

200936234A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群（ウォルフヒルシュホーン
症候群を含む）の診断法の確立と患者数の把握に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 福嶋義光

平成22（2010）年 5月

目 次

I. 総括研究報告

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群（ウォルフヒルシュホーン症候群を含む）
の診断法の確立と患者数の把握に関する研究

福嶋義光----- 1

II. 分担研究報告

1. ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群（ウォルフヒルシュホーン症候群を含む）
の診断法の確立と患者数の把握に関する研究 - ゲノムアレイ解析 -

涌井敬子----- 5

（別表）ゲノムアレイ解析結果

2. ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群（ウォルフヒルシュホーン症候群を含む）
の診断法の確立と患者数の把握に関する研究 - 症例検討・情報提供

古庄知己 ----- 8

3. ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群（ウォルフヒルシュホーン症候群を含む）
の診断法の確立と患者数の把握に関する研究 - 症例検討・情報提供

大橋博文 ----- 10

（資料）ウォルフヒルシュホーン症候群についての情報提供 ----- 12

1) GeneReviews Japan <<http://grj.umin.jp/>> への掲載 ----- 12

2) 4p モノソミー症候群集団外来 勉強会資料 ----- 21

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 27

IV. 研究成果の刊行物・別刷

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群（ウォルフヒルシュホーン症候群を含む）の診断法の確立と患者数の把握に関する研究

研究代表者 福嶋義光 信州大学医学部 教授

Wolf-Hirschhorn 症候群を含む先天奇形症候群の診断精度を向上させ、染色体の量的変化と臨床症状との関連を明らかにするために、ゲノム上のコピー数の変化を網羅的に検出するゲノムアレイ解析法を用いて、次の研究を行った。

1) Wolf-Hirschhorn 症候群の欠失範囲と臨床症状との関係を明らかにする。2) 原因不明の先天奇形症候群とゲノムコピー数異常の関係を明らかにする。3) ゲノムアレイ解析で問題となる CNV (copy number variation) について、日本人のデータを集積し、精度の高いゲノムアレイ解析法を確立する。

ゲノムアレイ解析を行った Wolf-Hirschhorn 症候群 4 症例では、欠失範囲が大きくなるにつれ、合併症や精神遅滞の程度が重症化する傾向がみられた。また、原因不明の多発奇形/精神遅滞症候群 (MCA/MR syndrome) 27 例を対象に行ったゲノムアレイ解析では、全症例に何らかのゲノムコピー数の変化を認め、そのうち少なくとも 3 例 (11%) は臨床症状と関連があるコピー数異常の可能性が高いと考えられた。ゲノムアレイ解析は先天奇形症候群の診断に有用であるが、適切にコピー数の変化を評価するためには、必要に応じて患者および両親の metaphase FISH 解析を実施するなど追加解析を行う必要がある。また、臨床症状に直接関係しないコピー数多型 (CNV) に関して今後日本人を対象としたデータベース構築が必要である。

分担研究者

涌井敬子（信州大学医学部助教）
古庄知己（信州大学医学部附属病院講師）
大橋博文（埼玉県立小児医療センター）

A. 研究目的

従来、先天奇形症候群の診断は、臨床症状の組み合わせを根拠に主観的になされることが多く、診断精度は限られたものであった。ウォルフヒルシュホーン症候群 (WHS) は 4 番染色体短腕に位置する遺伝子群の欠失により引き起こされる疾患であり、重度精神遅滞、成長障害、難治性てんかん、多発奇形を主徴とする疾患で、頻度は約 5 万人に 1 人と推定されている。本症候群の一部は染色体検査により 4 番染色体短腕の部分欠失を検出できる場合があるが、顕微鏡観察により行われる染色体検査では明らかな異常を検出できない症例も数多く存在する。近年、ゲノム上のコピー数の変化を網羅的に検出するゲノムアレイ解析法が開発され、数多くの先天奇形症候群とゲノムコピー数異常との関係が明らかにされつつある。本研究の

目的は、WHS を含む先天奇形症候群のゲノムアレイ解析技術を用いた診断法を確立し、この方法を用いて、わが国の人口の約 7.3% をカバーする地域（埼玉県、長野県）における診断未確定の先天奇形症候群患者を解析し、ゲノムコピー数異常を有する患者の頻度を明らかにすることにより、わが国の WHS を含む先天奇形症候群の患者数を把握することである。

B. 研究方法

①解析対象症例の集積とサンプル収集

埼玉県立小児医療センター遺伝科は1985年から約四半世紀にわたり、先天異常児の診療のレベル向上に努めてきた医療機関である。代表的先天異常であるダウン症候群では、埼玉県で出生する罹患児の80~90%が当センターを受診しているため、ウォルフヒルシュホーン症候群を含む先天奇形症候群においても、そのほとんどが当センターを受診していると考えられる。同様に、長野県においても1996年に設立された信州大学医学部附属病院遺伝子診療部、および2003年に診療を開始した長野県立こども

病院遺伝科に先天奇形症候群のほとんどが受診する状況になっている。この2地域3施設で登録されている診断未確定の症例の中から、ゲノムコピー数異常の可能性が高いと考えられる症例を解析対象とする。

②ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の患者数把握

県内において新たに出生する、染色体異常症およびゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群（ウォルフヒルシュホーン症候群を含む）のほとんどが受診していると考えられる、埼玉県立小児医療センター遺伝科における過去3年間の年間初診患者の内訳のデータに基づき、ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の患者数を推計した。

③ゲノムアレイ解析

Signature Genomics社のデザインによる135Kのオリゴプローブを搭載したNimbleGen CGX array (SignatureChipOS™) を用いて、専用解析ソフトGenoglyphix®により、ウォルフヒルシュホーン症候群を含む先天奇形症候群患者のゲノムアレイ解析を実施する。その際、ゲノムアレイ技術のさまざまな問題点を明らかにし、それらの問題を克服しつつ、結果を適切に臨床応用するための条件や課題を検討する。

染色体検査は、ゲノムコピー数の異常（トリソミー、モノソミー）および大きなゲノムの位置変化（転座、逆位等）を検出することができる技術であるが、顕微鏡で観察できる大きさ以上、すなわちDNAレベルでは3～6 Mb以上の変化がないと検出ができない。全ゲノムを対象に数十kb程度の微細なゲノムコピー数の異常の検出を可能としたゲノムアレイ技術により、いくつかの先天奇形症候群において微細なゲノムコピー数異常との関連が明らかにされてきた。ゲノムアレイ解析では、検出されたゲノムコピー数異常が、臨床症状と関連があるか否かという結果の解釈（臨床的評価）が重要である。ヒトには病気の発症とは関係のないコピー数多型（Copy Number Variation: CNV）を示す領域が多数存在することが明らかにされており、ゲノムアレイ解析を行う際には、CNVとの鑑別を考慮しておかなければならないが、CNVに関する情報は未だ十分でない。そこで4万症例の解析データを参考にできる解析ソフトGenoglyphix®を利用する。しかしながら、Genoglyphix®に登録されているデータは主に

米国人の結果であり、日本人のCNVのデータベースを新たに構築していく必要がある。

④ウォルフヒルシュホーン症候群の予後予測

すでに3施設で診断されているウォルフヒルシュホーン症候群患者、および本研究により新たに診断された患者の詳しい臨床症状を集め、ゲノムコピー数異常の部位・範囲との関係を明らかにする。本症では成長障害、精神遅滞、筋緊張低下、摂食障害、てんかん、難聴、先天性心疾患、唇裂口蓋裂、性腺・腎尿路障害、脳形態異常、などさまざまな障害が起こりうるが、ゲノムコピー数異常の部位・範囲との関連を明らかにすることにより、本症の予後予測・早期治療に結びつける。

⑤ウォルフヒルシュホーン症候群についての情報提供

1) 遺伝情報サイトであるGeneReviews Japan <<http://grj.umin.jp/>>にウォルフヒルシュホーン症候群に関する最新情報（疾患の特徴、頻度、診断・検査、鑑別診断、臨床像、合併症、マネージメント、遺伝カウンセリング等）を掲載する。

2) ウォルフヒルシュホーン症候群の患者・家族を対象とした勉強会を開催し、本疾患についての最新の情報提供を行う。

C. 研究結果

①本研究により、2010年4月末までに47家系、計107名の患者・親の血液試料から、直接DNA抽出するとともに、染色体検査用固定細胞を準備した。

②ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の患者数把握

埼玉県立小児医療センターにおける年間平均初診患者数は約300名で、その内、36%は染色体異常（内ウォルフヒルシュホーン症候群は0.6%）、34%は既知の奇形症候群、20%は多発奇形・精神遅滞を有するものの、確定診断がなされておらずゲノムコピー数異常である可能性のある患者であった。染色体異常症の出生頻度は1000人に約8人といわれているので、ゲノムコピー数異常の可能性のある新生児は、1000人につき、2名程度生まれていると推定された。

