

200936249A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患研究事業

ソトス症候群のスクリーニング・
診断システムの確立に関する研究

平成21年度 総括研究報告書

研究代表者 富 田 博 秋

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

ソトス症候群のスクリーニング・
診断システムの確立に関する研究

平成21年度 総括研究報告書

研究代表者 富田 博秋

平成22（2010）年 3月

総括研究報告書（平成21年度）

目 次

I. 総括研究報告

ソトス症候群のスクリーニング・

診断システムの確立に関する研究・・・・・・・・・・1

富田 博秋

II. 分担研究報告

1. ソトス症候群の染色体・遺伝子変異・

DNAメチル化の検出に関する研究・・・・・・・・・・ 8

松本 直通

2. ソトス症候群とその診断に関する実態の

アンケート調査研究・・・・・・・・・・ 13

福與 なおみ

3. 欠失型Sotos症候群の自然歴・・・・・・・・・・ 19

黒澤 健司

3. ソトス症候群の成長曲線と合併症

の推移に関する研究・・・・・・・・・・ 23

岡本 伸彦

III. 研究成果の刊行に関する一覧・・・・・・・・・・ 32

IV. 研究成果の刊行物・別冊・・・・・・・・・・ 37

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

ソトス症候群のスクリーニング・診断システムの確立に関する研究

研究代表者：富田 博秋

東北大学大学院 医学系研究科 精神・神経生物学分野 准教授

研究協力者：田中 千晶、兪 志前、菊地 淑恵、竹澤 芳樹

（東北大学大学院 医学系研究科 精神・神経生物学分野）

研究要旨： 研究班として下記の研究計画(1)～(6)を遂行し、本邦における本症診断の効率化のための指針を提示するとともに、確定診断手法の研究開発を進めた。(1)スクリーニング法の最適化、(2)臨床評価法の最適化、(3)国内臨床研究協力体制構築のための全国の小児神経専門医研修認定病院と小児神経学会専門医・小児臨床遺伝学会会員を対象とする本症の診療状況の調査の施行、(4)染色体検査法の確立・評価としての本症疑いの末梢血リンパ球染色体標本のFISH解析とハイブリダイゼーションベースのシーケンス解析法であるNSD1リシーケンスアレーのデザイン・作成、(5)NSD1の11p15.5領域のメチル化制御変化の解析(6)NSD1変異の影響で疾患特異的に発現変化する新規分子マーカーの探索のためのソトス症候群罹患者と健常者の株化リンパ芽球のマイクロアレイ解析。このうち研究代表者は(6)の研究を重点的に行い、ソトス症候群に特異的に発現が誘導される333の遺伝子群および発現が抑制を受けている367の遺伝子群を病態解明や簡便なスクリーニング法に有用な生化学マーカーへの開発に繋がる遺伝子として特定した。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

- 1) 松本直通・横浜市立大学大学院医学研究科
環境分子医科学・教授
- 2) 福與なおみ・東北大学病院 小児科・助教
- 3) 岡本伸彦・大阪府立母子保健総合医療センター 遺伝診療科・科長
- 4) 黒澤健司・神奈川県立こども医療センター
遺伝科・医長

(4)染色体検査法の確立・評価としての本症疑いの末梢血リンパ球染色体標本のFISH解析とハイブリダイゼーションベースのシーケンス解析法であるNSD1リシーケンスアレーのデザイン・作成、(5)NSD1の11p15.5領域のメチル化制御変化の解析(6)ソトス症候群罹患者と健常者の株化リンパ芽球のマイクロアレイ解析によるNSD1変異の影響で疾患特異的に発現変化する新規分子マーカーの探索。

A. 研究目的

研究班として下記の研究計画(1)～(6)を遂行し、本邦における本症診断の効率化のための指針を提示するとともに、確定診断手法の研究開発を進めた。(1)スクリーニング法の最適化、(2)臨床評価法の最適化、(3)国内臨床研究協力体制構築のための全国の小児神経専門医研修認定病院と小児神経学会専門医・小児臨床遺伝学会会員を対象とする本症の診療状況の調査の施行、

B. 研究方法

研究計画(1)～(3)については分担研究者である福與、岡本、黒澤の研究報告に、(4)、(5)に関しては松本の研究報告に詳述されているため割愛する。(6)NSD1変異の影響で疾患特異的に発現変化する新規分子マーカーの探索のため、ソトス症候群罹患者5名と健常者6名の株化リンパ芽球を同時に解凍して経代培養を始め、総RNAを抽出してイルミナ社Human-6 V2 microarray で

包括的な遺伝子発現を比較した。この細胞培養とマイクロアレイ実験は2回行い、アーティファクト要因と生物学的変化から来る要因との検討を行った。各アレイのプローブの信号強度をBeadStudio 3.1 ソフトウェアで解析した。またDatabase for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID)を用いて発現変化の遺伝子カテゴリの検討を行った。

