

図4. 既知の染色体異常症：症例6のゲノムアレイ解析結果（上）とmetaphase FISH解析結果（下）. 異常2番染色体は、2q35-q36.3の断片が逆位重複しさらにその遠位の端部の欠失を伴った複雑構造異常であった



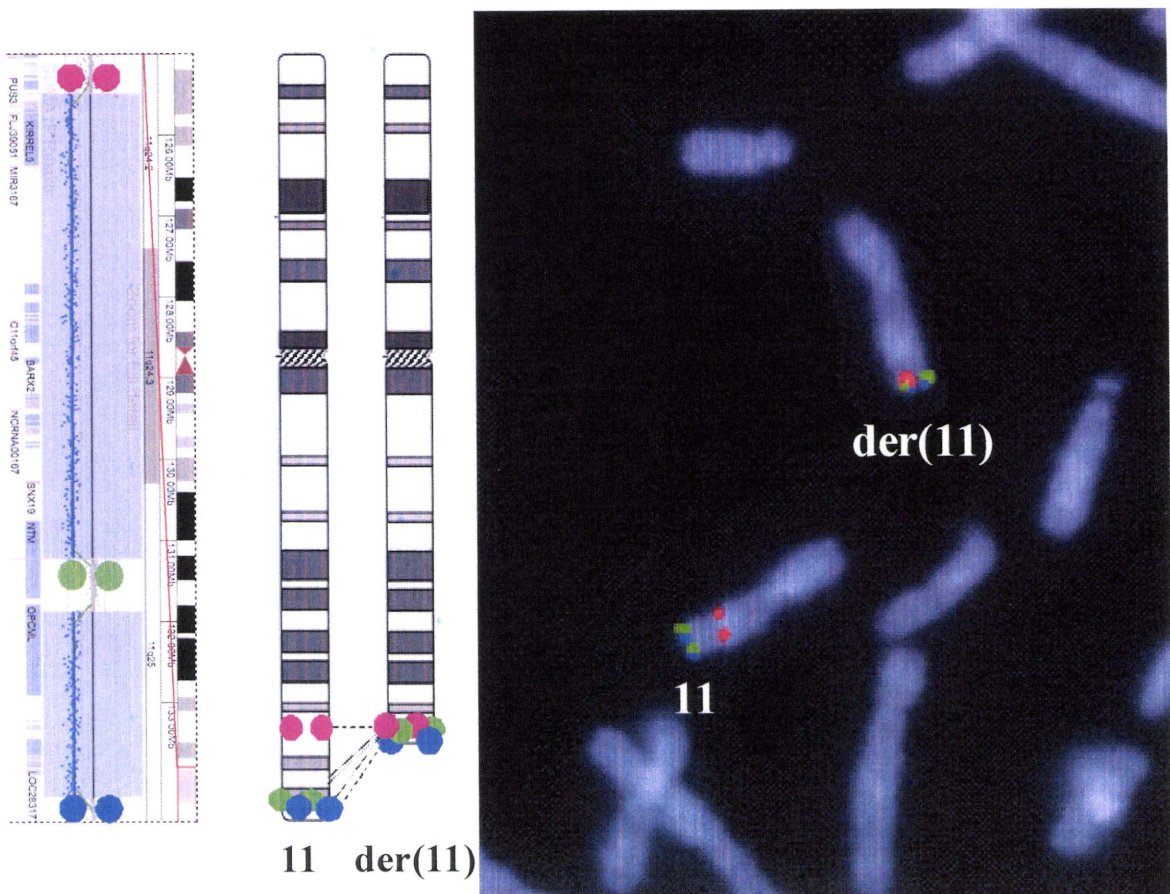
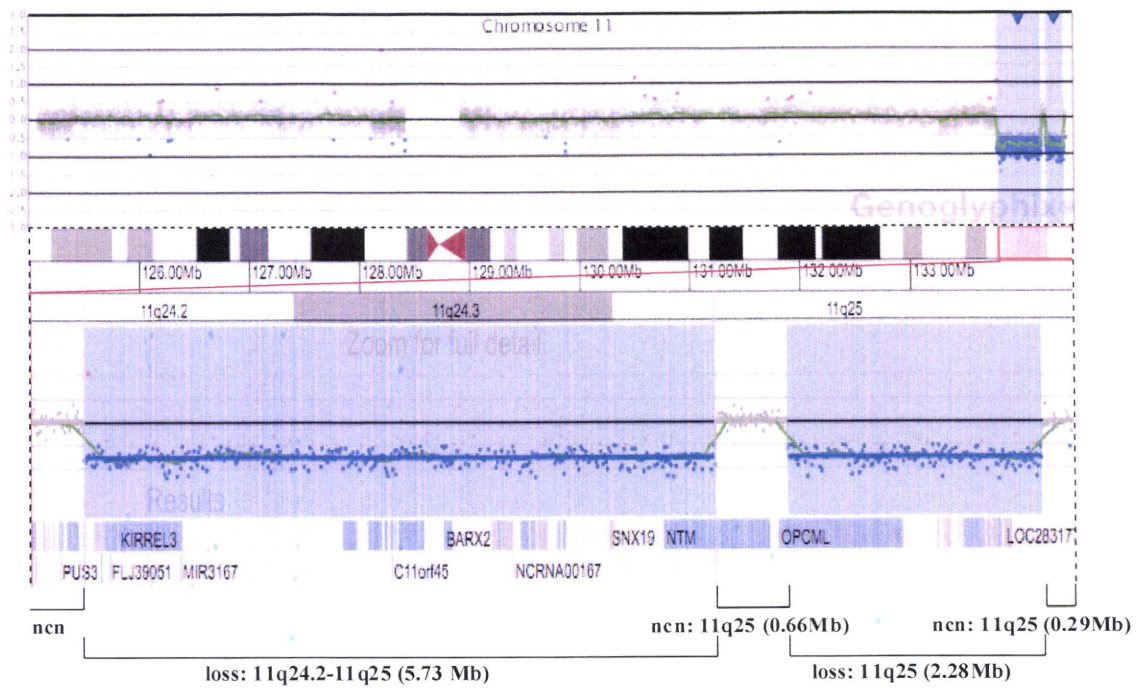


図5. 既知の染色体異常症: 症例11のゲノムアレイ解析結果(上)とmetaphase FISH解析結果(下). 異常11番染色体は, 11q24.2~q25と11q25の2つの断片の中間部欠失による複雑構造異常であった.