③原因不明の多発奇形/精神遅滞症候群

(MCA/MR syndrome) 27 症例を解析し、検出されたゲノムコピー数異常が患者の臨床症状と関連があるかどうかの判断を、ゲノムコピー数異常の大きさ、異常領域に含まれる遺伝子、および病気の原因とは直接関係のない CNV かどうか、の 3 点を考慮した上で行った。少なくとも 3 例 (11%) は臨床的に意味のあるゲノムコピー数異常の可能性が高いと考えられたが、今後さらに、各症例の異常領域ごとに、適切な DNA クロームをデータベースから選択し、これをプローブとして患者・両親の染色体検査用固定細胞標本への metaphase FISH 解析などの追加解析により、ゲノムコピー数異常に伴う染色体再構成について分子細胞遺伝学的に確認する必要がある。

④ゲノムアレイ解析を行ったウォルフヒルシュホーン症候群 4 症例の 4 番染色体短腕の欠失範囲は、4p テロメア側からそれぞれ、8.77Mb, 8.77Mb, 7.50Mb, 5.48Mb であり、欠失範囲が大きくなるにつれ、合併症や精神遅滞の程度が重症化する傾向がみられた。

	Age	Sex	4p16 loss size (Mb)	Statures	MR	Facies	Growth delay	Microcephaly	Cleft palate	Hydrocephalus	CHD	Renal anomalies	
Pt 1	8y	F	8.77	+ 2歳時より改善傾向	+	+	+ 座位獲得 4y3m	+	+	NA	+	-	鼻涙管閉塞 8p23.3-p23.1 gain (6.9Mb)
Pt 2	16y	F	8.77	+ 改善	+	+	+	+	+	NA	+	+ 低形成腎不全	側彎、内反足、 外科視
Pt 3	3y	M	7.50	+ 鼻化剤にて大発作改善	+	+	+	+	-	-	-	-	
Pt 4	16y	F	5.48	+ 改善	+	+	+ 独歩 7y	+	-	NA	-	-	

⑤ウォルフヒルシュホーン症候群についての情報提供

1) 遺伝情報サイトである GeneReviews Japan <<http://grj.umin.jp/>> にウォルフヒルシュホーン症候群に関する最新情報 (疾患の特徴、頻度、診断・検査、鑑別診断、臨床像、合併症、マネジメント、遺伝カウンセリング等) を掲載した (添付資料参照)。

2) 埼玉県立小児医療センターにおいて、2010 年 12 月 18 日 (金) に、ウォルフヒルシュホーン症候群の患者・家族を対象とした勉強会を開催し、本疾患についての最新の情報提供を行った。さらに本研究への協力を依頼し、参加した 7 家族から本研究計画への協力の同意を得た。

同時に、参加家族から、本研究への要望事項を聴取した (添付資料参照)。

D. 考察

ウォルフヒルシュホーン症候群 (WHS) を含む先天奇形症候群の診断は主観的判断によって行われたり、染色体検査ではその一部しか検出することができないため、診断精度は低く、診断されない例が数多く存在する。本研究において、染色体異常症例の頻度と、原因不明の多発奇形症例の頻度の比較から、1000 出生あたり、2 名程度が確定診断の困難なゲノムコピー数異常の可能性のある先天奇形症候群であると推定した。先天性の疾患で、診断がなされない状態は、両親の不安が大きく、診断されるまでに数多くの無用な検査がなされることになる。

本研究の推進により、先天奇形症候群の診断方法を確立することは、診断未確定症例を解消させ、無用な検査費用の削減につながる。さらに、ゲノムコピー数異常の原因が、親由来のものであるため次子も同様の状態になる可能性があるものなのか、de novo (突然変異) によるもので次子には影響を与えないものであるのかを明確にすることができ、両親の不安を軽減することができると思われる。

WHS のゲノムアレイ解析の結果、欠失範囲が大きくなるにつれ、合併症や精神遅滞の程度が重症化する傾向があることを明らかにした。本症候群は重度精神遅滞、成長障害、難治性てんかん、多発奇形のために、長期にわたる治療・ケアが必要であり、患者や家族の負担は大きい。将来予測についての情報は、両親の不安の軽減に役立つ。

本研究によって行った遺伝情報サイト GeneReviews Japan への最新情報の掲載、および埼玉県立小児医療センターにおいて行った患児・両親を対象とした勉強会は、当事者、医療者双方にとって意義深いものであると考える。

ゲノムアレイ解析は先天奇形症候群の診断に大変有用であるが、適切な臨床的評価には、必要に応じて実施する追加解析の結果もあわせて総合的に解釈することが必要である。特に、ゲノムコピー数異常の大きさ、異常領域に含まれる遺伝子、および病気の原因とは直接関係のない CNV かどうか、の 3 点に留意して評価する必要がある。さらにゲノムコピー数異常に伴う染色体再構成についても確認する必要がある。ゲノムアレイ解析技術を適切に臨床応用する

ために、日本人 CNV データベースを構築する必要がある。

本研究により今後、日本人症例を対象にゲノムアレイ解析を実施する際の留意点を示すことができ、本研究はWHSばかりではなく、他の先天奇形症候群の診断にも役立てられるものである。

E. 結論

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の診断にゲノムアレイ技術は極めて有効であるが、最終的な診断を下すためには、日本人の CNV に関する情報の集積が必要である。

F. 健康危険情報

本研究課題では健康危機に関わる問題は生じない。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kosho T, Miyake N, Hatamochi A, Takahashi J, Kato H, Miyahara T, Igawa Y, Yasui H, Ishida T, Ono K, Kosuda T, Inoue A, Kohyama M, Hattori T, Ohashi H, Nishimura G, Kawamura R, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N. A New Ehlers-Danlos Syndrome With Craniofacial Characteristics, Multiple Congenital Contractures, Progressive Joint and Skin Laxity, and Multisystem Fragility-related Manifestations. *Am J Med Genet Part A* (in press).

Muramatsu Y, Kosho T (corresponding author), Magota M, Yokotsuka T, Ito M, Yasuda A, Kito O, Suzuki C, Nagata Y, Kawai S, Ikoma M, Hatano T, Nakayama M, Kawamura R, Wakui K, Morisaki H, Morisaki T, Fukushima Y. Progressive aortic root and pulmonary artery aneurysms in a neonate with Loey's-Dietz syndrome type 1B. *Am J Med Genet A*. 2010 Feb;152A(2):417-21.

Yamazaki M, Kosho T (equal contribution, corresponding author), Kawachi S, Mikoshiba M, Takahashi J, Sano R, Oka K, Yoshida K, Watanabe T, Kato H, Komatsu M, Kawamura R, Wakui K, Knappskog PM, Boman H, Fukushima Y. Cold-induced sweating syndrome with neonatal features of Crisponi syndrome: longitudinal observation of a patient homozygous for a CRLF1 mutation. *Am J Med Genet A*. 2010 Mar;152A(3):764-9.

福嶋義光：遺伝子診断と生命倫理。小児科 50:813-817, 2009

福嶋義光：遺伝と疾病。内科学書（改訂第7版）
Vol 1. 内科学総論（編集：伴信太郎）。
pp. 15-20, 2009

福嶋義光：遺伝子診療と倫理。糖尿病学の進歩
2009（日本糖尿病学会編）。診断と治療社
pp. 86-89, 2009

涌井敬子：染色体検査結果をどう読むか。最新
医療情報雑誌アニムス 特集遺伝医学。2009
59:21-26.

