

図1 新生仔の脳皮質、海馬における SIP1 の発現

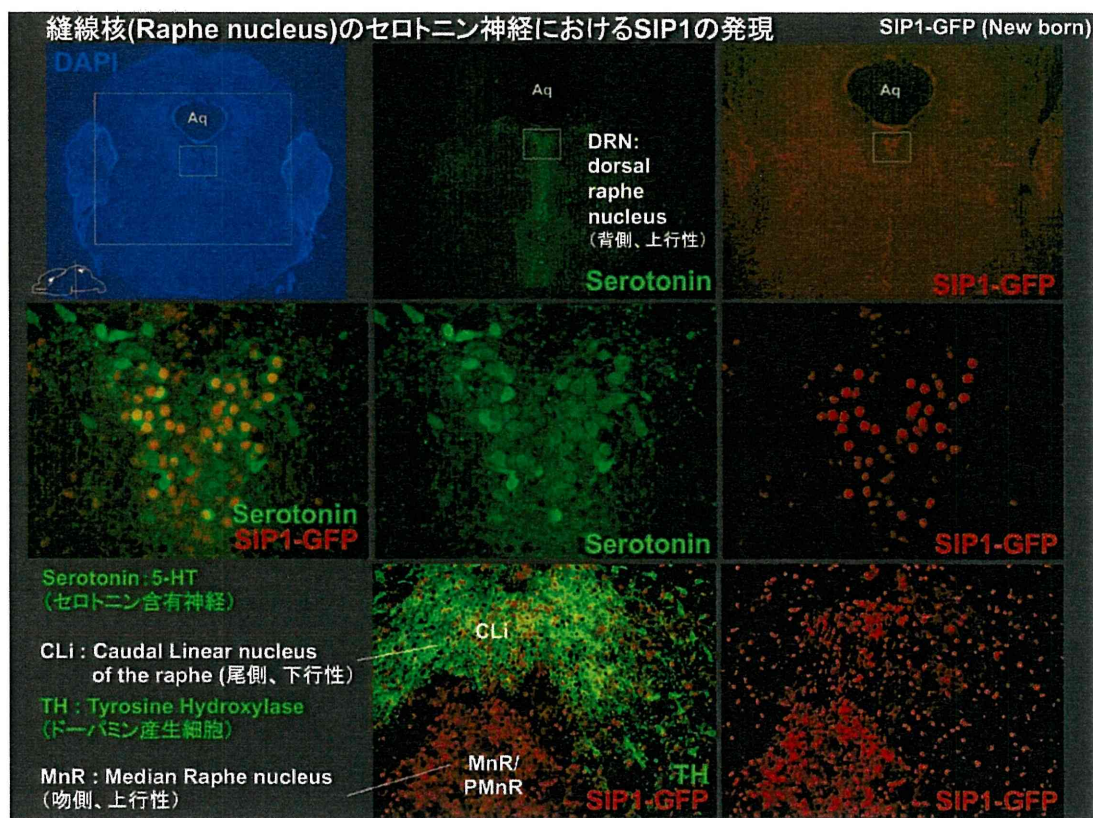


図2 間脳の縫線核における SIP1 の発現

F. 研究発表

1. 論文発表

本年度、関連発表なし。

2. 学会発表

本年度、関連発表なし。

G. 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

ZEB2 の高感度測定法の開発とその臨床応用

研究分担者 橋田 誠一

徳島文理大学・健康科学研究所 生活習慣病部門

研究要旨

モワット・ウィルソン症候群（MWS）の病因遺伝子（タンパク質）である ZEB2（ZFHX1B、SIP1）の血中濃度を測定し、MWS の診断に応用する目的で、ZEB2 測定系の開発を行った。ZEB2 の N-末側（aa395-408）および C-末側ペプチド（aa690-703）を合成し得た 2 種類の抗体を用いた高感度サンドイッチ免疫測定法の開発を試みた。しかし、C-末抗体の反応性が弱く、十分な感度を得ることが出来なかった。そこで、残った N-末抗体による競合的免疫測定法を作成した。その結果、リコンビナント ZEB2 を 0.1 fmol (6.4 pg)まで、検出できることが分かった。現在、リコンビナント ZEB2 を免疫し、whole ZEB2 に対する抗体を作成しており、この抗体と N-末抗体を組み合わせ、高感度サンドイッチ免疫測定法を開発する予定である。

共同研究者

若松 延昭

愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所

A. 研究目的

転写制御因子は細胞質内で翻訳された後、核内へ移行する。この制御因子に変異があると、時には核内への移行に障害となり、細胞質に貯留することとなる。そして、細胞外に漏出または放出されることもある。そのため、ある特定の変異においては、細胞外に検出されることが予想される。

事実、がん抑制遺伝子 p53 の変異体は蛋白分解酵素に抵抗性を示し、細胞外に漏出される。その結果、変異 p53 自己抗体が惹起され、食道・大腸・乳がんでは高頻度で検出される様になって来た。