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

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  
研究分担者 鳴海洋子 信州大学医学部助教

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し、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）を継続して掲載した。

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20例, その他が129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28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101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に継続して掲載した。

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 A 2010;152A:1333-46
- 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.
- Sekijima Y, Ohashi T, Ohira S, Kosho T, Fukushima Y: Successful pregnancy and lactation outcome in a patient with Gaucher disease receiving enzyme replacement therapy, and the subsequent distribution and excretion of imiglucerase in human breast milk. *Clinical Therapeutics* 31:2048-2052, 2010
- Narumi Y, Kosho T, Tsuruta G, Shiohara M, Shimazaki E, Mori T, Shimizu A, Igawa Y, Nishizawa S Takagi K, Kawamura R, Wakui K, Fukushima Y: Genital abnormalities I Pallister-Hall syndrome: Report of two patients and review of the literature. *Am J Med Genet* 152A:3143-3147, 2010
- Miyake N, Kosho T, Mizumoto S, Furuichi T, Hatamochi A, Nagashima Y, Arai E, Takahashi K, Kawamura R, Wakui K, Takahashi J, Kato H, Yasui H, Ishida T, Ohashi H, Nishimura G, Shiina M, Saitsu H, Tsurusaki Y, Doi H, Fukushima Y, Ikegawa S, Yamada S, Sugahara K, Matsumoto N: Loss-of-function mutations of CHST14 in a new type of Ehlers-Danlos syndrome. *Hum Mutat.* 2010: 31:966-74.
- Nishimura-Tadaki A, Wada T, Bano G, Gough K, Warner J, Kosho T, Ando N, Hamanoue H, Sakakibara H, Nishimura G, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Wakui K, Saitsu H, Fukushima Y, Hirahara F, Matsumoto N. Breakpoint determination of X;autosome balanced translocations in four patients with premature ovarian failure. *J Hum Genet.* 2011 Feb;56(2):156-60.
- Hayashi S, Imoto I, Aizu Y, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Okamoto N, Honda S, Araki S, Mizutani S, Numabe H, Saitoh S, Kosho T, Fukushima Y, Mitsubuchi H, Endo F, Chinen Y, Kosaki R, Okuyama T, Ohki H, Yoshihashi H, Ono M, Takada F, Ono H, Yagi M, Matsumoto H, Makita Y, Hata A, Inazawa J. Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies. *J Hum Genet.* 2011 Feb;56(2):110-24.
- Shimaoka Y, Kosho T, Wataya-Kaneda M, Funakoshi M, Suzuki T, Hayashi S, Mitsuhashi Y, Isei T, Aoki Y, Yamazaki K, Ono M, Makino K, Tanaka T, Kunii E, Hatamochi A. Clinical and genetic features of 20 Japanese patients with vascular-type Ehlers-Danlos syndrome. *Br J Dermatol.* 2010 Oct;163(4):704-10.
- Goto Y, Uhara H, Murata H, Koga H, Kosho T, Yamazaki M, Takata M, Okuyama R. Leg ulcers associated with positive lupus anticoagulant in two cases of Klinefelter's syndrome. *Acta Derm Venereol.* 2011 Jan;91(1):90-1.
- 古庄知己, 渡邊淳, 森崎裕子, 福嶋義光, 簀持淳. 難治性疾患克服研究事業による血管型エーラスダンロス症候群の実態調査. *日本遺伝カウンセリング学会誌* 第31巻3号:157-161, 2010. 12月
- 古庄知己. 奇形・染色体異常の遺伝カウンセリング. *小児科診療* 2010年増刊号 小児の治療指針. 906-909, 2010(4月30日).
- 古庄知己. 先天異常児の発達支援. 特集「周産期医療がめざすディベロプメンタルケア—胎児期からはじめる発達支援」*周産期医学* 第40巻第5号: 615-618, 2010(5月10日)
- 古庄知己. 遺伝子診療部の活動と最近のトピック「信大病院の窓」*松本市医師会会報* 第509号 8-12, 2010(10月号)
- 古庄知己. 脱臼, 皮膚裂傷を繰り返す30歳女性. 視診・触診でわかる内科疾患の診かた—診断力がアップする厳選症例100問 *金原出版* 69-70, 2010(12月20日)
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
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）  
分担研究報告書

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

－ ウォルフヒルシュホーン症候群における欠失領域と臨床症状との相関の検討 －

研究分担者 大橋博文 埼玉県立小児医療センター遺伝科

研究要旨

先天奇形症候群における遺伝子型と臨床症状の相関関係を明らかにするため、ウォルフヒルシュホーン症候群（Wolf-Hirschhorn syndrome: WHS）をもつ患者5名にマイクロアレイ法を用いたゲノムコピー数解析を行い、臨床症状との関連を検討した。最も注意すべき合併症であるけいれんにおいては、欠失範囲が比較的小さい2.9Mbと5.5Mbの2症例については、発症年齢が遅く重積経験もなかったが、7Mbを超える欠失範囲の大きい3症例については発症年齢が早く重積歴もあり、特に乳幼児期のけいれんの重症度に差を認めた。他の身体合併症、運動発達においても、欠失範囲の大きさと重症度に大まかな関連を認めた。WHSにおける欠失領域を詳細に同定することにより、けいれんの管理や発達ケアにおける重症度の予測ができ、見通しをもった健康管理や治療が可能となりうる。今後さらに症例数を増やしてこれらの相関を詳細に検討していく。