福嶋義光, 涌井敬子, 松田和之：染色体検査・
遺伝子関連検査。金井正光（監），臨床検査
法提要改訂第33版，pp. 1113-1164, 金原出
版，東京，2010

古庄知己。13トリソミー症候群。小児科診療増
刊号「小児の症候群」 72 Sup:15, 2009。
4月

古庄知己。18トリソミー症候群。小児科診療増
刊号「小児の症候群」 72 Sup:19, 2009。
4月

古庄知己。染色体異常症のファミリー・サポー
トグループ。小児内科 41 (6) : 910-915,
2009. 6月

古庄知己。13トリソミー。小児内科 41 増刊
号「小児疾患診療のための病態生理 2」
233-235, 2009. 8月

古庄知己。18番染色体異常症。小児内科 41
増刊号「小児疾患診療のための病態生理 2」
240-242, 2009. 8月

古庄知己。Ehlers-Danlos 症候群, Marfan 症候群。
小児内科 41 増刊号「小児疾患診療のため
の病態生理 2」973-980, 2009. 8月

古庄知己。SGA の疫学と発症要因 胎児側の要
因。周産期医学「特集：SGA をめぐる諸問
題」 40 (2) : 170-173, 2010. 2月

古庄知己。先天異常児の発達支援。周産期医学
(in press)

古庄知己。18トリソミーの自然歴およびマネジ
メントの確立をめざして。小児科学会誌 (in
press)

大橋博文：4番染色体異常。小児疾患診療のため
の病態整理(第4版)。小児内科41:223-235,
2009

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群（ウォルフヒルシュホーン症候群を含む）の診断法の確立と患者数の把握に関する研究
- ゲノムアレイ解析 -

研究分担者 涌井敬子 信州大学医学部助教

ゲノムコピー数異常の診断に有用なゲノムアレイ解析技術を適切に用いるための条件を検討し、Wolf-Hirschhorn 症候群を含む先天奇形症候群の解析を行った。検出されたゲノムコピー数異常が、臨床症状と関連があるか否かという結果の解釈（臨床的評価）が重要であり、適切に臨床応用してゆくためにも、日本人に認められる疾患の発症に直接関係のない多型（copy number variation）のデータベース構築が必要である。

A. 研究目的

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の診断法としてゲノムアレイ解析法を導入する際のさまざまな問題点を明らかにし、それらの問題を克服しつつ、Wolf-Hirschhorn 症候群（WHS）を含む先天奇形症候群患者について解析する。さらにその結果を適切に臨床応用するための条件や課題を検討する。

B. 研究方法

① 試料処理

ゲノムアレイ解析による結果を適切に解釈するために、患者および協力が得られた親から採取された血液から直接DNA抽出するとともに、染色体検査用固定細胞を準備した。

② ゲノムアレイ解析

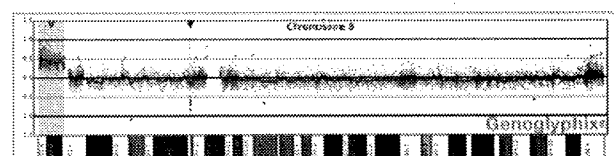
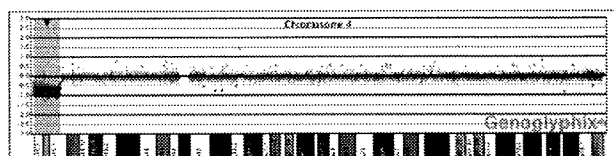
Signature Genomics社のデザインによる135Kのオリゴプローブを搭載したNimbleGen CGX array (SignatureChip0S™) を用いて、専用解析ソフトGenoglyphix®により、患者40症例のゲノムアレイ解析を実施した。

患者試料およびレファランス試料のDNAをそれぞれ異なる色素にて標識、等量混合しNimbleGen CGX arrayにアプライ、数日間ハイブリダイズさせたのち洗浄・乾燥させ、MS200 Microarray Scannerにてスキャンした。NimbleScanにより取り込んだスキャンイメージをGGXファイルに変換し、Genoglyphix®を利用してゲノムコピー数異常（copy number changes: CNCs）の検出と評価を行った。

C. 研究結果

解析を行った患者40症例について、全症例の結果概要を別表に示す。今回解析したすべての症例に、臨床症状との関連が不明なCNCsを含め、症例により1～9箇所、平均5箇所の領域にCNCsを認めた。

WHS症例の解析例として、4番染色体短腕の欠失および8番染色体との転座を伴う1症例のゲノムアレイ解析イメージと、4症例のCNCsの領域と大きさを下記に示した。



Subject	copy number loss region	location	loss size(Mb)	copy number gain region	location	gain size(Mb)
14P	4p16.3-p16.1	~8772114	8.77Mb	8p23.3-p23.1	~6907722	6.90Mb
15P	4p16.3-p16.1	~5488869	5.48Mb			
17P	4p16.3-p16.1	~7509074	7.50Mb			
30P	4p16.3-p16.1	~8772114	8.77Mb			

ゲノムアレイ解析の validation 目的も兼ねて実施した、WHS以外で従来の染色体解析法により異常が認められていた9症例の解析では、全ての症例で欠失/重複範囲を詳細に決定でき、そのうち3例については分染法で特定困難な複雑な染色体再構成を示唆する結果が得られた。次子の再発率に影響することがあるため、今後患者および両親の metaphase FISH 解析により詳細を明らかにする必要がある。

原因不明の多発奇形/精神遅滞 (multiple congenital anomalies/ mental retardation: MCA/MR) 症候群 27 症例の解析で、少なくとも 3 例 (11%) は臨床的に意味のある CNCs の可能性が高いと考えられた。今後、各症例の異常領域ごとに、適切な DNA クローンをデータベースから選択しプローブとして患者・両親の染色体検査用固定細胞標本への metaphase FISH 解析などの追加解析により、CNCs に伴う染色体再構成について分子細胞遺伝学的に確認する必要がある。

ゲノムアレイ解析では、CNCs を検出した後、その異常が患者の臨床症状と関連があるかどうかについての臨床的評価が重要である。その判断は、CNCs の大きさ、異常領域に含まれる遺伝子、および病気の原因とは直接関係のない多型 (copy number variation: CNV) かどうか、の 3 点がポイントとなる。その際に、4 万症例の解析データを参考にできる Genoglyphix® による解析は非常に有用であった。これまでの解析において検出された、1q44, 6p25.3, 8p11.23, 10q11.22, 10q11.22, 10q26.3, 12p13.31, 14q11.2, 16p12.1, 17q21.31, Xp22.33, Xq28 に認めた CNCs は Genoglyphix® に既知の CNV として登録されていた領域であった。7p22.3, 8p11.1, 12q24.11, 14q32.33, 15q24.1, 19p12 などについては、Genoglyphix® に登録はないものの異なる複数の家系に検出された CNCs であるため日本人特有の CNV と推定された。しかしながらその確定には、今後実施する両親の解析結果なども考慮し慎重に判断する必要がある。

D. 考察

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の診断法として、Signature Genomics 社のデザインによる 135K のオリゴプローブを搭載した NimbleGen CGX array (SignatureChipOS™) を用いて、専用解析ソフト Genoglyphix® によるゲノムアレイ解析を導入し、解析を開始した。

ゲノムアレイ解析技術は、全ゲノムを対象として数十 kb 程度の微細な CNCs の検出を可能としたが、CNV に関する情報は未だ十分でなく、検出される CNCs が臨床的に意味のある異常かどうかについて適切に臨床的評価をするために、4 万症例の解析データを参考にできる解析ソフト Genoglyphix® は非常に有用であった、し

かしながら、登録されているデータは主に米国人の結果であり、これまでの解析で日本人に特有な CNV と考えられる CNCs も検出されてきていることから、日本人 CNV データベースを構築してゆく必要性は大きい。そのためにも必要な追加解析が可能となるよう、患者と両親から採取した血液からそれぞれ直接 DNA 抽出するとともに染色体検査用固定細胞を準備することが重要である。CNCs が検出された際には、臨床症状のない親にも認められる異常かどうかの確認と、CNCs に伴う患者および両親の染色体再構成の確認のため、検出された CNCs とその領域から推定される染色体構造異常を確認するために、必要な DNA クローンをデータベースから選択しプローブとする metaphase FISH 解析が必要である。

ゲノムアレイ解析は先天奇形症候群の診断に大変有用であるが、適切な臨床的評価には、必要に応じて実施する追加解析の結果もあわせて総合的に解釈することが必要である。特に、CNCs の大きさ、異常領域に含まれる遺伝子、および病気の原因とは直接関係のない CNV かどうか、の 3 点に留意して評価する必要がある。今後その結果解釈も標準化してゆく必要がある。

E. 結論

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の診断のためにゲノムアレイ解析技術を導入し、適切な臨床的評価のために必要な条件・課題等について明らかにした。

F. 健康危険情報

本研究課題では健康危機に関わる問題は生じない。

G. 研究発表

1. 論文発表

涌井敬子. 染色体検査結果をどう読むか. 最新医療情報雑誌アニムス 特集遺伝医学. 2009 59:21-26.