モワット・ウィルソン症候群（MWS）の病因遺伝子（タンパク質）である ZEB2（ZFHX1B、SIP1）は、ZF（ジンクフィンガー）ファミリーに属する転写調節因子で、形態形成に関与すると考

えられている。ZEB2 は核内に局在し、主に標的遺伝子のプロモーターの ZF ドメインに結合し、転写の抑制を行っている。患者では ZEB2 遺伝子にナンセンス変異、フレームシフト変異、欠失などの機能喪失型突然変異が見られる。欠失はその領域が多様であり、時に同定が困難な場合に遭遇する。そこで、血中に漏出した ZEB2 タンパク質を測定し、MWS の診断に応用する目的で、ZEB2 測定系の開発を行った。本研究では、ヒト ZEB2 の高感度測定法を開発し、MWS の症例の血清値を測定し、本測定法が同症候群の診断に有効か否かを検討する。

B. 研究方法

1) 一般試薬

一般試薬は、ナカライテスク（京都）及び和光純薬工業（大阪）より購入した。ウシ血清アルブミン（BSA）は、ナカライテスクより、ストレプトアビジンは、和光純薬工業より購入した。抗ウ

シ血清アルブミン (BSA) 血清は、シバヤギ (群馬) より購入した。

2) 抗原

標準リコンビナント・ヒト ZEB2 (aa383-720) は GST-ZEB2 融合タンパク質として大腸菌で発現させた後、アフィニティー精製を行い得た。

3) 抗体

ZEB2 の N-末側 (aa395-408) および C-末側ペプチド (aa690-703) を合成し、ウサギに免疫することにより抗体を得た。

4) 緩衝液

0.1 M NaCl, 0.1% BSA, 1 mM MgCl₂, 0.1% NaN₃ を含む 0.01 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.0) を緩衝液 A、0.4 M NaCl, 0.1% BSA, 1 mM MgCl₂, 0.1% NaN₃ を含む 0.05 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.0) を緩衝液 B、0.1 M NaCl, 0.01% BSA, 1 mM MgCl₂, 0.1% NaN₃ を含む 0.01 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) を緩衝液 C、0.1 M NaCl を含む 0.01 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.0) を緩衝液 D とした。

5) F(ab')₂ の調製

ウサギ抗 ZEB2 の N-末側 (aa395-408) IgG および C-末側ペプチド (aa690-703) IgG は、0.1 M 塩化ナトリウムを含む 0.1 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH4.5) にて一夜透析し、1 ml に濃縮する。2% (W/W) になるようにペプシン (Roche) を加え、37°C で 20 時間インキュベートする。インキュベーション後、反応は緩衝液 A で平衡化したウルトロゲル AcA44 (1.5×45 cm) (Bio SEPR) カラムに添加し、F(ab')₂ を得て、0.5 ml に濃縮した。

6) 標識抗体の調製

ウサギ抗 ZEB2 の N-末側 (aa395-408) F(ab')₂ および C-末側ペプチド (aa690-703) F(ab')₂ を還元し得られたヒンジ部の SH 基に、マレイミド基を導入した β-D-ガラクトシダーゼと反応させ、4°C で 20 時間インキュベーション後、緩衝液 B で平衡化したウルトロゲル AcA22 カラムに添加し、ヒト ZEB2 の N-末側 (aa395-408) および C-末側

ペプチド (aa690-703) 検出用標識抗体 (β-D-ガラクトシダーゼ標識 ZEB2 の N-末側 (aa395-408) および C-末側ペプチド (aa690-703) Fab') コンジュゲートを調製した。

同様に、ウサギ抗 ZEB2 の N-末側 (aa395-408) F(ab')₂ および C-末側ペプチド (aa690-703) を F(ab')₂ 還元し得られたヒンジ部の SH 基に、マレイミド基を導入した DNP 標識及びビオチン標識 BSA を同時に反応させ、4°C 20 時間インキュベーション後、緩衝液 C で平衡化したウルトロゲル AcA34 カラムに添加し、ヒト ZEB2 の N-末側 (aa395-408) および C-末側ペプチド (aa690-703) 捕捉用標識抗体 (DNP 化ビオチン化 BSA 標識 ZEB2 の N-末側 (aa395-408) および C-末側ペプチド (aa690-703) Fab') コンジュゲートを調製した。

7) 固相の調製

ウサギ抗 ZEB2 の N-末側 (aa395-408) IgG および C-末側ペプチド (aa690-703) IgG は、0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.5) に 10 μg/ml の濃度に溶解し、直径 6.4 mm のポリエチレンビーズ (イムノケミカル、岡山) と一夜室温で浸漬後、緩衝液 A で洗浄し、4°C で保存した。アフィニティー精製した抗 DNP-IgG も上記と同様の手順により調製した。