C. 研究結果

研究計画(1)～(3)については分担研究者である福與、岡本、黒澤の研究報告に、(4)、(5)に関しては松本の研究報告に詳述されているため割愛するが、全国調査を元に臨床診断の指針を作成した(資料1)。

(6)ソトス症候群罹患患者5名と健常者6名の株化リンパ芽球を対象にマイクロアレイ解析を行った結果、ソトス症候群に特異的に発現が誘導される333の遺伝子群および発現が抑制を受けている367の遺伝子群を特定した。これらの発現変化を受ける遺伝子が多く含まれる機能カテゴリを解析したところ、細胞間および細胞内での信号伝達、細胞の分化やアポトーシスに関する遺伝子を多く含んでいた(資料2)。また、誘導された333の遺伝子のうち、149は中枢神経にも発現する遺伝子であった。また、抑制を受ける367の遺伝子のうち103の遺伝子は中枢神経にも発現する遺伝子であった。

D. 考察

全国調査の結果からソトス症候群疑い症例のうち染色体診断・遺伝子診断ができていない症例は1/3に過ぎない実態が判明し、今後ソトス症候群のより効率のよい診断システムが開発され普及されることが望まれる。本邦の医師が本症を疑う根拠とする症状の多くはTatton-Brownら(2005)の臨床評価と一致しているものの、Tatton-Brownらが過半数にみられるとする新生

児期の黄疸、筋緊張低下、哺乳不全を回答した本邦医師は5%以下、また、Tatton-Brownらが診断で重視する便秘と伝導性聴覚障害を回答した本邦医師は1%以下ときわめて少数であった。これらの臨床症状に対する注意を喚起する診断指針を策定することでソトス症候群の診断率が向上すると考えられた。また、今後、合併症の推移を含む長期経過把握の必要性が示唆された。また、本研究から本邦のNSD1領域微細欠失の頻度が諸外国と比して高く染色体FISH検査が診断法として有効であることを示した。また、ハイブリダイゼーションベースのシーケンス解析法であるNSD1リシーケンスアレイは効率のよいNSD1変異同定の手段として期待される。

今回の研究により特定されたソトス症候群に特異的に発現が誘導される333の遺伝子群および発現が抑制を受けている367の遺伝子群は病態解明や簡便なスクリーニング法に有用な生化学マーカーへの開発に繋がる遺伝子として期待される。また、誘導された333の遺伝子のうち149の遺伝子と抑制を受けた367の遺伝子のうち103の遺伝子は中枢神経にも発現する遺伝子であり、これらの遺伝子は脳の神経細胞においてNSD1の下流で発現変化し、本症の学習障害や行動障害に関与する可能性が高い。

E. 結論

下記の研究計画(1)～(6)を遂行し、本邦における本症診断の効率化のための指針を提示するとともに、確定診断手法の研究開発を進めた。ソトス症候群に特異的に発現が誘導される333の遺伝子群および発現が抑制を受けている367の遺伝子群を病態解明や簡便なスクリーニング法に有用な生化学マーカーへの開発に繋がる遺伝子として特定した。

F. 健康危険情報

本年度は特に健康危険情報として報告すべきものはなかった。

G. 研究発表

1) 国内

口頭発表	12件
原著論文による発表	1件
それ以外（レビュー等）	6件

1. 論文発表

富田博秋、田中千秋、兪志前、小松浩、木村好、曾良一郎、Helen B. Kim, William E. Bunney.
気分安定薬奏功機序解明のための包括的遺伝子発現解析. 臨床薬理の進歩30, 52-59, 2009.

2. 総説

1. 曾良一郎、笠原好之、内海修、久保有美子、富田博秋、池田和隆：AD/HDの遺伝要因解明の現状. 分子精神医学. 9(3), 262-267, 2009. (July)
2. 富田博秋：気分障害の網羅的遺伝子発現解析. 医学のあゆみ. 229(3), 8121-8125, 2009. (April)
3. 富田博秋、田中千晶、兪志前：交絡因子に配慮した脳バンク構築の必要性. 脳と精神の医学. 20(1): 17-24, 2009.
4. 富田博秋：死後脳研究の現在と今後. 精神医学Update—最新研究動向. 医学のあゆみ 231(10), 967-973, 2009. (December)
5. 富田博秋：Bardet-Biedl症候群. 特集 肥満—最新の基礎・臨床研究— 日本臨牀 67(2), 506-510, 2010. (February)
6. 富田博秋：死後脳研究の展望と脳バンク. 特集 内因性精神疾患の死後脳研究. 精神医学 52(4), 367-376, 2010. (April)