福嶋義光, 涌井敬子, 松田和之: 染色体検査・遺伝子関連検査. 金井正光 (監), 臨床検査法提要改訂第 33 版, pp. 1113-1164, 金原出版, 東京, 2010

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

別表

subject ID	indication	karyotype	Array Results	CNV susp	CNV
14P	WHS	der(4)t(4;8)	loss 4p16*, gain 8p23*	2q31.1, 7q31.1, 8p11.23, 8p23.3	6p25.3, 8q23.3
15P	WHS	del(4)	loss 4p*	8p11.23, 8p11.1	8p11.23
17P	WHS	del(4)	loss 4p*	17q21.32, 18p11.32, 19p12	12q13.31, 16p12.1
30P	WHS	del(4)	loss 4p*	8p11.1	10q26.3
5P	Chr Abn	add(2q)	gain 2q16*, loss 2q17.3* #	8p11.1, 11q23.1, 14q23.3	6p25.3, 16p12.1
19P	Chr Abn	del(2q)	loss 2q14*, loss 9q24.1*		19p12
20P	Chr Abn	del(4q)	loss 4q34*		8p11.23
11P	Chr Abn	del(6q)	loss 6q16-21*	8q11.22	6p25.3, 8p11.22, 16p12.1
1P	Chr Abn	add(11q)	loss 11q24*, 11q25* #	4q31.3, 7q31.1, 7q34, 9q23	8p11.23, 10q11.22
32P	Chr Abn	mos i(12p)	gain 12p13*	12q24.11	1q44, Xp22.33
10P	Chr Abn	mos del(13q)	loss 13q13-31*	4q36, 16p12.2	6p25.3
16P	Chr Abn	del(13q)	loss 13q22-32*	8p11.1, 19p12	16p12.1
12P	Chr Abn	add(17p)	gain 7pter*, 17pter* #	8p23.3-23.2, 9p13.3, 16p21	
28P	MCA/MR	46, XX	loss 1p21*, gain 17q12	1p36.13, 11p11.2, 17p13.3, 19p12	12p13.31, Xq28
6P	MCA/MR	46, XX	gain 1q43*	19p12	6p25.3, 8p11.23, Xp22.33
25P	MCA/MR	46, XX	gain 8p23.2*	19p12	6p25.3, Xp22.33, Xq28
39P	MCA/MR	46, XY	loss 13q31	11p15, 11p14.3, 18q23	16p12.1, Xp22.33
42P	MCA/MR	46, XY	loss 17p11.2	3p11.1, 8q11.23	1q44, 16p12.1, Xp22.33
27P	MCA/MR	46, XX		1q21.3, 14q32.33, 19p12	6p25.3, 10q26.3, Xp22.33
4P	MCA/MR	46, XX		2q23.3, 5p15.33, 10q24.32, 18q22.1	6p25.3
29P	MCA/MR	46, XY		2q37.3, 8p23.3-23.2, 8p11.1, 19p13.3, 22q11.21	10q11.22, 10q26.3, 16p12.1, Xq28
43P	MCA/MR	46, XX		3p12.3, 6p21.1, 18q12.3, 19p12	1q44, 12p13.31, Xq28
9P	MCA/MR	46, XY		4p16.3, 14q32.33, 21q22.3	10q11.22, Xp22.33, Xq28
23P	MCA/MR	46, XY		6q14, 14q21.1	12p13.31, 16p12.1, Xp22.33
38P	MCA/MR	46, XX		7p22.3, 7q36.2, 9p24.3	14q11.2, 16p12.1, Xp28
36P	MCA/MR	46, XX		7p22.3, 13q12, 19p12	8p11.23, 12q12, 16p12.1, Xq28
37P	MCA/MR	46, XY		7p22.3	12p13.31, 17q21.31, Xp22.33
13P	MCA/MR	46, XX		9q31.1, 19p12	6p25.3, 16p12.1, Xp22.33, Xq28
2P	MCA/MR	46, XX		12q24.11	1q44, 6p25.3
18P	MCA/MR	46, XX		13q34	6p25.3, 10q26.3, 16p12.1
24P	MCA/MR	46, XY		15q24.1, 16p13.2	8p11.23
22P	MCA/MR	46, XY		15q24.1, Xq11.1	8p11.23, 16p12.1, Xp22.33, Xq28
8P	MCA/MR	46, XX		19p12, 19p13.3	14q11.2, 16p12.1, Xq28
41P	MCA/MR	46, XX		19p12	1q44, 6p25.3, Xp22.33
26P	MCA/MR	46, XX		19p12	1q44, 6p25.3, Xp22.33, Xq28
21P	MCA/MR	46, XX		19p12	6p25.3, Xq28
34P	MCA/MR	46, XX		19p12	8p11.23, Xq28
33P	MCA/MR	46, XY			1q44, 6p25.3, 8p11.23, 16p12.1, Xp22.33
44P	MCA/MR	46, XY			1q44, 6p25.3, 16p12.1, Xp22.33, Xq28
7P	MCA/MR	46, XX			6p25.3

WHS: Wolf-Hirschhorn syndrome, Chr Abn: Chromosomal Abnormality, MAC/MR: multiple congenital anomalies/mental retardation
 * > 1Mb gain or loss, #: suspect complex chromosomal rearrangements

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群（ウォルフヒルシュホーン症候群を含む）の診断法の確立と患者数の把握に関する研究
- 症例検討・情報提供 -

研究分担者 古庄知己 信州大学医学部附属病院講師

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の診断方法を確立するために、対象となる症例について、詳細に臨床症状を検討した。患者・家族への適切な情報提供のために、遺伝情報サイトであるGeneReviews Japan <<http://grj.umin.jp/>>にウォルフヒルシュホーン症候群に関する最新情報（疾患の特徴、頻度、診断・検査、鑑別診断、臨床像、合併症、マネージメント、遺伝カウンセリング等）を掲載した。

A. 研究目的

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の診断方法を確立するために、対象となる症例について、詳細に臨床症状を検討するとともに、患者・家族への適切な情報提供を行う。

B. 研究方法, C. 研究結果, およびD. 考察

①対象症例の収集と臨床症状の検討

本研究の対象として収集した症例のうちウォルフヒルシュホーン症候群は4例、その他が36例であった。その他のうち、染色体構造異常がG分染法で判明しており、より詳細な解析を目的として行ったものが8例、G分染法では正常核型のいわゆるMCA/MR（原因不明の多発奇形/精神遅滞症候群）が28例であった。

②情報提供

GeneReviews Japan<<http://grj.umin.jp/>>は、遺伝性疾患の症状や診断、遺伝学的検査（遺伝子検査など）、遺伝カウンセリングなどについて、専門家による解説が参照できる医療スタッフ向けの遺伝性疾患情報サイトである。米国の臨床遺伝医学に関する総合情報サイトGeneTest <<http://www.geneclinics.org/>>の中から重要性の高いと思われる項目を中心に、許可を得て日本語訳し、発信している。このサイトは事務局を信州大学医学部附属病院遺伝子診療部におき、全国の遺伝医学の専門家によって運営されている。

2009年3月24日に更新されたGeneReviewのウォルフヒルシュホーン症候群についての記載を翻訳し、GeneReviews Japanに掲載した【資料参照】。

E. 結論

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の診断方法を確立するために、対象となる症例を収集するとともに、詳細に臨床症状を検討した。さらに患者・家族への適切な情報提供を行った。

F. 健康危険情報

本研究課題では健康危機に関わる問題は生じない。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kosho T, Miyake N, Hatamochi A, Takahashi J, Kato H, Miyahara T, Igawa Y, Yasui H, Ishida T, Ono K, Kosuda T, Inoue A, Kohyama M, Hattori T, Ohashi H, Nishimura G, Kawamura R, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N. A New Ehlers-Danlos Syndrome With Craniofacial Characteristics, Multiple Congenital Contractures, Progressive Joint and Skin Laxity, and Multisystem Fragility-related Manifestations. Am J Med Genet Part A (in press).

Muramatsu Y, Kosho T (corresponding author), Magota M, Yokotsuka T, Ito M, Yasuda A, Kito O, Suzuki C, Nagata Y, Kawai S, Ikoma M, Hatano T, Nakayama M, Kawamura R, Wakui K, Morisaki H, Morisaki T, Fukushima Y. Progressive aortic root and pulmonary artery aneurysms in a neonate with Loeys-Dietz syndrome type 1B. Am J Med Genet A. 2010 Feb;152A(2):417-21.

Yamazaki M, Kosho T (equal contribution, corresponding author), Kawachi S, Mikoshiba M, Takahashi J, Sano R, Oka K, Yoshida K, Watanabe T, Kato H, Komatsu M, Kawamura R, Wakui K, Knappskog PM, Boman H, Fukushima

Y. Cold-induced sweating syndrome with neonatal features of Crisponi syndrome: longitudinal observation of a patient homozygous for a CRLF1 mutation. Am J Med Genet A. 2010 Mar;152A(3):764-9.