ビオチン化-BSA は、0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.5) に 10 μg/ml の濃度に溶解し、直径 6.4 mm のポリエチレンビーズ (イムノケミカル) と一夜室温で浸漬後、0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.5) で洗浄し、さらに同じ緩衝液で溶解したストレプトアビジン溶液 (10 μg/ml) に一夜室温で浸漬後、緩衝液 A で洗浄し、4°C で保存した。ビオチン化-BSA は、0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.5) に 10 μg/ml の濃度に溶解し、直径 6.4 mm のポリエチレンビーズ (イムノケミカル) と一夜室温で浸漬後、0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.5) で洗浄し、さらに同じ緩衝液で溶解したストレプトアビジン溶液 (10 μg/ml) に一夜

室温で浸漬後、緩衝液 A で洗浄、4°C で保存した。

8) 免疫複合体転移酵素免疫測定法 (Immune Complex Transfer Enzyme Immunoassay; ICT-EIA)

標準ヒトリコンビナント GST-ZEB2 100 μ l または試料 100 μ l を用い、これに酵素標識抗体及び捕捉用標識抗体を緩衝液 B に溶解した混合液 100 μ l を加え、16 時間 4°C でインキュベーションし、捕捉用標識抗体・ヒト ZEB2・検出用標識抗体の 3 者からなる免疫複合体を形成させた。次いで、この反応液にアフィニティー精製した抗 DNP-IgG を不溶化したポリスチレンビーズ 1 個を加え 0.5 時間反応させた。ビーズを緩衝液 C (2 ml) で 2 回洗浄後、2 mM DNP -L-リジン (150 μ l) と 0.5 時間反応させ、ビーズから免疫複合体を溶出させた。抗 DNP-IgG 不溶化ポリスチレンビーズビーズを除去した後、溶出液にストレプトアビジンを不溶化したポリスチレンビーズ 1 個を加え、さらに 0.5 時間反応させ、このビーズに免疫複合体を転移させた。ビーズとの反応は全て 25°C で 180 回/分の振とう下に行った。再びビーズを緩衝液 C (2 ml) で 3 回洗浄後、ビーズ上に転移された β -D-ガラクトシダーゼ活性は 0.1 mM 4-methylumbelliferyl β -D-galactoside (蛍光基質; 4MUG) (400 μ l) を用いて 30°C でインキュベート後、0.1 M グリシン緩衝液 (pH 10.3) (2 ml) を加え反応を停止後、蛍光分光光度計 (F-2500、日立) を用い測定した。なお、蛍光波長は 360 nm 蛍光測長は 450 nm とし、蛍光強度は 10^{-8} M 4MU を 100 として換算した。

9) 競合的免疫測定法 (Competitive Immunoassay)

標準ヒトリコンビナント GST-ZEB2 100 μ l または試料 100 μ l を用い、これに検出用酵素標識抗体を緩衝液 B に溶解した混合液 100 μ l を加え、16 時間 4°C でインキュベーションし、ヒト ZEB2・検出用標識抗体の 2 者からなる免疫複合体を形成させた。この時、検出用酵素標識抗体は余っている。次いで、この反応液に GST-ZEB2 を不溶化したポリスチレンビーズ 1 個を加え 0.5 時間反応さ

せた。ビーズを緩衝液 C (2 ml) で 2 回洗浄後、ビーズ上に転移された β -D-ガラクトシダーゼ活性は 0.1 mM 4-methylumbelliferyl β -D-galactoside (蛍光基質; 4MUG) (400 μ l) を用いて 30°C でインキュベート後、0.1 M グリシン緩衝液 (pH 10.3) (2 ml) を加え反応を停止後、蛍光分光光度計 (F-2500、日立) を用い測定した。なお、蛍光波長は 360 nm 蛍光測長は 450 nm とし、蛍光強度は 10^{-8} M 4MU を 100 として換算した。

C. 研究結果

ZEB2 の N-末側 (aa395-408) および C-末側ペプチド (aa690-703) に対する 2 種類の抗体 (抗体の調製参照) を調製し、ZEB2 の ICT-EIA 法の作成を試みた。2 抗体の組み合わせ等を検討したが、何れにおいても特異的なシグナルは得られなかった。次いで、従来の ELISA 法を試みた。N-末抗体を不溶化させた固相と ZEB2 抗原を反応させ、その後、酵素標識した C-末抗体と反応させた。また C-末抗体不溶化固相と酵素標識した N-末抗体の逆の組み合わせも検討した。しかし、いずれも特異的なシグナルは見られなかった。

そこで、抗体の結合能を大腸菌で発現させて精製したリコンビナント ZEB2 を不溶化した固相を用い検討した。その結果、N-末側抗体は ZEB2 と強く反応したが、C-末側抗体は、かなり弱い結合能であることが分かった。そのため、結合能の高い N-末抗体の酵素標識下コンジュゲートと、リコンビナント ZEB2 を不溶化した固相を用い、競合的免疫測定法を検討した。種々の条件を検討した結果、リコンビナント ZEB2 は 0.1 fmol (6.4 pg) まで、検出できることが分かった。