3. 学会発表等

1. 富田博秋. 気分安定薬と抗精神病薬の奏功機序の共通点と相補性～抗躁・気分安定作用と神経保護作用を中心に～ 学術講演会 気分安定薬を考える2009, 仙台 [2009/7/21]
2. 兪志前、田中千晶、小松浩、木村好、曾良一郎、富田博秋. 気分安定薬リチウムの樹状細胞における遺伝子発現変化の包括的検討. 第29回リチウム研究会, 東京 [2009/4/18]
3. 兪志前、田中千晶、小松浩、高橋怜史、木村好、曾良一郎、富田博秋. 気分安定薬のアストロサイトにおける遺伝子発現変化の包括的検討. 第31回日本生物学的精神医学会. 京都 [2009/4/23-25]
4. 田邊陽一郎、田中千晶、兪志前、小松浩、木村好、羽藤愛、松岡洋夫、曾良一郎、富田博秋. ラモトリギン投与によるヒト脳由来細胞における包括的遺伝子発現の解析. 第19回日本臨床精神神経薬理学会・第39回日本神経精神薬理学会合同年会. 京都[2009/11/13-15]
5. 羽藤愛、兪志前、田中千晶、田邊陽一郎、小松浩、木村好、松岡洋夫、曾良一郎、富田博秋. 気分安定薬投与によるオリゴデンドロサイトの遺伝子発現変化の解析. 第19回日本臨床精神神経薬理学会・第39回日本神経精神薬理学会合同年会. 京都[2009/11/13-15]
6. 兪志前、田中千晶、田邊陽一郎、小松浩、木村好、羽藤愛、松岡洋夫、曾良一郎、富田博秋. 気分安定薬リチウムの樹状細胞における遺伝子発現変化の包括的検討. 第19回日本臨床精神神経薬理学会・第39回日本神経精神薬理学会合同年会. 京都[2009/11/13-15]
7. 田邊陽一郎、田中千晶、兪志前、小松浩、木村好、羽藤愛、松岡洋夫、曾良一郎、富田博秋. 気分安定薬バルプロ酸とラモトリギン投与時のヒト脳細胞における遺伝子発現変化の

マイクロアレイ解析による包括的検討. 第8回
Bipolar Disorder研究会. 東京[2009/11/22]

8. Yu Z, Tanaka C, Tomita H. Effect of
Lithium Treatment on Gene Expression
Profile of Human Monocyte-Dendritic Cells.
第39回日本免疫学会総会・学術集会. 大阪
[2009/12/2-4]

9. Ono C, Yu Z, Ishii N, Tomita H.
Microarray Gene Expression Profiling of
Th1/Th2 helper T Cells as a Tool for
Neuropsychimmunology. 第39回日本免疫学会
総会・学術集会. 大阪[2009/12/2-4]

10. 富田博秋、小野千晶、竹澤芳樹、福與なおみ、
植松貢、土屋 滋、岡本伸彦、黒澤健司、松本
直通. ソトス症候群のスクリーニング・診断シ
ステム開発のための研究～リンパ芽球を対象と
するNSD1遺伝子の下流遺伝子のスクリーニング
を中心に～ 第9回 東北出世前医学研究会.
仙台[2010/1/30]

11. 富田博秋、小野千晶、竹澤芳樹、兪志前、
菊地淑恵、福與なおみ、西村章、松本直通. ソ
トス症候群責任遺伝子NSD1遺伝子の下流で発現
調節を受ける遺伝子群のスクリーニング. 第17
回日本精神・行動遺伝医学会. 高槻[2010/2/11]

12. 富田博秋. こころの健康と分子研究～より有
効で副作用の少ない治療法の開発に向けて～.
市民シンポジウム「こころの健康と科学研究の
今日と未来」. 仙台[2010/1/23]

1) 国外

口頭発表 0件

原著論文による発表 0件

それ以外（レビュー等） 1件

1. 論文発表

なし

2. 総説

1. Sora I, Li B, Fumushima S, Fukui A, Arime
Y, Kasahara Y, Tomita H, Ikeda K. Monoamine
transporter as a target molecule for
psychostimulants. International Review of
Neurobiology, 85: 29-33, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含 む。）

1) 特許取得:

1. United States Patent Application
7,022,480
Akil; Huda; Bunney, JR.; William E.;
Choudary; Prabhakara V.; Evans; Simon J.;
Jones; Edward G.; Li; Jun; Lopez; Juan F.;
Thompson; Robert C.; Myers; Richard;
Tomita; Hiroaki; Vawter; Marquis P; Watson;
Stanley "FGF2-related methods for
diagnosing and treating depression" (Date
of Filing: January 15, 2009)

2. United States Patent Application
20090117565
Akil; Huda; Bunney, JR.; William E.;
Choudary; Prabhakara V.; Evans; Simon J.;
Jones; Edward G.; Li; Jun; Lopez; Juan F.;
Thompson; Robert C.; Myers; Richard;
Tomita; Hiroaki; Vawter; Marquis P; Watson;
Stanley "Compositions and methods for
diagnosis and treating mood
disorders" (Date of Filing: May 7, 2009)