古庄知己. 13トリソミー症候群. 小児科診療増刊号「小児の症候群」 72 Sup : 15, 2009. 4月

古庄知己. 18トリソミー症候群. 小児科診療増刊号「小児の症候群」 72 Sup : 19, 2009. 4月

古庄知己. 染色体異常症のファミリー・サポートグループ. 小児内科 41 (6) :910-915, 2009. 6月

古庄知己. 13トリソミー. 小児内科 41 増刊号「小児疾患診療のための病態生理 2」233-235, 2009. 8月

古庄知己. 18番染色体異常症. 小児内科 41 増刊号「小児疾患診療のための病態生理 2」240-242, 2009. 8月

古庄知己. Ehlers-Danlos症候群, Marfan症候群. 小児内科 41 増刊号「小児疾患診療のための病態生理 2」973-980, 2009. 8月

古庄知己. SGAの疫学と発症要因 胎児側の要因. 周産期医学「特集:SGAをめぐる諸問題」40 (2) : 170-173, 2010. 2月

古庄知己. 先天異常児の発達支援. 周産期医学 (in press)

古庄知己. 18トリソミーの自然歴およびマネジメントの確立をめざして. 小児科学会誌 (in press)

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群（ウォルフヒルシュホーン症候群を含む）の診断法の確立と患者数の把握に関する研究
－ 症例検討・情報提供 －

研究分担者 大橋博文 埼玉県立小児医療センター

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の診断方法を確立するために、対象となる症例を収集するとともに、臨床症状を詳細に検討した。患者・家族への適切な情報提供のために、ウォルフヒルシュホーン症候群の患者・家族を対象とした勉強会を開催した。

A. 研究目的

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の診断方法を確立するために、対象となる症例について、詳細に臨床症状を検討するとともに、患者・家族への適切な情報提供を行う。

B. 研究方法, C. 研究結果

①対象症例の収集と臨床症状の検討

2009年10月から2010年3月までに本研究の対象として収集した症例はウォルフヒルシュホーン症候群4例を含む5例である。

②勉強会の開催

平成21年12月18日（金）10:00-13:00、埼玉県立小児医療センター 保健発達棟研修室において、「4pモノソミー症候群の精密診断とケア」をテーマに、勉強会を開催した。医療サイドの参加者は医師3名、看護師1名、遺伝カウンセリングコース修士大学院生1名であった。

すでに4番染色体短腕欠失が判明している7家族14名が参加した。プログラムと概要は下記の通りである。

【プログラムと概要】

1. “疾患の概念と最近の知見について” スライドにて説明

*染色体、遺伝子、症候群の基礎知識、4p-の疾患概念の説明とともに、主要な合併症であるけいれんと発達遅滞における近年の報告や、欠失領域と症状との関連における最近の知見を中心に概説した（スライド資料を添付）。

2. CGH アレイ検査についての意義と研究協力についての説明

*全染色体領域にわたって網羅的かつ詳細に

コピー数を同定する新たな検査法であるアレイCGH法を4p-の患者さんに行うことで、以前はわからなかった詳細なコピー数異常の領域を同定することができる。このことは詳細な原因の同定により4p-の臨床症状と原因との深い理解につながる今後、4p-のよりよい健康管理指針の同定や治療につながる可能性、といった意義をもち、信州大学においてこの検査が可能となったため、研究協力としての参加をお願いした。

*患者さんからは検査をしたいという積極的な意見があった。今後、個別にお話をして同意を得れば採血を行っていく予定となった。尚、コピー数多型の判断において、ご両親の検査も同時に行う必要性も説明した。

3. 患者家族の自己紹介とフリートーキング

後半は、ご家族の自己紹介の後、お子さんの状況などについてのフリートーキングを行った。痙攣については2-3歳くらいまで重責を繰り返した例が多く、その後改善しているとの意見が多かった。一家族においては、重篤な発作がバルプロ酸のみでコントロール不良のため近年有効との報告のある臭化Naの投与で落ち着いていた（3歳男児）。年長児以降の児をもつご家族からは、“身長、体重の伸びが大きくなった（16歳女児）”、“この一年で体重が3kg増えた（6歳女児）”と体調の安定と共に、身長、体重の伸びを認めたこと、また“7歳で一人歩き可能になった（16歳女児）”、“二語文を話し、排泄も最近自立できた（12歳女児）”、“4歳3ヶ月でお座りでき、ゼロではなくてプラスにかわってきた（6歳女児）”など、ゆっくりではあるが確実な進歩を示している意見も出て、幼児期前半の児をもつご家族への参考にな

ったのではないかと感じられた。また生活面では“家族全員で外出できないことがつらい（3歳男児）”，“知らない集団では緊張，パニックになることが心配（16歳女児）”などの心配点もあがった一方，“次子の出産予定であり，兄弟ができてどう児が変わるか楽しみ”などの意見も出た。また児の受容については“2歳で初めて診断され，5歳くらいになるまで精神的に受け入れられなかった（16歳女児）”や“羊水検査で診断をうけており，今思えば出産までが精神的に一番つらかった”など多様な意見も出た。4p-の家族会“フォーシーズンの会”を立ち上げたご家族からの家族会の紹介もあり，お互いのご家族同士での情報交換もなされた。

③埼玉県立小児医療センター遺伝科の初診患者

埼玉県立小児医療センター遺伝科の初診患者数とその内訳は下記の通りであった。

年度	初診数	染色体	MCA/MR	既知
2006	233	82	52	85
2007	350	133	63	120
2008	308	107	62	99
3年平均	297	107	59	101

D. 考察

難治性疾患患者・家族を交え勉強会を開催することは，患者・家族への正確な情報提供ができ，患者・家族同士の交流が生まれるきっかけともなり，極めて有意義である。

埼玉県立小児医療センター遺伝科の初診患者における染色体異常症例数と，原因不明の多発奇形症例（MCA/MR）数の比較から，1,000出生あたり，2名程度が確定診断の困難なゲノムコピー数異常の可能性のある先天奇形症候群であると推定できる。

E. 結論

ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の診断方法を確立するために，対象となる症例を収集するとともに，詳細に臨床症状を検討した。さらに患者・家族への適切な情報提供を行った。

F. 健康危険情報

本研究課題では健康危機に関わる問題は生じない。

G. 研究発表

1. 論文発表

大橋博文：4番染色体異常．小児疾患診療のための病態整理(第4版)．小児内科41:223-235, 2009

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Wolf- Hirschhorn 症候群

(Wolf- Hirschhorn Syndrome)

[4p- Syndrome, Del(4p) Syndrome, Monosomy 4p, include :Pitt-Rogers-Danks Syndrome }

GeneReview 著者 : Agatino Battaglia , MD; John C Carey, MD; Tracy J Wright, PhD. .

日本語訳者 : 古庄知己 (信州大学医学部附属病院遺伝子診療部) , 福嶋義光 (信州大学医学部附属病院遺伝子診療部)

GeneReview 最終更新日: 2009.3.24. 日本語訳最終更新日: 2010.1.18.

原文 [Wolf- Hirschhorn Syndrome](#)

要約

疾患の特徴

Wolf- Hirschhorn 症候群 (WHS) は、乳児期には、次のような典型的な頭部顔面の特徴を呈している：“ギリシャ兵士のヘルメット様”と称される鼻（前頭部に続く幅広い鼻梁）、小頭症、高い前頭部と突出した眉間、眼間開離、内眼角贅皮、高く弓状の眉毛、短い人中、下を向いた口角、小顎症、耳近傍の突起を伴った耳介低形成。すべての患者において、子宮内から始まり出生後も続く成長障害、筋緊張低下、およびさまざまな程度の発達遅滞/知的障害が認められる。けいれんが50～100%の患者に認められる。その他、骨格異常（60～70%）、先天性心疾患（30～50%）、聴覚障害（ほとんどの場合伝音性）（40%以上）、尿路奇形（25%）、脳の構造異常（33%）が認められる。

診断・検査

WHSの診断は特徴的な顔貌、成長障害、精神運動発達遅滞、痙攣により疑いがもたれ、Wolf- Hirschhorn Critical Region (WHCR, WHSの責任領域, 4p16) の欠失を検出することにより確定診断がなされる。従来の細胞遺伝学的分析（ルーチンのG分染法と高精度分染法）では、WHSにおける欠失の60～70%（あるいはもっと少ない）しか検出できないが、WHCR (Wolf- Hirschhorn Critical Region ; WHSの責任領域) のプローブを用いたFISH法では95%以上を検出できる。検査は臨床検査として実施可能である。ほとんどの患者が、他の染色体構造異常を伴わない欠失（いわゆる単純な欠失）を有するが、環状4番染色体、4p-モザイク、不均衡型相互転座に由来する派生染色体といった複雑な染色体構造異常を有する場合もある。