D. 考察

今回の ZEB2 測定系開発においては、N-末側と C-末側の 2 種類の抗体を用いたサンドイッチ測定系は達成できなかった。その原因としては、C-末側の抗体と ZEB2 との反応が弱いことが一因に

挙げられる。これらの2種類の抗体は合成ペプチドにより免疫され調製されたものであり、ZEB2のウエスタンブロット抗原とは良く反応している。しかし、Native ZEB2とは反応が非常に弱いことより、Native ZEB2のC-末側エピトープ領域が立体的に障害（隠れている）されている可能性が考えられた。

現在、リコンビナント ZEB2 を免疫し、whole ZEB2 に対する抗体を作成しており、この抗体と N-末抗体を組み合わせ、高感度サンドイッチ免疫測定法を開発する予定である。

E. 結論

ヒト ZEB2 のサンドイッチ型の免疫複合体転移測定法の作成には至らなかった。しかし、N-末抗体による競合的免疫測定法により、リコンビナント ZEB2 を 0.1 fmol (6.4 pg) まで、検出できることが示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

本年度、関連発表なし。

2. 学会発表

本年度、関連発表なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1 特許取得

名称：糖尿病性疾患の進行度評価方法

出願日：2011/3/4

出願番号：特願 2011-64959

出願人：橋田誠一

発明者：橋田誠一、梅原麻子

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

Mowat-Wilson 症候群における成長ホルモン関連因子の血中濃度

研究分担者 片上 秀喜

帝京大学ちば総合医療センター 内科・臨床研究部

研究要旨

モワット・ウィルソン症候群（Mowat-Wilson 症候群、以下 MWS）では本症の病因遺伝子 *ZEB2* (*ZFHX1B*, *SIP1*) のハプロ不全により、その転写産物が減少する。*ZEB2* (*ZFHX1B*, *SIP1*) タンパクはその機能の 1 つとして下流域転写調節タンパクの 1 つである *SHOX* の発現量を調整し、さらに下流域の形態や神経系の形成タンパクの量的あるいは質的偏倚を来し、その結果、Hirschsprung 病、小頭症、精神遅滞、眼間開離、粘膜下口蓋裂などの外表ならびに内臓異常と低身長をもたらす可能性も考えられている。本年度は MWS 患者において、成長に関与する成長ホルモン（GH）とその関連因子である GH 放出ホルモン（GHRH）、ソマトスタチン（SRIF）、GH の作用を介在するインスリン様成長因子（insulin like growth factor-1, IGF-1）の血中濃度を既報の超高感度あるいは高感度測定法を用いて検討した。

7 例の MWS 症例における GH ならびにその関連因子の血中濃度（mean±SE）は GH（ 1.2 ± 0.5 ng/mL）、GHRH（ 32.1 ± 5.2 ng/mL）、SRIF（ 9.3 ± 0.6 pg/mL）、IGF-1（ 143.1 ± 40.2 ng/mL）を示した。各ホルモンの測定値は健常対照者と比較して有意差を認めなかった。

したがって、本症における低身長は GH とその関連因子などによるホルモン分泌異常に由来するものではなく、他の形態形成に関与するタンパク等の発現異常に基づく可能性が示唆された。

共同研究者

若松 延昭

愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所

平木 洋子

広島市こども療育センター

水野 誠司

愛知県心身障害者コロニー中央病院

C 末端側に zinc finger モチーフを、その間にホメオドメイン様の配列および Smad 結合領域を有する DNA 結合型の転写因子である。また SIP1 は、そのアミノ酸配列の相同性から deltaEF1 と同じグループのタンパク質である。deltaEF1 は下垂体前葉の mammosomatotrope 細胞に発現し、GH 遺伝子の上流域の deltaEF1 結合部位に結合し、そこで deltaEF1-CtBP-LSD 転写抑制複合体を形成し同細胞での GH 遺伝子の発現を抑制していると考えられる。したがって、MWS のにおける生後の身体発育遅延（成長障害）の病態に GH とその関連因子の分泌低下が関与している可能性が示唆される。そこで、MWS 患者血中の GH とその関連因子を

A. 研究目的

生後の身体発育遅延（成長障害）には様々な因子が関与している^{1, 2)}。モワット・ウィルソン症候群（MWS）の原因タンパク SIP1 は Smad と相互作用する因子として単離され、N 末端および

超高感度測定法あるいは高感度測定法を用いて検討した。

B. 研究方法

各施設の研究倫理委員会の承認と、患者家族の了解を取得後、臨床的にあるいは遺伝子検査で診断の確定した MWS 7 症例の食後 2-4 時間の末梢血を EDTA 採血管もしくは通常採血管に採取し、直ちに血漿もしくは血清分離し、-30°C に保存した。検体は全て、完全匿名化連結不可能な検体とした。血漿中もしくは血清中の GH とその関連諸因子 (GHRH, SRIF, IGF-1) を既報の超高感度あるいは高感度測定法 (GH⁴⁾, GHRH⁵⁾, SRIF⁶⁾, IGF-1⁷⁾) を用いて、直接的非抽出で測定した。対照は健常人とした。

