日本小児内分泌学会, 2009.
11. 鏡雅代, 高田修司, 加藤英弥子, 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.

12. 中林一彦, 吉田亘, 山澤一樹, 永江玄太, 油谷浩幸, 緒方勤, 秦健一郎. DNA メチル化プリファイリングによるゲノムインプリンティング領域の網羅的解析. 第 54 回日本人類遺伝学会, 2009.
13. 松原圭子, 山澤一樹, 中林一彦, 緒方勤. 片方のみが Silver-Russell 症候群と H19-DMR の低メチル化を呈した一卵性双胎女児. 第 54 回日本人類遺伝学会, 2009.
14. 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.
15. 鏡雅代, 高田修司, 加藤英弥子, Anne C Ferguson-Smith, 緒方勤緒方勤. 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.

H. 知的財産権の出願・登録状況

Estrogen receptor alpha gene, genomic DNA, and diagnosis marker. 米国特許出願 Patent No: US 7,601,828 B2、2009 年 10 月 13 日



Prader-Willi症候群における成長ホルモン療法に関する研究

研究分担者 藤枝 憲二 旭川医科大学小児科 教授

研究要旨

Prader-Willi 症候群に対する成長ホルモン治療効果をわが国における最大のデータベースである成長科学協会の申請登録データを用いて解析した。

A. 研究目的

Prader-Willi症候群(PWS)における成長ホルモン(GH)療法は広く認知されているが、多くの患者の治療データや臨床情報を収集・調査し、調査結果を共有することは治療方針に有用である。

本分担研究ではわが国における最大のデータベースである成長科学協会の申請登録データ解析から、GH治療後の身長伸びと年齢およびPWSの遺伝学的病型との関連について検討し、本疾患におけるGH治療の向上を図ることを目的とする。

B. 研究方法

2002年から2009年まで成長科学協会に登録申請されたPWS診断症例165例(男92,女73例)のうち、GH治療が行われ治療経過を把握できた97例(男57,女40例)を対象とした。全例に遺伝学的病型を決定し、GH治療開始1年から3年後の身長SDスコアを解析した。

解析データ	フォロー数(例)	年齢分布(例)	遺伝学的病型
	治療後1年目	0歳~3歳	
	97	39	染色体欠失
97例 (男57 女40)	治療後2年目	4歳~8歳	71(73%)
	55	37	メチル化陽性
	治療後3年目	9歳~16歳	26(27%)
	35	21	

(倫理面への配慮)

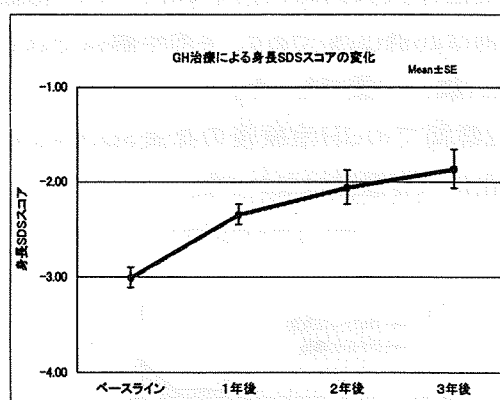
臨床情報は全国からの報告(既存資料を用いる観察研究)にて得た連結可能匿名化

によるデータである。個人情報保護のためデータの取り扱いには注意を払い厳重に保管、調査終了一定期間後に廃棄予定である。

C. 研究結果

1) GH治療効果

GH治療開始時年齢は生後4か月~16歳、平均6.1歳であった。GH治療開始後1年目、2年目、3年目につれてドロップアウトおよび未報告例があり、それぞれ97例、55例、35例の身長SDスコアおよび変化量(Δ SDSスコア)を解析した。



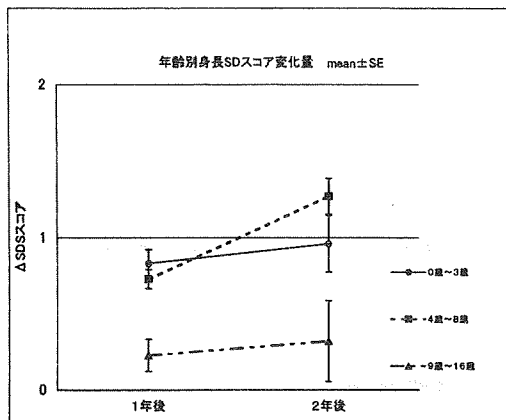
図に示すように、GH治療前の平均SDスコア(-3.0)に対して、治療後1年目には平均SDスコア-2.34と著明に改善した。

2) 年齢依存性

年齢別のGH治療の効果を検討するために、GH治療開始時の年齢を0-3歳(39例)、4-8歳(37例)9-16歳(21例)の3群に分け、治療後1年目および2年目の治療前からの

身長SDSスコアの変化量(Δ SDSスコア)を解析した。

9-16歳の群では、他の2群に比較して有意にΔ SDSスコアは低く、1年目では平均0.23、2年後は0.32であった(図)。

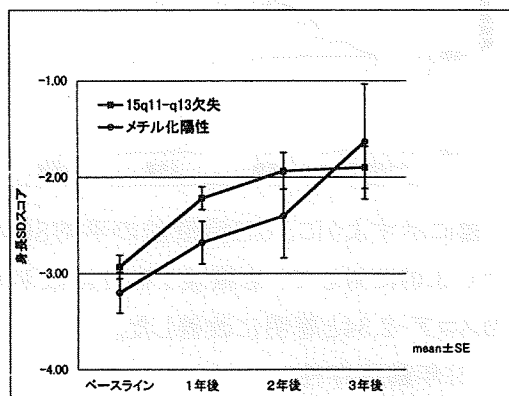


3) 遺伝学的病型

PWSの遺伝学的病型を15番染色体欠失およびメチル化テストを施行し、片親性ダイソミーまたは刷り込み変異を示すメチル化陽性例の2群に対してGH治療の効果の差異を検討した。

染色体欠失例は71例(73%)、メチル化陽性例は26例(27%)であり、平均年齢はそれぞれ5.7歳、7.0歳であった。

2群間でのGH治療後の身長SDスコアの変化には有意差はなかった。



D. 考察

従来から報告されているように、PWSにお

ける身長SDSに対するGH治療の有用性が大規模な集約データ解析でも明らかになった。GH治療は身長SDSの改善だけでなく、筋力向上や体組成改善、また知能や性格にも関与する可能性があり、積極的に進められるべき治療である。

本研究では、年長児(9歳以降)における身長SDSの反応性の低下が示されたが、これは性腺機能低下による思春期年齢における性ホルモンの関与が少ないことと関連がある可能性がある。しかし、GH治療の身長促進以外の効果も考慮すると一概にはGH治療を否定するものではない。

遺伝学的病型による差異は少なくとも身長SDSに関してはみられなかった。欠失例、メチル化陽性例の頻度は、従来からの頻度と一致しており、この2群間での他の要素についての比較検討が必要と思われる。

今後は体組成変化に関する検討と糖代謝、脂質代謝への影響、側湾症などの副作用の面からの解析を進める予定である。

E. 結論

成長科学協会に登録された97例のPWS症例におけるGH治療データ解析から、身長SDSの改善が示された。年長児では身長SDSの改善が乏しい傾向にあることが明らかになった。また、遺伝学的病型による身長SDSへの改善に差異はなかった。

PWSにおけるGH治療は今後も続けられるべき重要な治療と考えられる。

F. 健康危険情報(総括研究報告書にてまとめて記載)

G. 研究発表

なし