臨床的マネジメント

WHSを有する患者の治療としては次のようなものがある：リハビリテーション、言語・コミュニケーション療法とサイン言語、非典型的の小発作に対するバルプロ酸投与、てんかん発作に対するベンゾジアゼピン投与、摂食障害に対する“Haberman feeder”、経管栄養、and/ or 胃瘻造設。骨格異常、眼科的異常、先天性心疾患、および聴力障害に対しては、標準的なケアが推奨される。

遺伝カウンセリング

WHSは、いくつかの遺伝的機序の一つに基づき4p16に局在するWHS責任領域が欠失することによって発症する。約75%の患者が新規の4p16欠失を、約12%の患者が環状4番染色体などの頻度の低い構造異常を、そして約13%の患者が親の不均衡型相互転座に由来する不均衡型相互転座による4p16欠失を呈する。再発リスクは欠失の遺伝学的機序によって異なる。親が染色体構造異常の保因者であることがわかっている場合、出生前診断は臨床的に可能である。

診断

臨床診断

WHSの診断は特徴的な顔貌、成長障害、精神運動発達遅滞、痙攣により疑いがもたれ、Wolf- Hirschhorn Critical

Region (WHCR, WHSの責任領域, 4p16) の欠失を検出することにより確定診断がなされる。

典型的な顔貌の特徴

WHSを伴う個人の顔貌は年齢と共に変化し、それぞれの時期に応じて典型的なパターンを呈する[Battaglia et al 2000]。顔貌上の特徴には、“ギリシャ兵士のヘルメット様”と称される鼻の形（前頭部に連続する幅広い鼻稜）が含まれる。これは、すべての患者で出生から小児期に認められるが、思春期には目立たなくなる。他の頭蓋顔面の特徴には、小頭症、高い前頭部と突出した眉間、眼間開離、内眼角ぜい皮、高く弓状の眉毛、短い人中、下を向いた口、小顎症、耳近傍の突起を伴った耳介低形成が含まれる。

子宮内に始まり、出生後も続く成長障害は全ての患者において認められる。

種々の程度の発達遅滞／精神遅滞は、全ての患者において認められる。筋緊張低下および主として下肢に認められる筋発達不良が、すべての患者に観察される。

検査

細胞遺伝学的検査 従来の細胞遺伝学的分析（ルーチンのG分染法と高精度分染法）では、WHS患者の約60～70%において4p16を含む4番染色体短腕遠位部の欠失を検出できる。ほとんどの患者が、他の染色体構造異常を伴わない欠失（いわゆる単純な欠失）を有するが、環状4番染色体、4p-モザイク、不均衡型相互転座に由来する派生染色体といった複雑な染色体構造異常を有する場合もある。

細胞遺伝学的に観察できる欠失が親の不均衡型相互転座に由来する派生染色体に認められるかどうかは、分子細胞遺伝学的手法により確認できる可能性がある。

- ・ サブテロメア領域のFISHスクリーニングは、派生4番染色体を同定するための、おそらく最も感度、特異度ともに高い方法である。転座例の場合（転座例の大多数はサブテロメア領域に関与している）、サブテロメア領域のスクリーニングにより転座に関わるもう一方の染色体も同定できる。

- ・ SKY法（Spectral Karyotyping）またはM-FISH法を用いることにより、従来の細胞遺伝学的方法において付加部分が4pに付着していることが観察された例における付加部分の同定が可能となる。

遺伝学的検査

遺伝子。Wolf- Hirschhorn Critical Region (WHCR, WHSの責任領域, 4p16) の欠失が、Wolf- Hirschhorn 症候群において知られている唯一の原因である。

細胞遺伝学的に観察できる欠失が親の不均衡型相互転座に由来する派生染色体に認められるかどうかは、分子細胞遺伝学的手法により確認できる可能性がある。FISHによるサブテロメア領域における欠失のスクリーニングは、多分最も感度特異度ともに高い方法であろう。転座例の場合（転座例の大多数はサブテロメア領域に関与している）、サブテロメア領域のスクリーニングにより転座に関わるもう一方の染色体も同定できる。従来の細胞遺伝学的方法において付加部分が4pに付着していることが観察された例では、SKY法（Spectral Karyotyping）またはM-FISH法が付加部分の同定に使用される場合がある。

臨床における利用

診断

出生前診断

- 臨床検査

FISH (fluorescence in situ hybridization) : WHSの責任領域であるWHCRの全領域を含むプローブ (WHSCR probe, LPU 009, Cytocell Ltd) を用いたFISH法により、95%以上の患者において欠失が認められる。

- 以前用いられていたプローブはWHCRの外にあるので偽陰性の結果をもたらす可能性がある。
- サブテロメア領域のプローブキットが用いられた場合は中間部欠失を見落とす可能性がある
 - 欠失／重複解析：リンパ球細胞株から抽出されたDNAを4p16.3の端部領域に広がるBACクローンのパネルにハイブリダイズさせることにより、中間部欠失を含む大きな欠失を検出することができる。この領域におけるクローンマップの何方所かの小さなギャップは正確な切断点の位置情報の妨げになるかもしれないが、当初の目的である欠失の存在の診断には十分である。

表1 Wolf- Hirschhorn 症候群に用いられる遺伝学的検査

検査	検出される欠失	検出率	検査
染色体分析	4p16.3の欠失	~60-70%	臨床ベース
FISH ¹ / 欠失・重複解析 ²	WHCRの欠失	>95%	臨床ベース Testing

1. WHSCR probe (Catalogue Number LPU 009, Cytocell, Ltd) を使用
2. ゲノムDNAのシーケンス解析では容易には検出できない欠失／重複を検出する検査：定量PCR法，リアルタイムPCR法，multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)法，あるいはアレイCGH法など様々な方法が用いられる。

患者の検査計画

WHSを疑ったすべての患者に対して、下記の検査を行うことが妥当である。

- 大きい欠失や複雑な構造異常（環状染色体、不均衡型相互転座）を検出するための通常染色体検査
- WHCRを含む微小欠失を検出するためのFISHあるいは欠失／重複解析
もし、必要であれば、サブテロメア領域のFISHスクリーニング，あるいはアレイCGHにより，WHCRの欠失が不均衡型転座によるものかどうかを決定することができる。

遺伝的に関連した疾患

Rauchらは、部分的にWHSの症状（身長に比して低体重、WHSの顔貌上の特徴、神経心理学的異常と関連した言語発達遅滞）を示しており、WHCRに限局した de novo の小さな中間部欠失を有する患者を初めて報告した。

臨床像

以前は異なる疾患と考えられていたWHSとPitt-Rogers Danks 症候群（PRDS）は、現在では1つの症候群の臨床的スペクトラムであると認識されている。

Pitt-Rogers- Danks syndrome (PRDS) は、1984年に子宮内発育遅延、低身長、小頭症、特徴的顔貌、精神遅滞、けいれんを有する4患者（うち2人は姉妹）として報告された。12年後、Clemensらは上の姉妹および2人の未報告患者においてWHSで見られるのと同じ4p遠位部の微小欠失を見いだした。PRDSとWHSとは、責任領域のサイズおよび表現型が共通しており、同一症候群の臨床的スペクトラムではないかと考えられている。

古典的な WHS WHSにおける臨床症状の出現頻度を表2に示す。

表2 WHSにおける臨床症状の出現頻度

頻度	症状
>75%	<ol style="list-style-type: none"> 1. 特徴的顔貌（臨床診断の項を参照） 2. 子宮内発育遅延／出生後の成長障害 3. 精神遅滞 4. 筋緊張低下 5. 筋容量低下 6. けいれん／特有の脳波異常 7. 摂食障害
50 ~75%	<ol style="list-style-type: none"> 1. 皮膚の変化（血管腫；大理石様／乾燥した皮膚） 2. 骨格異常 3. 頭部顔面の非対称 4. 眼瞼下垂 5. 歯の異常 6. 抗体欠損
	<ol style="list-style-type: none"> 1. 聴力障害 2. 先天性心疾患 3. 眼／視神経異常 4. 口唇裂／口蓋裂

25 ~50%	<ul style="list-style-type: none"> 5. 性器尿路異常 6. 脳の構造異常 7. 定型化した行動（手を洗うようなしぐさ、手をたたくようなしぐさ、揺れるしぐさ）
<25%	<p>以下のような奇形</p> <ul style="list-style-type: none"> 1. 肝臓 2. 胆嚢 3. 消化管 4. 横隔膜 5. 食道 6. 肺 7. 大動脈