C. 研究結果

7 症例の血中 GH とその関連因子の濃度を表 1 に示した。

表 1: MWS 7 症例における GH と関連因子の血中濃度

	GH, ng/mL	IGF-1 ng/mL	GHRH pg/mL	SRIF pg/mL
Mean	1.2	143.1	31.4	9.3
SE	0.5	40.2	5.2	0.6
成人の基準値	0.05~2.5	50~300	15~50	5~18

D, E. 考察と結論

生後の身体発育遅延 (成長障害) には様々な因子が関与している。そのうち、GH と IGF-1 の分泌低下にもとづく低身長はよく知られている。それ以外に、高次中枢神経障害に基づく摂食障害や慢性炎症に付随する非特異的栄養不良により、IGF-1 作用が障害され、成長障害が惹起される。

MWS は新生児期より様々な臨床所見を認める。成長するにつれ、低身長を主体とする成長障害がしばしば生ずるが、その病因や病態は不明なままである。本研究では生後身体発育を促進する主た

るホルモンである GH とその関連諸因子として、血中 GH 以外に、GHRH、SRIF ならびに IGF-1 の濃度を測定した。いずれのホルモンの血中濃度も、健常対照のそれとは有意差を認めなかった。

したがって、本症の身体発育障害は視床下部 (GHRH-SRIF) - 下垂体 GH-肝臓 IGF-1 軸の障害にもとづく可能性は少ない。むしろ、本症における生後の身長体重の増加不良は、高次神経機能不全にともなう摂餌量の減少、末梢組織における IGF-1 作用の減弱、あるいは SHOX タンパクなどの dysmorphogenesis に関与する転写因子の発現異常などによる可能性を示唆する。

文 献

- 1) Wit JM, Kiess W, Mullis P: Genetic evaluation of short stature. *Best Practice & Res Clin Endocrinol Metab* 25: 1-17, 2011.
- 2) 片上秀喜: 転写因子異常による下垂体機能低下症. *ホルモンと臨床* 49: 1113-1125, 2001.
- 3) Wang J, Scully K, Zhu X, Cai L, Zhang J, Prefontaine GG, Kronen A, Ohgi KA, Zhu P, Garcia-Bassets I, Liu F, Taylor H, Lozach J, Jayes FL, Korach KS, Glass CK, Fu XD, Rosenfeld MG: Opposing LSD1 complexes function in developmental gene activation and repression programmes. *Nature* 446 (7138): 882-887, 2007.
- 4) Katakami H, Hashida S, Yonekawa T, Matsukura S: Detection by a novel and ultrasensitive enzyme immunoassay of pulsatile hGH secretion in spontaneous dwarf rats with targeted expression of hGH-transgene to the pituitary. *Clin Pediatr Endocrinol* 11: S77-83, 2002
- 5) Katakami H, Hashida S, Hidaka H, Ishikawa E, Matsukura S: Development and clinical application of a highly sensitive enzyme immunoassay (EIA) for human growth hormone-releasing hormone (hGHRH) in plasma. *Endocrine J* 45: S67-S70, 1998.
- 6) Katakami H, Hidaka H, Yonekawa T, Kawa S, Shimizu K, Matsukura S: Development of highly sensitive RIA for somatostatin: Direct measurement of plasma

somatostatin levels in humans, monkeys and rats. *Clin Pediatr Endocrinol* 11: S99-105, 2002.

- 7) 奈須和幸, 橋田 誠一, 松野 彰, 片上秀喜. ヒトインスリン様成長因子(ソマトメヂン C, IGF-I)に対する新規超高感度測定法の開発と臨床応用. 第80回日本内分泌学会総会. 東京, 2007.

F. 研究発表

1. 論文発表

本年度、関連発表なし。

2. 学会発表

本年度、関連発表なし。

G. 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

Mowat-Wilson 症候群の身体計測値に関する研究

研究分担者 水野 誠司

愛知県心身障害者コロニー中央病院

研究要旨

Mowat-Wilson 症候群は精神遅滞、てんかん、特異な顔貌を呈する先天異常症候群の一つであり、2001年に愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所の若松らが染色体転座を伴う同症候群例から染色体 2q22 の *ZFX1B* 遺伝子のハプロ不全が原因であることを示した。本遺伝子がコードするタンパクは神経堤由来細胞の発生分化に関わり中枢神経や神経節の形成に重要な役割を持つために、精神遅滞、てんかん、ヒルシュスプルング病、内部奇形などのさまざまな重度の合併症を引き起こす。

本症は身体的特徴から臨床診断が可能な症候群である。従来本症の顔貌と耳介の *dysmorphic* な所見が診断の参考になると言われている。手指の形態がその先天異常症候群の診断に役立つ場合があり、今回複数の症例の手指の形態を検討し、出生時の計測値についても評価した。結果として、Mowat-Wilson 症候群は、「節々の目立つ竹のような細長い指」「出生時は標準計測値」「生後の成長障害、小頭症、痩せ型の体型」が本症に特徴的な身体所見であり、顔貌の特徴と合わせて本症の形態学的診断の鍵となる所見であると考えられた。