2) 実用新案登録: なし

3) その他: なし

資料

資料 1

ソトス症候群の臨床評価・診断指針（案）

ソトス症候群は特徴的な顔貌、学習障害、過成長の中核となる 3 徴の他、行動障害、先天性の心奇形、新生児黄疸、腎奇形、脊柱側彎、てんかん発作など多様な症状を来す。Tatton-Brown らの 266 例のソトス症候群罹患者に認められた臨床症状(Am. J. Hum. Genet. 77:193-204, 2005)は下記の通りで、現時点ではこれらの症状をもとに臨床診断を行うのが適切と考えられる。また、ソトス症候群の成因として本邦では本症の責任遺伝子 NSD1 (nuclear receptor binding SET domain protein 1) 領域微細欠失の頻度が諸外国と比べて高く、NSD1 領域のプローブを用いた FISH (fluorescence in situ hybridization)による染色体診断が有効と考えられる。

中核の 3 徴（90%以上の本症罹患者に認められる症状）

- ・特徴的顔貌
- ・学習障害
- ・過成長（身長または頭囲が 98 パーセントイル以上）

主要な症状（15%以上の本症罹患者に認められる症状）

- ・骨年齢促進
- ・先天性心疾患
- ・頭部 CT/MRI 異常

- ・ 関節過伸展 ・ 母体の子癇前症 ・ 新生児期筋緊張低下
- ・ 新生児期黄疸 ・ 新生児期哺乳不全 ・ 脊柱側湾
- ・ 腎奇形（水腎症・膀胱尿管逆流症など） ・ けいれん

その他の症状

- ・ 問題行動（多動・自傷行為・自閉症・睡眠障害）
- ・ 眼科的異常(乱視・遠視・近視・斜視・白内障・眼振)
- ・ 伝導性聴覚障害
- ・ 頭蓋骨早期癒合 ・ 泌尿生殖系奇形 ・ 臍帯ヘルニア
- ・ 胃食道逆流 ・ 便秘
- ・ 扁平足・内反足・合指症・漏斗胸・片側肥大・歯数不足
- ・ 腫瘍・血管種・水瘤・コレステリン腫
- ・ 皮膚色素沈着異常
- ・ 高カルシウム血症 ・ 甲状腺機能低下症
- ・ 新生児期低血糖症 ・ 発育不全

この中でも新生児期の黄疸、筋緊張低下、哺乳不全や、小児期の便秘、伝導性聴覚障害はソトス症候群に比較的頻度が高く、診断の参考になるが、日常臨床で見逃されがちとなっていることが示唆され、注意深く観察することが有効と考えられる。

資料 2

ソトス症候群罹患者群のリンパ芽球で顕著に
発現が誘導・抑制されていた遺伝子のカテゴリ

遺伝子カテゴリ名	Fold Enrichmen	P 値	Benjamini
細胞間情報交換	1.48	<0.0001	0.000
シグナル伝達	1.43	<0.0001	0.009
細胞内信号伝達	1.77	<0.0001	0.010
細胞分化	1.60	<0.0001	0.038
細胞の発生過程	1.60	<0.0001	0.038
アポトーシス制御	2.18	<0.0001	0.099

II. 分担研究報告

ソトス症候群の染色体・遺伝子変異・DNAメチル化の検出に関する研究

研究分担者： 横浜市立大学大学院医学研究科 環境分子医科学
松本 直通

研究要旨： 本邦ソトス症候群の染色体異常、遺伝子変異特定、DNAメチル化異常を特定するために下記の3つの研究を行った。（1）症例におけるNSD1プローブを用いたFISH解析の有用性；全国より解析依頼のあった308例のソトス症候群症例の末梢血リンパ球を用いて染色体作成を行い責任遺伝子NSD1を含むプローブを用いたFISH解析を行い、87例にNSD1欠失を同定することが可能であった（陽性率28.2%）。この結果から、本邦においてはNSD1領域を含んだ5q35微細欠失の頻度が諸外国と比して極めて高く、診断法として極めて有効であることが示された。また欠失が高頻度であることはソトス症候群がゲノム病であること支持する。（2）NSD1リシーケンスアレーの開発と検討；Affymetrix社のプラットフォームを用いたハイブリダイゼーションベースのシーケンス解析法であるNSD1リシーケンスアレーをデザイン・作成した。現在その有用性について検討を行っている。（3）NSD1異常とエピゲノム異常の関連性の検討；NSD1異常が確認されたソトス症候群25例と正常対照37例を用いて11p15.5の2つのゲノム刷り込み領域H19-DMR、KvDMR1の異常を有無を検討した。その結果SoS患者25例と正常検体37例の間に有意な差はなく、KvDMR1、H19-DMRのメチル化パターンは正常であることが明らかになった。よって、SoS患者の過成長に、11p15.5インプリメンティングドメインのメチル化変異が関与している可能性は低いと考えられた。