研究協力者

清水健司（埼玉県立小児医療センター遺伝科）

A. 研究目的

近年染色体検査を補完する技術として登場したマイクロアレイ法により、従来の染色体検査では検出不可能な微細なコピー数異常領域を持つ症例の診断が可能になり、かつ健康管理や治療に対しても有用な知見が得られることも多くなってきた。ウォルフヒルシュホーン症候群（以下 WHS）は4番染色体短腕の部分欠失をもち、重度精神遅滞、成長障害、てんかん、多発奇形を主徴とする染色体異常症候群であるが、同様に詳細な欠失領域の解析と臨床症状の分析により病型分類や健康管理指針において有益な情報が得られる可能性がある。特に乳幼児期のけいれんは WHS において最も重要な健康管理のテーマの1つであるが、その重症度と欠失領域との相関はまだ十分に解明されていない。今回欠失範囲と臨床症状、特にけいれんの重症度との関連を中心に、現在まで解析しえた5例についてまとめた。

B. 研究方法

1) マイクロアレイ解析

G分染法にて4番染色体短腕における部分欠失を認め臨床所見からも WHS と考えられた3歳-16歳の4例については、欠失領域の詳細な同定と他のコピー数異常の評価を目的に、NimbleGen CGH array 135K (Roche)を用いたオリゴアレイ解析を行った。G分染で正常核型であった1例(13歳)においては、Human

オリゴアレイ解析を施行した。いずれもG分染法では検出できない解像度(数kb~数十kb)をもつ高密度アレイであり、既知の遺伝子領域を含む詳細なコピー数異常の評価が可能であった。

2) 臨床所見の評価

過去の WHS における報告から、頻度が比較的高く特徴的な臨床所見を抽出、分類し、臨床的、遺伝学的に診断しえた WHS 5 症例につき臨床記録から後方視的に検討した。

a) 顔貌所見

WHS の特徴的な顔貌所見である、ギリシャ戦士の兜様の鼻梁から前額部にかけての突出の有無や、小頭、眼間開離、弓状の眉毛、短い人中、口角の下がった口、小顎、耳介低形成などの所見の有無を評価した。

b) 身体発育と発達

WHS において必発する子宮内発育遅滞 (IUGR) と生後の成長障害につき評価した。また発達遅滞の程度については粗大運動発達や心理テストの結果をもとに判断した。

c) けいれんと他の身体合併症

けいれんにおいては、発症年齢、重積した既往の有無、投薬内容、その後の経過（消失した例では最後の発作年齢）を評価した。他の合併症として眼、聴覚、口唇・口蓋裂、心疾患、腎疾患などの有無と内容を評価した。

（倫理面への配慮）

患児のマイクロアレイ検査は、信州大学医学部で承認をうけた「ヒト遺伝子解析」計画書に記された説明、同意文書とともに、また当施設の倫理委員会

で承認をうけた遺伝学的検査の説明と同意にも基づいて行われた。

### C. 研究結果

#### 1) マイクロアレイ解析結果 (表 1)

解析した 5 症例におけるマイクロアレイ結果を、先行して施行した G 分染法の結果と比較した。マイクロアレイでの 4p 領域の欠失はいずれも端部欠失と考えられた。症例 1 は G 分染法では正常核型であったが、アレイにて約 2.9Mb の欠失を認めた。症例 2 においては 1 回目の G 分染法は正常との解釈であったが、臨床症状から WHS を疑い 4p 領域を詳細に見直すことで欠失と判明した症例であり、アレイでは約 5.5Mb の大きさであった。他の 3 症例はアレイで約 7.5Mb, 8.8Mb (2 例) の大きさの欠失であり、G 分染法でも欠失が判明していた。症例 4 ではアレイにて 8p 端部の 6.9Mb の重複も認め、G 分染法の不均衡転座の結果を支持するものであった。その他の症例では報告時点で 4p 以外の有意なゲノムコピー数異常は認めなかった。

表 1) G 分染法とマイクロアレイ結果の比較

症例	G 分染結果	マイクロアレイ結果
1	46, XX	arr 4p16.3(46,772-2,294,435)x1
2	46, XX, del(4)(p16.1) 注) 本文参照	arr 4p16.316.1(63,075-5,488,869)x1
3	46, XY, del(4)(p16.1)	arr 4p16.316.1(63,075-7,509,074)x1
4	46, XX, del(4)(p16)	arr 4p16.316.1(33,850-8,775,114)x1
5	46, XX, der(4)t(4;8) (p15.3;p22)	arr 4p16.316.1(92,083-8,772,114)x1, 8p23.3p23.1(192,262-6,907,722)x3

#### 2) 臨床所見の比較 (表 2)

##### a) 身体所見

出生時週数は全例で 40 週を超え、かつ出生時体重は 2500g 未満の低出生体重児であり子宮内発育遅延 (IUGR) を呈した。最終評価時の身体計測も -2SD を大きく下回り、出生後も著明な成長障害を認めた。これらの所見は過去の報告と合致していたが、欠失範囲と IUGR や生後の成長障害の程度との関連は明らかではなかった。