共同研究者

若松 延昭

愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所

西 恵理子

愛知県心身障害者コロニー中央病院

A. 研究目的

本症は身体的特徴から臨床診断が可能な先天異常症候群である。顔貌などの *dysmorphic* な所見の他に細い指や痩せた体型などの特徴があるとされるが正確な計測値はない。また、手指の形態がその先天異常症候群の診断に役立つ場合があるとされるが、本症の手指の所見についての報告はまだない。今回本症患者の指の形態について検討しその診断的価値について考察した。また複数

の症例を元に本症候群の体格の概容について検討した。

B. 研究方法

愛知県心身障害者コロニー中央病院小児内科を受診中の Mowat-Wilson 症候群患者についてその手指の形態を写真撮影して検討を加えた。

愛知県心身障害者コロニー中央病院小児内科を受診中の Mowat-Wilson 症候群患者及び、研究班分担研究者の医療機関に通院する Mowat-Wilson 症候群患者を対象として、その過去の医療記録及び家族の自己申告から、任意の年齢における身長と体重の記録を抽出し解析ソフトウェアを用いて統計処理を加えた。

（倫理面への配慮）

対象患児は未成年でありかつ知的障害を有するため、患児に関する情報の収集に際しては代理人である両親に対して、同意のなく個人情報が伝わることのないように説明を行い、同意を得た個人情報のみ収集するように配慮した。

C. 研究結果



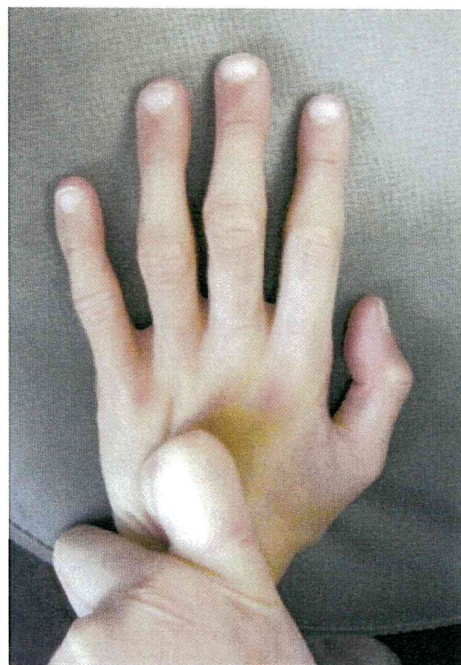
R.O. 1歳1か月女児（ZEB2 変異陽性例）
全指にPIP 関節以遠が細く、第5指の内彎を認める。



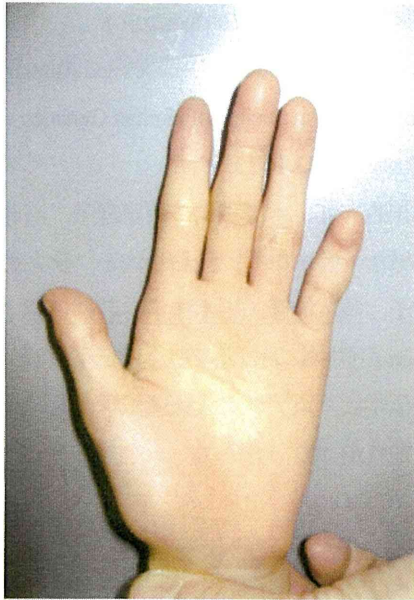
H.M. 7歳女児
全指が細く DIP 関節、PIP 関節が目立つ。第5指短小や彎曲は認めない。



M.A. 1歳4か月女児
第2-5指は細く、母指は短い。
第5指短小は認めない。



Y.O. 9歳女児
全指が細く DIP 関節、PIP 関節が目立つ。第5指短小や彎曲は認めない。小指の細長さが目立つ。



M.K.12 歳女兒

母指と第5指の短小を認める。細長い手掌と指を認める。



M.H.14 歳女兒

PIP 関節の目立つ細長い指を認める。

身体計測値に関する検討

対象症例 12 例

出生時体重 (平均±SD)

3292g±394g

出生時身長 (平均±SD)

49.4cm±2.6cm

出生時頭囲 (平均±SD)

32.3cm±1.1cm

D. 考 察

手指の *Dysmorphology* として種々のものが知られており、非特異的な特徴や複数の特徴の組み合わせによって、手指の形態がその先天異常症候群の診断に役立つ場合がある。例えば *Coffin-Lowry* 症候群の先細りの指は時に楓様の指とも称される特徴的なもので診断の確診につながる所見である。*Rubinstein-Taybi* 症候群の平らな指、へら状の指、*Russel-Silver* 症候群の第 5 指内彎短小、*Kabuki* 症候群の *Fingertip pad* と *DIP* 関節屈曲線の消失など、様々な診断の鍵となりうる手指の特徴がある。