A. 研究目的

下記の3つのアプローチで本邦ソトス症候群の染色体異常、遺伝子変異特定、DNAメチル化異常を特定することを目的として研究を行った。

（1）全国より解析依頼のあったソトス症候群症例の末梢血リンパ球を用いて染色体作成を行い責任遺伝子NSD1を含むプローブを用いたFISH解析を行い、NSD1欠失の検討を行う。（2）ソトス症候群におけるNSD1変異を効率よく検出するためにハイブリダイゼーションベースのシーケンス解析法であるNSD1リシーケンスアレーをデザイン・作成する。（3）NSD1異常が確認されたソトス症候群と正常対照例を用いて11p15.5の2つのゲノム刷り込み領域H19-DMR、KvDMR1の異常を有無を検討する。

B. 研究方法

（1）本邦ソトス症候群症例におけるNSD1プローブを用いたFISH解析の有用性

全国より解析依頼のあった308例のソトス症候群症例の末梢血リンパ球を用いて染色体作成を行い責任遺伝子NSD1を含むプローブを用いたFISH解析を行って5q35微細欠失の頻度を検討し、諸外国における5q35微細欠失の頻度と比較した。

（2）NSD1リシーケンスアレーの開発と検討

Affymetrix社のプラットフォームを用いたハイブリダイゼーションベースのシーケンス解析法であるNSD1リシーケンスアレーをデザイン・作成した。

（3）NSD1異常とエピゲノム異常の関連性の検討

下記3つの理由からソトス症候群とエピゲノム異常との関連が示唆される。①マウスNsd1は、エピゲノム調節にヒストン蛋白のメチルトランスフェ

ラーゼ活性 (H3-K36及びH4-K20) を有しエピゲノム調節に関与しているはずである;②Beckwith-Wiedemann症候群 (BWS) とSoSは共に成長障害を呈し臨床的に重複する場合があります、SoSと診断された症例で11p15.5領域のゲノムメチル化異常が、BWSと診断された症例でNSD1異常が同定され、臨床的に区別が難しい場合がある;③11p15.5領域のゲノム刷り込み異常は、過成長を伴うBWSと成長遅延を示すSRSの両方に関与し、同領域のエピゲノム異常が成長障害と関連する等が挙げられる。

以上からNSD1異常が確認されたソトス症候群25例と正常対照37例を用いて11p15.5の2つのゲノム刷り込み領域H19-DMR、KvDMR1の異常を有無を検討した。それぞれのゲノムDNAをBisulfite処理することにより、非メチル化シトシンをウラシルに変換した。Bisulfite処理により生じるメチル化依存的な塩基配列の違いを利用し、制限酵素を用いてアレル別に定量をするCOBRA (Combined Bisulfite Restriction Analysis) 法、Cloning・Sequence法でアレル別メチル化状態を観察し、正常対照ゲノムのそれとの差を比較検討した。

C. 研究結果

(1) 本邦ソトス症候群症例におけるNSD1プローブを用いたFISH解析の有用性

全国より解析依頼のあった308例のソトス症候群症例の末梢血リンパ球を用いて染色体作成を行い責任遺伝子NSD1を含むプローブを用いたFISH解析を行い、87例にNSD1欠失を同定することが可能であった (陽性率28.2%)。

(2) NSD1リシーケンスアレーの開発と検討

Affymetrix社のプラットフォームを用いたハイブリダイゼーションベースのシーケンス解析法であるNSD1リシーケンスアレーをデザイン・作成した。

(3) NSD1異常とエピゲノム異常の関連性の検討

NSD1異常が確認されたソトス症候群25例と正常

対照37例を用いて11p15.5の2つのゲノム刷り込み領域H19-DMR、KvDMR1の異常を有無を検討した。その結果SoS患者25例と正常検体37例の間に有意な差はなく、KvDMR1、H19-DMRのメチル化パターンは正常であることが明らかになった。

D. 考察

(1) 本邦ソトス症候群症例におけるNSD1プローブを用いたFISH解析の有用性

308例のソトス症候群症例のうち87例にNSD1欠失を同定することが可能であった (陽性率28.2%) という本研究の結果から、本邦においてはNSD1領域を含んだ5q35微細欠失の頻度が諸外国と比して極めて高く、診断法として極めて有効であることが示された。また欠失が高頻度であることはソトス症候群がゲノム病であること支持した。

2. NSD1リシーケンスアレーの開発と検討

Affymetrix社のプラットフォームを用いたハイブリダイゼーションベースのシーケンス解析法であるNSD1リシーケンスアレーをデザイン・作成した。今後、本システムの遺伝子変異の検出感度、特異性、診断における有効性をソトス症候群の検体を用いて検討を行う必要がある。更に、数多くの症例に本システムを用いることにより、本邦ソトス症候群のNSD1の位置別の変異の頻度と臨床症状との相関などが明らかになると期待される。