出生後の成長障害：WHSを持つすべての患者は、適切なエネルギーと蛋白の摂取を行っていても、著しい子宮内発育遅延、出生後の低身長、体重増加不良をきたす。

精神遅滞：WHSを持つ患者は重度の知的発達遅滞を呈し、話ができず、最低限のコミュニケーション技術しか持たないと一般的に言われているが、最近の経験では知的能力の幅がかなり大きいことが明らかになった。Battaglia とCareyによれば、知的発達遅滞の程度は軽度（8%）、中等度（25%）、重度（67%）であった。したがって、患者の三分の一は軽度から中等度の精神遅滞を有していることになる。発語は、ほとんどの患者では喉頭音（[k、g、xなど]）または2音節の音に限られるが、6%の患者では単文のレベルに達した。理解は、特別な文脈（状況）に限られているようである。コミュニケーションしたいという意欲ほとんどの患者にあるようであり、身ぶり手ぶりのレパートリーを増やすことで上手になっていく。

約10%の患者が、通常8～14歳の間に、日中の尿・便をコントロールできるようになる。2～12歳までに、25%は独立して、20%は支えを使用して歩行可能となる（あわせて45%の患者は歩行する）。約30%の患者が自分の意志で行動できるようになる：食事をする（10%は全く独力で）、着衣と脱衣をする（20%）、単純な家内の作業を行う。全ての患者において、ゆっくりであるが、着実な進歩が見られ、従来考えられてきたよりも良好な発達をとげる。

けいれんは50～100%の患者に見られる。発症は月齢3～23とさまざまであるが、月齢9～10が最も多い。けいれんのパターンは、片側性の間代性であったり、強直性であったり、二次性全般化を伴ったり伴わなかったり、最初から全身性の強直間代性であったり、とさまざまである。発熱が契機となることが多い。群発し、15分以上持続することもある。58%の患者において、けいれん重積発作が認められる。60%以上の患者で、1～5歳の間に非典型的な欠神発作に発展する。幼少期にはコントロールが困難な患者もいるが、適切な治療により長ずるにすぎたがって消失する傾向がある。けいれんは、33%の患者では2～13歳までに止まり、17%の患者では投薬がなされていない。

70%の患者において、明らかな脳波異常が認められた。

摂食障害の原因は、筋緊張低下、口唇口蓋裂およびそれに関連した吸てつの難しさ、嚥下協調運動不良に伴う誤嚥、そして胃食道逆流などである。胃食道逆流は健常児では一時的であるが、WHS患者では持続しておきており、これが体重増加不良および呼吸器疾患の原因となる。

骨格異常としては、椎体奇形に伴う脊椎後弯側弯、過剰のまたは癒合した肋骨、内反足、裂手など、患者の60～70%に認められる。

眼科的異常としては、外斜視、鼻涙管閉鎖、眼球・視神経コロボーマ、網膜中心窩低形成などが最も一般的なものである。植皮を要する眼瞼の低形成が時々認められる。緑内障は治療困難なことがある。

歯牙異常。乳歯の残存、乳歯における長髓歯（臼歯に見られる発育異常で、歯根が根尖のごく近傍で分岐しているため、髓室が異常に大きくかつ長く、根管は非常に短いというもの）、くぎ状の歯、歯の構成物の無形成などを伴った歯芽の萌出遅延が50%以上の患者にみられる。

先天性心疾患は約50%に見られ、通常は単純な異常である。最も頻度が高いのは、心房中隔欠損（27%）であり、続いて多いのは肺動脈狭窄、心室中隔欠損、動脈管開存、大動脈弁閉鎖不全、ファロー四徴症である。

抗体欠損（IgAのIgG2サブクラス欠損、単独IgA欠損、多糖類の反応異常）が69%に認められ、反復性の呼吸器感染症や中耳

炎の原因ではないかと考えられている。

造血器の異常が2例の患者で報告されている。一例は進行性で難治の血球減少症であり、もう一例は急性リンパ性白血病である。

難聴（ほとんどの場合は伝音性）が40%の患者に認められる。感音性難聴が少なくとも7例に報告されている。中耳と内耳の先天的な異常が聴力障害に関係しているようである。

さまざまな尿路奇形が25%の患者に見られる。腎無形成、のう胞性異形成／低形成、oligomeganephroma（ネフロン数の減少とネフロン構成物の過形成により特徴付けられる腎低形成）、馬蹄腎、腎の回転異常、膀胱外反、閉塞性腎症など。oligomeganephroma は慢性腎不全と関係する。これらの奇形のいくつかは膀胱尿管逆流を合併する。

尿道下裂と停留睪丸は50%の男児例にみられる。

子宮無形成、索状性腺が女児例に報告されている。

中枢神経系の構造異常は1/3の患者に認められる。その多くの例で脳梁菲薄化を伴い、さらに、少数例では、びまん性の白質減少、両側小脳半球後葉の著しい低形成／無形成を伴うこともある。他の奇形として、脳回の狭小化を伴った脳低形成、arhinencephaly（無鼻症）、アンモン角のH2領域の短縮、小脳脳回の萎縮・異形成が報告されている。

睡眠の問題は、乳幼児期に見られるが、容易に克服できる。

さまざまなその他の先天異常が少数の患者で報告されている。

遺伝型と臨床型の関連

WHSにおける臨床的多様性を説明するために、4p欠失のサイズと臨床症状の重症度との間の関連が調べられてきた。Wieczorek らと Zollono らがそれぞれ、部分的なあるいは完全な遺伝型・表現型の関連を示したが、そうした関連はないと結論付けた研究もある。Meloni らは重度の精神遅滞を持つ典型的な症状の患者でもFISHでしか検出できない微小欠失を有する場合や、逆に通常の染色体検査で確認できる大きい欠失を有するにもかかわらず軽度～中等度の精神遅滞を呈するのみで大奇形もない場合があると述べている。以上から、欠失のサイズと臨床症状との間に関連はないと推測される。

当初は微細欠失であると考えられていたが、潜在性の染色体不均衡が二箇所で見つかり、結局は大きな欠失が原因であった症例が報告され、WHSの臨床的多様性を理解するためには、欠失領域の大きさは重要な要因である可能性がある。

用語の定義

WHSと Pitt-Rogers-Danks 症候群とは、異なる疾患であると考えられていたが、現在では、一つの症候群の臨床スペクトラムであると認識されている。

頻度

従来、WHSの頻度は約1/50,000出生児（女児：男児＝2：1）とされてきた。しかし、誤診されていたり、認識されていない患者もいることから、頻度はもっと高いと推測される。

鑑別診断

近位部 4p欠失 4pの中間部欠失を有するが数人報告されている。これらの欠失は通常WHSの責任領域よりも近位の4p12-p16を含む。これはWHSとは区別しうる独立した症候群である。

WHSの表現型 WHSの臨床症状特に顔貌は特徴的であるが、以下の疾患と重複する症状があるために誤診される場合がある。

- Seckel 症候群（子宮内発育遅延、出生後の成長障害、小頭症、鳥のくちばしのようなとがった鼻）
- CHARGE連合（コロボーマ、先天性心疾患、成長障害、知的障害、性器低形成、耳介変形／難聴）は、*CDH7* の変異に関係している。
- Smith- Lemli-Opitz 症候群（SLOS）は、出生前後の成長障害、小頭症、中等度から重度の精神遅滞、多発大奇形、小奇形が特徴的である。奇形としては、特徴的な顔貌、先天性心疾患、性腺低形成（男児の場合）、軸後性多指症、II・III合趾

症、などが見られる。SLOSの原因は、7-dehydrochlesteral reductase の酵素欠損である。本症は常染色体劣性遺伝疾患で、診断は臨床的に疑われ、血中7-dehydrochlesteral濃度の上昇と7-dehydrochlesteral：コレステロール比の上昇が検出されることによりなされる。責任遺伝子である*DHCR7*の変異解析による分子遺伝学的検査が実施可能である。