今回の検討で *Mowat-Wilson* 症候群の手指の特徴として細い指が挙げられる。さらに本症に特徴的なのは、先細りではなく、むしろ *DIP* 関節と *PIP* 関節が目立つ竹のような指が全例にみられる。また多発奇形を伴う多くの染色体異常症や先天異常症候群で第 5 指の短小がみられるのに対して、*Mowat-Wilson* 症候群ではむしろ第 5 指の長さが目立つ症例がある。

先天異常症候群はその疾患毎に特徴的な成長の傾向を示すことが知られており、それが診断の手がかりとなり得る。例えば同じ低身長を特徴とする症候群の中でも、*Silver-Russel Syndrome* では出生前及び出生後の成長障害が特徴であるのに対して、*CFC* 症候群では出生時の計測値はほぼ標準であるがその後の成長障害のために低身長となる。また同じ低身長を呈する症候群の中でも、相対的大頭を伴うものとそうで無いものがあり臨床診断の鍵となりうる。

Mowat-Wilson 症候群は小頭症、成長障害 (低身長) を伴う症候群であるが、出生時の計測値は身長、体重、頭囲ともに標準値であることが示された。

今後さらに情報を集積して Mowat-Wilson 症候群の成長曲線の作成が望まれる。

E. 結論

Mowat-Wilson 症候群は、「節々の目立つ竹のような細長い指」「出生時は標準計測値」「生後の成長障害、小頭症、痩せ型の体型」が本症に特徴的な身体所見であり、顔貌の特徴と合わせて本症の形態学的診断の鍵となる所見である。

F. 研究発表

1. 論文発表

本年度、関連発表なし。

2. 学会発表

水野誠司、西恵理子、村松友佳子、若松延昭：

Mowat-Wilson 症候群の耳介形態. 日本先天異常学会学術集会（東京）2011.7.22.

Yamada Y, Yamada K, Mizuno S, Nishi E, Ishihara N,

Akimaru N, Urano M, Matsuda K, Okamoto N, Hiraki

Y, Wakamatsu N: Molecular analysis of *ZEB2*

responsible for the Mowat-Wilson syndrome.

International Congress of Human Genetics and Annual Meeting of the American Society of Human Genetics (Montreal, Canada) 2011.10.13.

山田裕一, 山田憲一郎, 水野誠司, 西恵理子, 石原尚子, 今高城治, 鈴木由香, 鮫島希代子, 秋丸憲子, 松田圭子, 岡本伸彦, 平木洋子, 若松延昭：
Mowat-Wilson 症候群における *ZEB2* 遺伝子解析.
日本人類遺伝学会／東アジア人類遺伝学会共同大会（千葉）2011.11.10.

G. 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

Mowat-Wilson 症候群患児の知的側面についての分析

研究分担者 齋藤加代子

東京女子医科大学附属遺伝子医療センター

研究要旨

Mowat-Wilson 症候群は特徴的な顔貌と顔頸部の所見、重度の精神発達遅で多くは有意語がない等の症状を呈する。

今回、我々は Mowat-Wilson 症候群の成長発達の中でも知的側面に関して調査を行った。いずれも重度の精神運動発達遅滞のレベルにあり、喃語のみの患児がほとんどであった。本分担研究では症例の知的側面の分析を行い、発達に伴う問題点とその対策に関して報告する。

共同研究者

浦野 真理

東京女子医科大学附属遺伝子医療センター

若松 延昭

愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所

A. 研究目的

Mowat-Wilson 症候群は若松らが眼間開離、離れた薄い眉毛などの特徴的顔貌、Hirschsprung 病、小頭症、精神遅滞、粘膜下口蓋裂、低身長等の患者において、*ZEB2* (*ZFH1B*) 遺伝子異常を報告した症候群である。

本研究では Mowat-Wilson 症候群の患児では重度の精神発達遅滞を伴うことが知られている。本研究では、知的発達について分析を行った。

B. 研究方法

対象は、本研究班で病因遺伝子である *ZEB2* の変異解析で診断が確立した症例のうち、発達検査を実施できた 12 例である。Mowat-Wilson 症候群の患児では表出言語が認められない児が多いため、通常年齢相当に用いられる知能検査では測定

できず、親への質問紙方式や非言語を用いた検査が実施された。実施された検査に基づき、発達指数 (DQ) を算定し、分析を行った。

C. 研究結果

12 例の発達検査の実施年齢は 1 歳 4 か月～9 歳 2 か月であった。その結果、DQ の平均は 27.75 であった。DQ の分布としては、DQ50～70（軽度発達遅滞）が 1 例、35～49（中度発達遅滞）は 3 例、20～34（重度発達遅滞）は 4 例、19 以下（最重度発達遅滞）は 4 例となっており、その分布は中等度の発達遅滞以下にあり、知能の低い側へ偏っていることが明らかになった。