##### b) 精神運動発達遅滞

5 例全例で重度の精神運動発達遅滞を認めたが、その重症度には幅がみられた。一番小さい欠失サイズ

(2.3Mb) の症例 1 では 6y6m の心理テスト (津守式) にて発達指数 (DQ) 23 であったが、7y4m で独歩可能となった。言語面では 7 歳で 2 語文獲得、12 歳で排泄自立し、日常生活動作 (ADL) を含めゆっくりではあるが確実な発達の進歩を示した。二番目に小さい欠失サイズ (5.5Mb) の症例 2 でも 7y10m で歩行獲得し、発語はないものの簡単な言語理解は進んでいた。欠失範囲の大きい 3 症例では、診察時点で歩行獲得しておらず、寝返り、頸定などの粗大運動発達経過も遅い傾向にあった。特に症例 4 (16y3m, 8.8Mb 欠失) においては、頸定が不完全で、ADL は全面介助の状態であった。

##### c) 身体所見

WHS の特徴的顔貌と小頭は全例で認めた。先天性心疾患は 5 例中 3 例で認めたがいずれも軽度で経過観察のみであった。症例 4, 5 においては (口唇) 口蓋裂を合併し、症例 4 では他に腎臓の低形成と乳幼児期の腎不全を合併したが保存的治療にて徐々に改善を認めた。骨格所見においては、症例 1 において、WHS で過去に合併報告のない多発性外骨腫が 2 歳より出現し現在まで繰り返し外科的摘除を必要としている。他側彎 (症例 4) 斜視 (症例 2, 4)、難聴 (症例 4)、先天性欠歯 (症例 2, 4) などをそれぞれ合併していた。

##### d) けいれん

全例にてんかん (けいれん、脳波異常) を合併していた。欠失範囲の比較的小さいグループ A (症例 1, 2) と比較的大きいグループ B (症例 3, 4, 5) に分類して評価したところ、グループ A の 2 症例では初発は共に 2 歳を過ぎており、経過中 30 分以上の重積発作を来した経験はなかった。症例 1, 2 での最終けいれんはそれぞれ 8 歳、10 歳であり、その後 5 年以上発作を認めていないが、症例 1 では最終発作後も脳波異常を認めていた。グループ B では初発が 6-7 ヶ月と早く、3 例とも重積発作の既往があった。重積時の年齢は 1 歳前後に最も多かったが、重積の程度によらず 2, 3 歳をすぎると改善傾向にあった。治療は症例 2 では発熱時のけいれん中心で発作時のジアゼパムのみでの治療であったが、他の 4 症例では全例バルプロ酸を使用していた。グループ B では他にフェノバルビタールやフェニトインを組み合わせてコントロールされていたが、症例 3 ではけいれんのコントロールが難しく、3 歳より臭化ナトリウムを開始しその後改善に向かった。



表 2) WHS 5 症例における臨床所見の比較

症例	性	アレイ結果		出生体重 (g) 週数 (w)	年齢	身体計測評価				発達遅滞	身体所見					けいれん (てんかん)			
		4p 欠失 (Mb)	他 異常 (Mb)			評価 年齢	身長 SD	体重 SD	頭圍 SD		顔貌 特徴	心 臓	口 蓋	腎 臓	骨 格	初発	重複歴 >30分	治療	経過 (最終発作)
1	女	2.29	—	1900g 41w2d	13y 2m	同左	-5.4	-3.5	-3.7	重度 DQ23 独歩 7y4m	+	ASD	—	—	外骨腫	2y6m	—	VPA	最終発作 8y 脳波異常のみ
2	女	5.49	—	2075g 41w5d	16y 1m	同左	-4.9	-3.0	不明	重度 独歩 7y10m	+	—	—	—	—	2y1m	—	発熱時 DZP	最終発作 10y 8y 頃より自然軽快
3	男	7.45	—	2158g 39w3d	3y 6m	2y 0m	-4.2	-4.1	-4.1	重度 寝返りのみ	+	—	—	—	—	7m	+	VPA/PB NaBr	3y で臭化 Na 開始 発作改善傾向
4	女	8.77	—	2845g 42w	16y 3m	同左	-11.9	-5.3	-10.2	重度 寝返りのみ 独歩未	+	PS	CL/ CP	腎不全 低形成	側彎	7m	+	VPA PHT	1歳まで重積頻回 3歳以降改善 最終発作 4y2m
5	女	8.78	8p 重複 6.91	2248g 40w4d	6y 9m	4y 3m	-4.6	-3.3	-3.4	重度 坐位可 独歩未	+	AR	CP	—	—	6m	+	VPA PB	1y4m 時重積 2y 頃より改善傾向

DQ (発達指数) ASD (心房中隔欠損) PS(肺動脈狭窄) AR (大動脈弁閉鎖不全) CL (口蓋裂) CP (口唇裂) VPA (バルプロ酸) DZP (ジアゼパム) PB (フェノバルビタール) NaBr(臭化ナトリウム) PHT (フェニトイン)