3. NSD1異常とエピゲノム異常の関連性の検討

NSD1異常が確認されたソトス症候群25例と正常対照37例を用いて11p15.5の2つのゲノム刷り込み領域H19-DMR、KvDMR1の異常を有無を検討した結果、SoS患者25例と正常検体37例の間に有意な差はなく、KvDMR1、H19-DMRのメチル化パターンは正常であることが明らかになったことから、SoS患者の過成長に、11p15.5インプリメンティングドメインのメチル化変異が関与している可能性は低いと考えられた。

E. 結論

(1) 本邦ソトス症候群症例におけるNSD1プローブを用いたFISH解析の有用性

308例のソトス症候群症例の末梢血リンパ球を用いて染色体作成を行い責任遺伝子NSD1を含むプローブを用いたFISH解析を行い、87例にNSD1欠失を同定することが可能であった（陽性率28.2%）。本邦においてはNSD1領域を含んだ5q35微細欠失の頻度が諸外国と比して極めて高く、診断法として極めて有効であることが示された。

(2) NSD1リシーケンスアレーの開発と検討

Affymetrix社のプラットフォームを用いたハイブリダイゼーションベースのシーケンス解析法であるNSD1リシーケンスアレーをデザイン・作成した。次年度以降、その有用性について検討を行う。本システムが効率の良い遺伝子変異検出に繋がることが期待される。

3. NSD1異常とエピゲノム異常の関連性の検討

NSD1異常が確認されたソトス症候群25例と正常対照37例を用いて11p15.5の2つのゲノム刷り込み領域H19-DMR、KvDMR1の異常を有無を検討した結果、両群間に有意な差はなく、KvDMR1, H19-DMRのメチル化パターンは正常であることが明らかになったことから、SoS患者の過成長に、11p15.5 インプリメンティングドメインのメチル化変異が関与している可能性は低いと考えられた。

F. 健康危険情報

本年度は特に健康危険情報として報告すべきものはなかった。

G. 研究発表

1) 国内

口頭発表	11件
原著論文による発表	0件
それ以外（レビュー等）	0件

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1. 日本医学哲学・倫理学会総合部会例会（第175回）（1月10日、東京・上智大学）松本直通・ヒトゲノム解析研究に携わって（招待講演）
2. 横浜市立大学先端医科学研究センター市民講座（2月7日横浜・みなとみらいエクステンションセンター）松本直通・遺伝子の傷で起こる病気（講師）
3. 北海道先進医療研究会（平成21年2月10日旭川医大）松本直通 疾患ゲノムをどう攻めるか（招待講演）
4. 第56回広島てんかん懇話会（2月28日広島・ホテルチューリッヒ東方2001）松本直通「年齢依存性てんかん性脳症の最近の知見」（特別講演）
5. 平成20年度厚生労働省科学研究費補助金ヒトゲノムテラーメード研究推進事業研究成果発表会・ヒトゲノムテラーメード研究の成果と今後（3月5日・東京 砂防会館別館）松本直通「アレー戦略によるヒト疾患遺伝子の単離研究」
6. 第44回遺伝医学研究会（東京女子医科大学）（6月5日・東京女子医科大学・早稲田大学連携生命科学研究教育施設）松本直通「年齢依存性てんかんの最近の話題」（招聘講演）
7. 第44回日本小児腎臓病学会学術集会（6月26日・一橋記念講堂・東京）松本直通「疾患ゲノム解析の新戦略」（特別講演）
8. 第26回グライコノミクス研究会（7月30日・北海道大学先端生命科学研究院）松本直通「疾患ゲノム解析の新戦略」招聘講演
9. 理研・医科研・先端研合同開催2009遺伝医学夏期集中セミナー（8月28日・東京大学医科学研究所）松本直通「メンデル遺伝病のアプローチ

チ」講師

10. 第51回日本小児神経学会関東地方会（9月19日横浜市開港記念会館） 松本直通

「年齢依存性てんかん性脳症の最近の話題」（特別講演）

11. 先端医科学研究に関する倫理的・法的・社会的課題についての調査研究（ゲノム・遺伝子研究の実施に関わる諸問題についての調査研究）の研究会（10月4日上智大学）松本直通「疾病の遺伝学研究」（講師）