- Opitz -GBB 症候群の特徴は特徴的な顔貌（両眼隔離、前頭突出、widow' s peak、幅広い鼻稜、前向き鼻孔）、喉頭・気管・食道の異常、生殖器・尿路奇形（尿道下裂、停留精巣、二分陰囊／陰囊低形成）などである。約50%の患者には精神遅滞／発達遅滞と口唇裂／口蓋裂がみられる。50%以下の患者にみられる奇形としては、先天性心疾患、鎖肛・異所性肛門、脳中央部の奇形（Dandy-Walker奇形、脳梁欠損・低形成、小脳虫部の欠損・低形成）などがある。遺伝的異質性があり、X連鎖型は*MID1*の変異が原因であり、常染色体優性遺伝型は、22q11.2に連鎖している。
- Malpuech 症候群の特徴は、成長障害、両眼隔離、広い前頭部、高い弓状の眉毛、性器尿路奇形、聴力障害などである。
- Lowry-MacLean症候群の特徴は、成長障害、精神遅滞、口蓋裂、先天性心疾患、緑内障などである。
- Williams症候群（WS）の特徴は、認知障害（通常は軽度精神遅滞）、特殊な認識様式、特異な性格特性、特徴的顔貌、心疾患（エラスチン異常による動脈異常）などである。さまざまな程度の結合組織異常が見られ、高カルシウム血症および高カルシウム尿症が見られるのも一般的である。WSはエラスチン遺伝子（*ELN*）を含むWS責任領域（7q11.23）の欠失を伴う隣接遺伝子症候群である。臨床的にWSと診断される患者のうち、99%はWS責任領域の欠失があり、この欠失はFISH法により検出可能である。この欠失は常染色体優性遺伝形式により伝達されるが、ほとんどの症例はde novo（突然変異）により発症する。
- Rett 症候群はX連鎖優性遺伝疾患である。女兒の場合は、生下時は正常であり、生後6ヶ月から18ヶ月は明らかに正常な精神運動発達をとげるが、その後、短い停滞する期間があり、その後急激に、言語および動作のスキルが退行する。この疾患の特徴は、目的をもって手を使用することができず、定型化した繰り返す手の動きにおきかわっていることである。自閉的傾向、パニック様の発作、歯ぎしり、間歇的無呼吸・多呼吸、失調歩行、行動不能症、振戦、および後天性の小頭症も見られる。この疾患は比較的安定するようになるが、女兒では長ずるにしがたがって、ジストニア（筋緊張異常）、手足の変形をきたすことが多い。Rett症候群の女兒の50%にはけいれんがみられ、全身性強直間代けいれんや部分複雑けいれんが最も一般的である。説明のできない突然死の頻度が増加している。46,XYの核型を有する男性患者は重度の新生児脳症を伴い2歳までには死亡する。診断は古典的病型において確立している臨床診断クライテリアおよび*MECP2*遺伝子の分子遺伝学的検査に基づいてなされる。*MECP2*遺伝子の検査は実施可能である。
- Angelman症候群（AS）の特徴は、重度の発達遅滞・知的障害、重度の言語障害、失調歩行、四肢の振戦、頻繁な笑い・微笑み・興奮を含む不適切に幸せそうな振る舞いなどのユニークな行動である。小頭症と痙攣は一般的である。診断は、臨床的特徴、分子遺伝学的検査および細胞遺伝学的分析の組み合わせによって行われる。ASの臨床診断基準については合意が得られつつある。15q11.2-q13領域の親特異的DNAメチル化インプリンティング解析により、78%のAS患者を検出できる。この中には、欠失、片親性ダイソミー、あるいはインプリンティング異常が含まれている。1%以下の患者は細胞遺伝学的分析により検出可能な染色体再構成（相互転座、逆位）を有している。*UBE3A* シークエンス解析により、さらに11%以下の患者が検出される。したがって、分子遺伝学的検査（メチル化分析と*UBE3A* シークエンス解析）により、約90%の患者における変化を同定することができる。ASの古典的表現型の特徴を有する約10%の患者においては、現在までのところ、遺伝学的発症機序を同定することはできず、診断のための検査法はない。
- Smith-Magenis 症候群（SMS）の特徴は、明確に区別できる特異顔貌、発達遅滞、認知障害、および行動異常である。顔貌の特徴は、幅広い四角い形の顔、短頭、前頭突出、眉毛癒合、眼瞼裂斜上、落ちくぼんだ眼球、幅広い鼻稜、明らかな顔面中央部の低形成、短く低い鼻、幼少期の小下顎（長ずるにしがたがって下顎突出の傾向となる）、肉質で外反した上口唇（テント状の外観を呈する）を伴う特徴的な口の形、などである。認知・適応能力は、通常、中等度の精神遅滞の領域に入る。行動に関する表現型としては、明らかな睡眠障害、常同症、適応障害、自傷行為などである。乳幼児期には、摂食障害、体重増加不良、筋緊張低下、昼間の睡眠時間延長（哺乳のために起こす必要がある）、全身倦怠などが特徴的である。SMSの原因は、17p11.2の中間部欠失であり、これは通常のG分染法あるいはFISH法で検出可能である。G分染法の分析精度が適切であれば（550バンドレベル以上）、一般的な17p11.2の中間部欠失を有する全ての患者を検出することができる。FISH法で欠失が除外された患者に対しては、本症の原因遺伝子である*RAI1*の分子遺伝学的検査が実施可能である。

臨床的マネジメント

最初の診断に引き続いて行われる評価

Wolf-Hirschhorn症候群と診断された患者においては、疾患の範囲を明らかにするために、次の評価を行うことが推奨される。

- 身体計測と成長チャートへの記入
- 身体所見および神経学的所見に関する診察
- 認知、言語、運動発達、および社会的スキルの評価
- 小児期（主に1～5歳の間）には、気づかれにくい非典型的欠神発作を検出するための脳波検査（覚醒時および睡眠時の video-EEG-polygraph 検査）
- 摂食の問題および胃食道逆流の評価と摂食障害チームへの紹介
- 骨格系異常（内反足、側弯症、脊柱後弯など）の有無に関する診察；異常がある場合は、整形外科への紹介および理学療法的評価（全ての生体力学的評価を含む）
- 乳幼児期には特に異常がなくても、眼科へのコンサルテーション
- 乳幼児期には心臓の評価（聴診、心電図、心エコー検査）
- 免疫不全に関する検査（特に血清免疫グロブリン値、リンパ球サブセット、多糖体反応性）；WHS患者の免疫不全についてのデータは限られているが、これらの検査を行うことは適切である。
- 耳鼻咽喉科学的な包括的評価と聴カスクリーニング（脳幹聴性反応）を適切な時期に介入ができるようにできるだけ早期に行う。
- 腎機能検査と腎エコー検査を乳児期に腎臓の構造的な異常および膀胱尿管逆流症を検出するために行う

症状に対する治療

知的障害.

運動発達、認知、コミュニケーション、社会的スキルの点に注目して、適切に評価し、個人に合ったりハビリテーションプログラムに組み入れるべきである。身ぶりの言葉の利用はコミュニケーション技術を促進し、話し言葉の出現を妨げることはない。早期からの発達訓練とその後の適切な学校選択がきわめて重要である。

けいれん。WHS患者の約95%は複数回のけいれんを経験する。最も多いきっかけは、発熱である。2/3の患者ではその後バルプロ酸が有効な非典型的欠神発作に移行するため、初めてのけいれんの後すぐに、バルプロ酸を開始するのが適切である。非典型的欠神発作はバルプロ酸とエトスクシミドによって良好にコントロールされる。

最近、てんかん重積の発症を予防するための最初の治療として臭化ナトリウムが提唱されている。

間代性、強直間代性、欠神発作、あるいはミオクローヌスのてんかん重積はベンゾジアゼピン（ジアゼパム）の経静脈的投与により良好にコントロールされる。

WHSの患者は、明らかな脳波異常を有するが、必ずしもけいれんと関係があるわけではないため、ここ5年間けいれん発作が認められない場合には抗けいれん薬を中止するのが妥当である。

摂食障害 口腔運動のスキルに注目した摂食訓練もまた必要である。筋緊張の低い乳児／子どもには（口蓋裂がない場合、また口蓋裂の外科的修復術前の場合）、特別な摂食技術あるいは器具（Haberman Feederなどのような）を利用することができる。協調的嚥下が弱い患者にはチューブ栄養が考慮される。

胃食道逆流は通常の方法によって処理されるべきである。

44%のWHS患者が胃ろう造設術を受けており、胃噴門形成術が行われることもしばしばであるという報告がある。

骨格奇形 内反足、側弯、後弯などの骨格奇形は個々に対応されるべきである。早期からの治療（理学療法および外科手術）が考慮される。

眼科的異常は標準的方法により治療される。

先天性心疾患 通常複雑なものではなく、修復術を行わなければならない。

聴力障害はヒアリングエイドを試してみる。

睡眠に関する問題 中耳炎、胃食道逆流、湿疹などの医学的問題がないのに、親から睡眠の問題が強く訴えられた場合、親の注意や関心をやわらげることが有効な介入となる。

その他。構造的異常（横隔膜、消化管、歯牙など）には通常の方法により注意が払われるべきである。