D. 考察

WHS の原因となる 4p16 領域には多数の遺伝子が存在し、その責任領域 (WHSCR) を決定するために現在まで多くの研究が行われている。近年、テロメアから約 1.8-1.9Mb の領域に存在する約 300-600kb の領域が新たな責任領域 (WHSCR2) として提唱された。この中には、ヒストンメチル化に関わり発生過程での様々な転写因子を制御する *WHSC1* 遺伝子の 5'側と、神経細胞の Ca 調節に関与しけいれんや神経症状に関与する *LETMI* 遺伝子が含まれており、これらの遺伝子の欠失が WHS の主要な臨床症状の原因と考えられている。今回解析した 5 症例は全例この WHSCR2 を含む欠失であった。さらに、さまざまな欠失領域をもつ症例の報告から、欠失領域と臨床所見における関連マップも作成されており、今回検討した 5 症例においても、欠失サイズが大きいほど合併所見が増加する(特に口蓋裂、腎疾患など)傾向にあった(表 3)。一方、てんかんは WHS において最も注意すべき合併症であり乳幼児期の重積発作の治療に難渋する例もあるが、幼児期後半から学童期にかけて自然軽快してくることも多いため、乳幼児期のけいれんのコントロールが大きな課題となる。これらけいれんの重症度と欠失領域との関連はこれまでまだ明らかになっていないが、今回の検討では欠失範囲の小さい 2 症例では主に乳幼児期のけいれんが軽症であった。しかしながら 7Mb を超える 3 例においては初発時期も早く全例重積を認め、これら 3 例の共通欠失領域内に *LETMI* 以外のけいれんに関与する修飾因子が存在する可能性も考えられた。他の合併症においては、最も欠失サイズの小さい症例 1 で多発性外骨腫の合

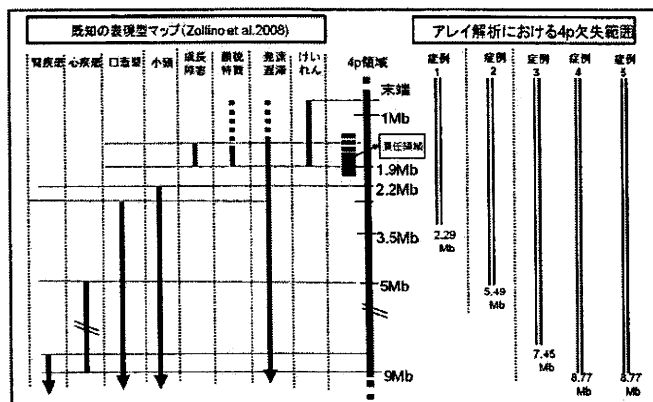


表 3) 表現型マップとの比較

併を認めたが、このことは 4p 以外の領域のコピー数異常や修飾因子が表現型に寄与している可能性を示唆する。

また今回のアレイ解析では、各症例毎に他の染色体領域に約 30kb~450kb のコピー数変化が観測されたが、現時点で病因との関連は明らかでなく、今後さらに臨床症状との関連を検討する必要がある。また症例 5 で認めた 8p との不均衡転座は、嗅覚受容体遺伝子のクラスターを介した WHS で優位に多い転座であることがわかっており、アレイ結果と矛盾しないものであった。同じサイズの 4p の端部欠失をもつ症例 4 との比較からは、症例 5 における 8p 重複の臨床症状への寄与は明らかでなかった。今後、症例数の追加とマイクロアレイ解析の検討を続け、特にけいれんを中心とした臨床所見と欠失領域・欠失内遺伝子との関連についてのさらなる知見について提示できればと考える。

## E. 結論

マイクロアレイ解析を用いた WHS の臨床所見と遺伝子型の解析から、けいれんの重症度や他合併症の有無が 4p の欠失サイズと関連している可能性が示された。今後他のコピー数異常との関連を含む新たな知見が蓄積されていくことにより、WHS 症例において、早期のマイクロアレイ解析による臨床所見の予測に基づき、その後のけいれん治療や他合併症に対する細やかな健康管理が可能になることが期待される。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

特になし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
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）  
分担研究報告書

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

－ ウォルフヒルシュホーン症候群における頻度の研究 －

研究分担者 川目 裕

お茶の水女子大学大学院遺伝カウンセリングコース

研究要旨

ゲノムコピー数異常を伴う先天異常症候群のひとつであるウォルフヒルシュホーン症候群（Wolf-Hirschhorn syndrome: WHS）の欠失のタイプと頻度を把握するために、日本小児遺伝学会Dysmorphologyのタベ委員会の協力のもとに、その欠失のタイプの調査と患者数の推定を行った。今回報告のあった65例のうち、端部欠失は、49例（75%）、転座その他の構造異常16例（25%）であった。発生頻度の推定は、2005年から2009年の出生別症例数から、各施設をWHSとダウン症候群が同じ割合で受診すると仮定し、ダウン症候群の頻度を1/800出生として推定をおこなった。その間に出生したWHSは、ダウン症候群に比して平均2.6%（0.8%から4.7%、中央値2.65%）であった。従ってWHSの出生率は、約31,000出生にひとり（1/17,000から1/100,000出生）と推測された。これは、従来の報告とほぼ一致するものであった。

研究協力者

山本佳世乃（お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科ライフサイエンス専攻遺伝カウンセリングコース）

A.研究目的

ゲノムコピー数異常を伴う先天異常症候群のひとつであるウォルフヒルシュホーン（Wolf-Hirschhorn）症候群（4p-症候群）（以下、WHS）は、1961年に初めてHirshhornとCooperによりB群染色体の欠失を伴う染色体異常症として報告され、1965年にはWolfらが同様の症例の報告を行った。その後、現在までに多くの症例が報告され4番染色体短腕の欠失を伴う臨床的に認識可能な多彩な臨床症状を呈する染色体異常症候群として確立されている。本症候群の責任領域（WHSCR）について、また欠失領域と表現型の相関については、多くの研究がおこなわれているが、依然不明な側面も多く、本研究班でもおこなわれる。

本症候群の染色体異常については、近年になってマイクロアレイ法の導入によって、いわゆる端部欠失（pure deletion）は、約55%程度であって、40-45%は、不均衡型転座を含む微細な複雑な構造異常を認めると報告されている。従来のG分染法やFISH法においては、これらの微細な構造異常は診断不可能である。端部欠失以外では、親が均衡型転座の保因者の可能性があり次子の再発率に影響があり、遺伝カウンセリングに重要となる。