2. 海外

口頭発表 2件

原著論文による発表 8件

それ以外（レビュー等） 1件

1. 論文発表

（原著論文）

1. Saitsu H, Tohyama J, Kumada T, Hamada K, Okada I, Mizuguchi T, Osaka H, Miyata R, Egawa K, Furukawa T, Haginoya K, Goto T, Yamagata T, Saitoh S, Nagai T, Nishiyama K, Nishimura A, Miyake N, Komada M, Hayashi K, Hirai S, Kato M, Ogata K, Fukuda A, Matsumoto N. *De novo* E1EE2 mutations impairing axon initial segments cause early onset West syndrome. *Nat Genet* (in revision).
2. Hamanoue H, Rahayuningsih SE, Hirahara Y, Itoh J, Yokoyama U, Mizuguchi T, Saitsu H, Hirahara F, Matsumoto N. Gene screening of 104 patients with congenital heart disease revealed a fresh *GATA4* mutation in atrial septal defect. *Cardiol Young* 19: 482-485, 2009.
3. Shihara T, Maruyama K-i, Yamada Y, Nishimura A, Matsumoto N, Kato M, Sakazume S. A case of Baraitser-Winter syndrome with unusual brain MRI findings of pachygyria, subcortical band heterotopia and periventricular heterotopias. *Brain Dev* (in press).
4. Kasuga K, Shimohata T, Nishimura A, Shiga A, Mizuguchi T, Tokunaga J, Ohno T, Miyashita A, Kuwano R, Matsumoto N, Onodera O, Nishizawa M, Ikeuchi T. Identification of Independent *APP* Locus Duplication in Japanese Patients with Early-Onset Alzheimer's Disease.

J Neurol Neurosurg Psychiatry 80(9): 1050-1052, 2009.

5. Yoshida K, Shimizu Y, Morita H, Okano T, Saka i H, Ohata T, Matsumoto N, Katsuya Nakamura K, Tazawa K-i, Ohara S, Tabata K, Inoue A, Sato S, Shimojima Y, Hattori T, Ushiyama M, Ikeda S-i. Severity and progression rate of cerebellar ataxia in 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia (16q-ADCA) in the endemic Nagano area of Japan. *Cerebellum* 8:46-51, 2009.
6. Hamanoue H, Megarbane A, Tohma T, Nishimura A, Mizuguchi T, Saitsu H, Sakai H, Miura S, Toda T, Miyake N, Niikawa N, Yoshiura K, Fumiki H, Matsumoto N. A locus for Ophthalmocromelic syndrome mapped to 10p11.23. *Am J Med Genet* 149A(3): 336-342, 2009.
7. Kuniba H, Yoshiura KI, Kondoh T, Ohashi H, Kurosawa K, Tonoki H, Nagai T, Okamoto N, Kato M, Fukushima Y, Kaname T, Naritomi K, Matsumoto T, Moriuchi H, Kishino T, Kinoshita A, Miyake N, Matsumoto N, Niikawa N. Molecular karyotyping in 17 patients and mutation screening in 41 patients with Kabuki syndrome. *J Hum Genet* 54(5): 304-309, 2009.
8. Saitsu H, Kurosawa K, Kawara H, Eguchi M, Mizuguchi T, Harada N, Kaname T, Kano H, Miyake N, Toda T, Matsumoto N. Characterization of the complex 7q21.3 rearrangement in a patient with bilateral split foot malformation and hearing loss. *Am J Med Genet* 149A(6):1224-1230, 2009.

（レビュー）

1. Matsumoto N. Gene analysis of Marfan syndrome. *Proceedings of VIII annual international symposium on advances in understanding aortic diseases*. 23-27, 2009

2. 学会発表

1. Asin Cytogenetics Community Workshop (by Affymetrix Inc.) Naomichi Matsumoto. Evaluation of Affymetrix® Cytogenetics Whole-Genome Array Using Clinical Sample. (Oct 24, 2009 at Honolulu, Hawaii, HI) (invited lecture)
2. The international symposium in the 9th Annual Meeting of the East Asian Union of Human Genetic

Society (Nov 19, 2009, Soel, Korea) Naomichi Matsumoto: STXBP1 mutations in severe infantile epilepsies with suppression-burst pattern (oral presentation).

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1) 特許取得：特願2009-219304・松本直通／三宅紀子・エーラス・ダンロス症候群患者又は保

因者の検出方法・横浜市立大学・平成21年9月24日

特願2009-146055・松本直通／才津浩智・大脳白質異常を伴う点頭てんかんの検出方法・横浜市立大学・平成21年6月19日

2) 実用新案登録：なし

3) その他：なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

ソトス症候群とその診断に関する実態のアンケート調査研究

研究分担者： 東北大学病院 小児科
福與 なおみ
研究協力者： 東北大学病院 小児科
植松 貢、土屋 滋
東北大学 大学院医学研究科 精神・神経生物学
富田博秋
大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科
岡本伸彦
神奈川県立こども医療センター遺伝科
黒澤健司
横浜市立大学遺伝学
松本直通

研究要旨： (1)全国のソトス症候群患者数の推計と、(2)ソトス症候群の診断における実態を把握することを目的とし、全国規模のアンケート調査を施行した。全国の小児神経専門医研修認定病院である373施設に対して、疑い例も含めて過去5年間に対象施設で診療したソトス症候群の有無とその症例数を調査したところ、166施設（45%）からの回答が得られた。過去5年間に診療したソトス症候群（疑い例も含めて）は163例であった。そのうちFISH検査で診断が確定しているものが49例、FISH検査陰性でNSD1遺伝子変異検査で診断確定しているものが5例と確定診断に至っているものは約1/3に過ぎなかった。全国の小児神経学会専門医と小児臨床遺伝学会会員1073人を対象にしたソトス症候群の診断の根拠となった症状に関するアンケートに対しては、回答数は574人で、回答率は53%であった。今回の調査でのソトス症候群を疑う10大症状は、概ね欧米の先行研究と一致していた。一方、欧米の先行研究で観察された結果と比較して、便秘、伝導性聴覚障害などは今回の調査での回答の頻度が低い結果となった。今後、ソトス症候群罹患者の詳細な臨床症状を二次調査することで、人種や欠失頻度による症状の相違点が明らかになることが期待される。

A. 研究目的

本研究は(1)全国のソトス症候群患者数の推計と、(2)ソトス症候群の診断における実態を把握することを目的とし、全国規模のアンケート調査を施行したものである。

B. 研究方法

(1) 全国のソトス症候群患者数の推計

対象は、全国の小児神経専門医研修認定病院である373施設である。ソトス症候群の症状の特徴から、小児神経専門医を受診する機会が多いと推測し、対象として設定した。

平成21年11月から平成22年1月にアンケート調査を郵送にて発送し、記名式で郵送回収した。

調査内容は、過去5年間に疑い例も含めて過去5年間に対象施設で診療したソトス症候群の有無とその症例数である。さらに、診療したソトス症候群（疑い例も含めて）の診断状況について調査した。診断状況として、(1)臨床的にソトス症候群を疑うも遺伝子検索を施行していない、(2)FISH検査で診断が確定、(3)FISH検査陰性でNSD1遺伝子検査未施行、(4)FISH検査陰性でNSD1遺伝子変異検査で診断確定、(5)FISH検査もNSD1遺伝子検査も陰性、のいずれかを選択してもらった。

(2) ソトス症候群の診断における実態

対象は、全国の小児神経学会専門医と小児臨床遺伝学会会員1073人である。平成21年11月から平成22年1月にアンケート調査を郵送にて発送し、無記名式で郵送回収した。

調査内容は、ソトス症候群を疑った経験の有無と、ソトス症候群を疑う根拠となる症状(表1)である。ソトス症候群を疑う根拠となる症状(表1)は、Tatton-Brown K et al. Am Hum Genet 2005を参考とし、調査用紙に列記し、複数回答可能として選択方式とした。

C. 研究結果

(1) 全国のソトス症候群患者数の推計

平成22年1月26日現在、回答数は166施設で、回答数は45%であった。過去5年間に診療したソトス症候群(疑い例も含めて)は163例であった。ソトス症候群(疑い例も含めて)163例における診断状況は以下の通りである。

- (1) 臨床的にソトス症候群を疑うも遺伝子検索を施行していない72例
- (2) FISH検査で診断が確定49例
- (3) FISH検査陰性でNSD1遺伝子検査未施行26例
- (4) FISH検査陰性でNSD1遺伝子変異検査で診断確定5例
- (5) FISH検査もNSD1遺伝子検査も陰性4例、未記入7例

(2) ソトス症候群の診断における実態

平成22年1月26日現在、回答数は574人で、回答数は53%であった。ソトス症候群をこれまでに疑った事のある医師は427人、疑った事のない医師は147人であった。

ソトス症候群をこれまでに疑った事のある医師の中で、その根拠となる症状を表2に示す。

ソトス症候群を疑う10大症状は、以下の通りであった。

1. 頭囲拡大(89%)

2. 特徴的な顔貌(89%)
3. 精神運動発達遅滞(82%)
4. 高身長(63%)
5. 胎生期の過成長(39%)
6. 骨年齢促進(28%)
7. てんかん(19%)
8. 問題行動(15%)
9. 頭部画像異常(10%)
10. 先天性心疾患(7%)

D. 考察

(1) 全国のソトス症候群患者数の推計

これまでにいわれているソトス症候群の頻度は、出生1~2万人に1人である。平成20年10月1日現在、日本における0~14歳の人口は1717万6千人(総務省統計局ホームページ)であることから換算すると、425人~858人のソトス症候群の患者がいることになる。

今回の調査では、全国規模のソトス症候群の有病数の推計は、163人と少ない人数であった。

この理由として、二つ考えられる。

一つは、回答数が少ないこと、また対象とする施設が適切でなかった可能性があることなどの、患者収集方法における問題点である。

もう一つは、診断基準が確立されていないために、ソトス症候群が見落とされている可能性も考えられる点である。

前者の問題点に関しては、今後回収率を高めるために再依頼をすること、また小児神経専門医研修認定病院のみならず、地域の中核病院や大学やこども病院附属の遺伝科に調査を依頼することで解決できると考えている。

また、ソトス症候群または同症が疑われる症例163例のうち、FISH検査で診断が確定しているものが49例、FISH検査陰性でNSD1遺伝子変異検査で診断確定しているものが5例と確定診断に至っているものは約1/3に過ぎなかった。今後、本症の診断システムが改善され普及する必要性