本症候群の発生頻度については、欧米からの報告として約50,000-20,000出生にひとりと報告されている。しかし、本症候群は、先に述べたように通常の染色体検査では、50-60%の検出率と報告されており、FISH検査やマイクロアレイ法により95%までの診断率であることから、これまで報告されている頻度は、実際よりは低いと推測されている。

今回、ゲノムコピー数異常を伴う先天異常症候群のひとつであるウォルフヒルシュホーン症候群に関して、日本小児遺伝学会Dysmorphologyのタベ実行委員会の委員の協力を得て、我が国での本症候群の患者数の頻度と、欠失のタイプを明らかにする。

さらに本症候群の自然歴についての系統的レビュー（systematic review）を行うための準備として、網羅的に文献検索をおこなった。

B.研究方法

【対象】

日本小児遺伝学会Dysmorphologyのタベ実行委員会の委員の所属する医療機関に受診し、G分染法、FISH法、マイクロアレイ法によって欠失を認めたWHS症例。2005年より2009年までの症例数、欠失のタイプについて調査票により収集。

【発生頻度の推定の方法】

各医療機関においてのWHSの受診率とダウン症候群の受診率とが同程度と仮定し、ダウン症候群の発生頻度を800出生にひとりとして推定した。

【系統的レビューのための文献検索】

Aの2つのキーワード、それぞれにBのキーワードをANDで(すなわち6通りの組み合わせ)にて検索をおこなった。データベースは、米国立医学図書館国立生物工学情報センターの医学・生物文献データベースであるPubMedを対象とした。

キーワードA

1. Wolf-Hirschhorn syndrome
2. 4p deletion syndrome

キーワードB

1. Management
2. History
3. Clinical

(倫理面への配慮)

特になし

### C.研究結果

#### 1) 欠失のタイプ

欠失のタイプの明らかな症例65例のうち、端部欠失は、49例(75%)、転座、その他の構造異常16例(25%)であった。

#### 2) WHSの発生頻度

各医療機関(6施設)に受診中のWHS症例の2005年から2009年の出生年別症例の数は、0例から3例であった。5年間の総数から1年の平均症例は、0.2から1.8例であった。一方でダウン症候群は、各施設間で大きく異なり、1年の平均症例7例から74例の施設と幅があった(表1)。

施設	A	B	C	D	E	F
<b>WHS</b>						
2005	2	0	0	1	2	1
2006	1	0	1	3	3	2
2007	1	0	0	1	2	2
2008	0	0	0	0	0	1
2009	0	1	0	1	2	0
平均	0.8	0.2	0.2	1.2	1.8	1.2
<b>ダウン症候群</b>						
2005	24	18	8	65	77	35
2006	35	20	5	61	70	28
2007	29	36	8	97	90	27
2008	26	26	10	71	70	19
2009	20	26	4	76	64	18
平均	26.8	25.2	7	74	74.2	25.4

表1 各施設のWHSとダウン症候群の出生年度別症例数

次に施設ごとにWHS症例のダウン症候群症例に対する割合を求めた。WHSはダウン症候群に比して平均2.6%(0.8%から4.7%,中央値2.65%)であった。ダウン症候群とWHSが各医療機関に同じ割合にて受診すると仮定し、ダウン症候群の出生率を

800出生にひとりとする、WHSの出生率は、約31,000出生にひとり(1/17,000から1/100,000出生)と推測された。

#### 3) 系統的レビューのための文献検索

2001年から2010年までの間に方法に示したキーワードで検索した結果、重複を除くと82件の文献が得られた。

### D.考察

WHSは、1961年の報告以来、4番染色体短腕の部分欠失も認める臨床的に認識可能な染色体異常症候群として確立された。1976年にJohnstonらは、42例のWHSをまとめ全例がde novoであると報告している。その後、1980年には、Lurieらの自験例と過去の症例を検討し、WHS症例において転座症例が13%に及ぶことを報告した。1981年にWilsonらの13例のWHSを報告では、その当時の古典的なG分染法の解析によって、3例(23%)が不均衡型転座を伴う4番染色体短腕の構造異常を疑われ、うち1例のみ親の解析より転座が証明された。この時期の転座症例は、バンドパターンの変化や端部の有意なバンド長の延長により疑い、親の検査により均衡型を証明することでしか確定することはできなかった。その後、2001年の英国からの大規模な多ソースからの報告では(Shannon et al, 2001)、72.3%が端部欠失のde novo症例、20.1%が転座症例、7.5%がその他の構造異常と報告されており、WHSは、純粋な端部欠失以外の転座等の構造異常のけっして少なくないことが認知された。近年、Battagliaらは、34例のWHS症例に従来の古典的な染色体検査ではなくマイクロレイ法にて解析したところ、15例(44%)に不均衡転座、すなわち4pの部分モノソミーと他の染色体の部分トリソミーを見出した。すなわち、従来の細胞遺伝学的検査では見逃されている微細な転座は、従来の頻度以上に多いことが推測されている。

今回の調査では、65例のうち、純粋な端部欠失ではない転座等の症例は、25%と報告された。これは、ほぼマイクロレイ法の導入前の文献的頻度と合致しており、実際、マイクロレイ法は今回の症例のうち一部のみでしか施行されていないことから、今後、本研究班にて、マイクロレイ法の解析が進むと、転座症例の割合が増加すると思われる。

WHSの発生頻度について最もよく引用される数値は、Gorlinらの「Syndrome of the Head and

Neck]による1/50,000である。その後、2001年に英国での多施設よりの症例の年間診断数より、95,896出生にひとりとして推定し報告している。2008年には、Maasらが、その21例の症例報告の論文の序論のなかで、personal experienceとして、Angelman症候群と同じ頻度、すなわち1/20,000出生と報告述べている。

我が国でのWHSの頻度については、平成8年(1996年)の厚生省心身障害研究「ハイリスク児の健全育成のシステム化に関する研究」の分担研究「4p-(Wolf-Hirshhorn syndrome)の自然歴と健康管理」のなかで、石切山は、千葉県こども病院でのWHSの診察数と同期間のダウン症候群の診察数から、その頻度は1/58,000程度と報告している。

今回、小児専門病院の遺伝科6施設での、2005年から2009年までの期間に出生したWHSとダウン症候群の症例数より、その頻度の推定を行ったが、各医療機関によって、その頻度には、幅が見られた(1/17,000から1/100,000)。しかし、平均値をとると1/37,000出生となり、欧米からの報告からとほぼ合致する。

従来、WHSは発生頻度については、正確な頻度を推測することは不可能と考えられている。古典的なG分染法では、4番染色体短腕の異常の検出率は50-60%といわれ、FISH法によって、おおよそ95%以上に検出できると報告されている。今回、各施設間でその頻度に差異を認めた理由として、そのひとつには、FISH法やさらにはマイクロアレイ法の実施の有無である。すなわち、各々の医療機関において、FISH法やさらにはマイクロアレイ法という検査法が可能であれば、症例数は増加すると推測される。さらに、同時期に出生し各施設に受診しているダウン症候群の症例数をもとに推定していることから、各施設におけるダウン症候群の受診率によっても、WHSの頻度に施設間の差異が生じる可能性がある。

WHSの自然歴を系統的レビューするために、今回、文献検索を行った。この10年間に、WHSについて、82報が見出された。今後、これらの文献を詳細に解析する予定である。

#### E. 結論

我が国のWHSにおいては、4番染色体短腕の異常は75%が端部欠失、25%が転座等の構造異常であり、従来の古典的染色体検査における従来の欧米の報告とほぼ一致していた。今後、マイクロアレイ法の導

入によって、転座等の症例の増加が推測された。発生頻度については、おおよそ1/37,000と推測された。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

特になし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 4. 特許取得

なし

##### 5. 実用新案登録

なし

##### 6. その他

なし

#### I. 謝辞

今回お忙しいなかを各施設の症例について情報をご提供いただきました以下の小児遺伝学会Dysmorphologyのタベ実行委員会の先生方に心から深謝いたします。大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科 岡本伸彦先生(委員長)、神奈川県立こども医療センター 黒澤健司先生、古谷憲孝先生、慶應義塾大学医学部小児科 小崎健次郎先生、成育医療センター 小崎里華先生、みさかえの園むつみの家 近藤達郎先生、埼玉県立小児医療センター 清水健司先生、大橋博文先生、旭川医科大学教育センター/旭川医科大学小児科 蒔田芳男先生、川崎医療福祉大学 升野光雄先生、東京女子医科大学小児科 松尾真理先生、愛知県心身障害者コロニー中央病院 水野誠司先生、都立小児総合医療センター 吉橋博史先生。また、文献検索はお茶の水女子大学大学院ライフサイエンス専攻遺伝カウンセリングコースの岩柳美穂さん、齋藤敦子さん、朱肖婕さん、深野智華さんの協力を得ました。

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
福嶋義光、涌井敬子	染色体検査・遺伝子関連検査	金井正光	臨床検査法提要改訂第33版	金原出版	東京	2010	1113-1164
古庄知己	脱臼，皮膚裂傷を繰り返す30歳女性		視診・触診でわかる内科疾患の診かたー診断力がアップする厳選症例100問	金原出版	東京	2010	69-70
福嶋義光	ミラー・ディーカー症候群	井村裕夫	症候群ハンドブック	中山書店	東京	2011	661
福嶋義光	オーダーメイド医療各論IV	分子予防環境医学研究会	ゲノム医科学の分子予防医学への統合，分子予防環境医学－生命科学研究の予防・環境医学への統合－	本の泉社	東京	2010	751-759

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakamura K, Sekijima Y, Nakamura K, Hattori K, Nagamatsu K, Shimizu Y, Yasuda T, Ushiyama M, Endo F, Fukushima Y, Ikeda S	Cerebral hemorrhage in Fabry's disease	J Hum Genet	55	259-261	2010
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	152A(2)	417-421	2010
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	152A(6)	1333-1346	2010

Miyake N, <u>Kosho T</u> , Mizumoto S (equal contribution), Furuichi T, Hatamochi A, Nagashima Y, Arai E, Takahashi K, Kawamura R, <u>Wakui K</u> , Takahashi J, Kato H, Yasui H, Ishida T, <u>Ohashi H</u> , Nishimura G, Shiina M, Saitsu H, Tsurusaki Y, Doi H, <u>Fukushima Y</u> , Ikegawa S, Yamada S, Sugahara K, Matsumoto N	Loss-of-function mutations of CHST14 in a new type of Ehlers-Danlos syndrome	Hum Mutat	31(8)	1-9	2010
古庄知己, 渡邊淳, 森崎裕子, 福嶋義光, 簗持淳	難治性疾患克服研究事業による血管型エーラスダンロス症候群の実態調査	日本遺伝カウンセリング学会誌	31(3)	157-161	2010
Shimaoka Y, <u>Kosho T</u> , Wataya-Kaneda M, Funakoshi M, Suzuki T, Hayashi S, Mitsuhashi Y, Isei T, Aoki Y, Yamazaki K, Ono M, Makino K, Tanaka T, Kunii E, Hatamochi A	Clinical and genetic features of 20 Japanese patients with vascular-type Ehlers-Danlos syndrome	Br J Dermatol	163(4)	704-710	2010
Yamazaki M, <u>Kosho T</u> (equal contribution, corresponding author), Kawachi S, Mikoshiha M, Takahashi J, Sano R, Oka K, Yoshida K, Watanabe T, Kato H, Komatsu M, Kawamura R, <u>Wakui K</u> , Knappskog PM, Bomann H, <u>Fukushima Y</u>	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	152A(3)	764-769	2010
Sekijima Y, Ohashi T, Ohira S, <u>Kosho T</u> , <u>Fukushima Y</u>	Successful pregnancy and lactation outcome in a patient with Gaucher disease receiving enzyme replacement therapy, and the subsequent distribution and excretion of imiglucerase in human breast milk	Clinical Therapeutics	31	2048-2052	2010
Narumi Y, <u>Kosho T</u> , Tsuruta G, Shiohara M, Shimazaki E, Mori T, Shimizu A, Igawa Y, Nishizawa S, Takagi K, Kawamura R, <u>Wakui K</u> , <u>Fukushima Y</u>	Genital abnormalities in Pallister-Hall syndrome: Report of two patients and review of the literature	Am J Med Genet	152A	3143-3147	2010
Onouchi Y, Ozaki K, Buns JC, Shimizu C, Hamada H, Honda T, Terai M, Honda A, Takeuchi T, Shibuta S, Suenaga T, Suzuki H, Higashi K, Yasukawa K, Suzuki Y, Sasago K, Kemmotsu Y, Takatsuki S, Saji T, Yoshikawa T, Nagai T, Hamamoto K, Kishi F, Ouchi K, Sato Y, Newburger JW, Baker AL, Shulman ST, Rowley AH, Yashiro M, Nakamura Y, <u>Wakui K</u> , <u>Fukushima Y</u> , Fujino A, Tsunoda T, Kawasaki T, Hata A, Nakamura Y, Tanaka T	Common variants in CASP3 confer susceptibility to Kawasaki disease	Human Molecular Genetics	19	2898-2906	2010



Nishimura-Tadaki A, Wada T, Bano G, Gough K, Warner J, Kosho T, Ando N, Hamanoue H, Sakakibara H, Nishimura G, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Wakui K, Saitu H, Fukushima Y, Hirahara F, Matsumoto N	Breakpoint determination of X;autosome balanced translocations in four patients with premature ovarian failure	J Hum Genet	56(2)	156-160	2011
Hayashi S, Imoto I, Aizu Y, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Okamoto N, Honda S, Araki S, Mizutani S, Numabe H, Saitoh S, Kosho T, Fukushima Y, Mitsubuchi H, Endo F, Chinen Y, Kosaki R, Okuyama T, Ohki H, Yoshihashi H, Ono M, Takada F, Ono H, Yagi M, Matsumoto H, Makita Y, Hata A, Inazawa J	Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies	J Hum Genet	56(2)	110-124	2011
Goto Y, Uhara H, Murata H, Koga H, Kosho T, Yamazaki M, Takata M, Okuyama R	Leg ulcers associated with positive lupus anticoagulant in two cases of Klinefelter's syndrome	Acta Derm Venereol	91(1)	90-91	2011
福嶋義光	診療のための遺伝医学関連ガイドライン(特集:臨床遺伝学の進歩と日常診療)	日本医師会雑誌	139	604	2010
福嶋義光	遺伝子解析(特集:産婦人科に関わる法と倫理の現状)	産婦人科の実際	59	2185-2190	2010
福嶋義光	遺伝子診療と倫理(特集:遺伝性消化管疾患の特徴と長期経過)	胃と腸	45	2101-2103	2010
福嶋義光	遺伝子診療学とは. 遺伝子診療学(第2版) 遺伝子診断の進歩とゲノム治療の展望	日本臨床	68	1-3	2010
福嶋義光	遺伝子研究・診断・治療の倫理(特集:糖尿病と遺伝子)	月刊糖尿病	3 (4)	114-119	2011
福嶋義光	臨床遺伝医療	BIO Clinica	26	271-275	2011
古庄知己	奇形・染色体異常の遺伝カウンセリング	小児科診療 小児の治療指針	2010年増刊号	907-909	2010
古庄知己	先天異常児の発達支援. 特集「周産期医療がめざすディベロプメンタルケア - 胎児期からはじめる発達支援」	周産期医学	第40巻第5号	615-618	2010
古庄知己	遺伝子診療部の活動と最近のトピック「信大病院の窓」	松本市医師会会報	第509号	8-12	2010
Shimizu R, Saito R, Hoshino K, Ogawa K, Negishi T, Nishimura J, Mitsui N, Osawa M, Ohashi H	Severe Peters Plus syndrome-like phenotype with anterior eye staphyloma and hypoplastic left heart syndrome: Proposal of a new syndrome	Congenit Anom	50	197-199	2010

Hirai N, Yamanouchi T, Matsune K, Kobayashi R, Yabe H, <u>Ohashi H</u> , Maeda T	A Comparison between two-dimensional and three-dimensional cephalometry on lateral radiographs and multi-Detector Row computed tomography of human skulls	Int J Oral-med Sci	9	101-107	2010
Yamauchi T, Matsune K, Hirai N, Kobayashi R, Yabe H, <u>Ohashi H</u> , Maeda T	Accuracy of tooth development stage, tooth size and dental arch width in multi-Detector Row computed tomography of human skulls	Int J Oral-med Sci	9	108-114	2010