D. 考察

以前より、Mowat-Wilson 症候群の患児では重度の精神発達遅滞を伴うことが知られていたが、発達指数をまとめてみると、数値では DQ8～53 まで幅はあったが、発達の遅れは全員に共通しており、その障害の程度は重度のレベルであることが追認された。

言語表出は喃語のみの患児がほとんどであり、

要求の表出は「泣く」という手段や指さしくらいまでの段階で、発達指数から推測される水準の言語コミュニケーションに相応していると考えられた。要求の表現としての言語がなく、表出手段が限られていることから、かんしゃくを起こしやすいと考えられ、周囲から見ると気分の波があるように思われる傾向に対して、親が児の訴えをうまくとらえられていないと感じることが多かった。そのため、日常生活での養育の難しさが窺われた。

また、本症候群は常染色体優性遺伝で片方の染色体のハプロ不全で発症するが、同じように NSD1 遺伝子のハプロ不全で起こる Sotos 症候群の知的側面との比較を試みた。Sotos 症候群では、本症候群と同様に、早期に運動発達の遅れが見られ、何らかの知的障害を有する患児が多いとされている。しかし、その程度は様々で、軽度から重度まで幅がある。多くの患児は言語表出に困難さを伴うが、有意語の表出が認められる児が少ない本症候群とはレベルが異なっていることがわかった。発達遅滞の程度は本症候群の児の方がより重く、日常生活において介助の必要性も大きいことが示唆された。

有意語の表出がないことが大人とのコミュニケーションを難しくしている一因でもあった。指さしや自分で行動できる児についてはまだ理解が可能であるが、「泣く」という手段でしか要求

をあらわせない児は、主な養育者である母親たちの不安につながるため、今後はサイン言語や絵カードを用いた表出の機会等の手段を取得できるように療育していく必要が感じられた。

E. 結 論

Mowat-Wilson 症候群の臨床症状を呈し、ZEB2 の変異解析で確定診断された症例の知的側面の分析を行った。有意語の表出できる児が稀で、喃語レベルがほとんどであった。このような臨床症状が明らかになることで、療育機関での児への言語交流に関する早期介入を実現することが望ましいと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

本年度、関連発表なし。

2. 学会発表

本年度、関連発表なし。

G. 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

FIM（Functional Independence Measure）による Mowat-Wilson 症候群の ADL 評価

研究分担者 黒澤 健司

神奈川県立こども医療センター 遺伝科

研究要旨

Mowat-Wilson 症候群は、精神遅滞、小頭症、てんかんなどの中枢神経症状と特異顔貌を特徴とする奇形症候群で、*ZEB2 (ZFHX1B)* 遺伝子のハプロ不全によって発症する。運動発達は、乳児期から遅れが目立ち、中等度から重度の発達遅滞を認める。行動特性としては、一般的には陽気で社会性があり、ひとなつこい性格を呈することが知られている。今回我々は、Mowat-Wilson 症候群の小児例を中心に FIM（Functional Independence Measure）による ADL 評価を試みた。セルフケア能力に比較して社会的認知能力は比較的点数を獲得し、この症候群で言われている社会性の豊かさなどの行動特性と連動する評価となった。今後、多症例での長期的評価が重要と考えられた。

共同研究者

平木 洋子

広島市こども療育センター

岡本 伸彦

大阪府立母子保健総合医療センター

A. 研究目的

Mowat-Wilson 症候群は若松らが眼間開離、離れた薄い眉毛などの特徴的顔貌、Hirschsprung 病、小頭症、精神遅滞、粘膜下口蓋裂、低身長 of の患者において、*ZEB2 (ZFHX1B)* 遺伝子異常を報告した症候群である。

本研究では Mowat-Wilson 症候群の病態を把握し、成長・発達に関する情報を収集し、まとめることで同症候群をもつ子どもたちへの医療・療育のありかた、長期的支援の有り方を検討する。また、知的発達について分析を行った。

B. 研究方法

対象は、臨床的に Mowat-Wilson 症候群と診断

がなされ、遺伝子解析により *ZEB2* の変異を確認した 6 例で、年齢は 2 歳 0 カ月から 12 歳まで（評価時）と幅が広がった。

評価方法は FIM（Functional Independence Measure）で、7 歳以下の場合には WeeFIM を考慮した。FIM の採点方法は、1-7 までの 7 段階に従い、1：全介助、2：最大介助、3：中等度介助、4：最小介助、5：監視・準備（口頭指導・助言）、6：修正自立、7：完全自立、で評価した。評価項目は、運動項目としてセルフケア（食事・整容・清拭・更衣（上半身）・更衣（下半身）・トイレ動作）、排泄コントロール（排尿管理・排便管理）、移乗（ベッド移乗・トイレ移乗・浴槽移乗）、移動（歩行・階段）、認知項目としてコミュニケーション（理解・表出）、社会的認知（社会的交流・問題解決・記憶）などとした。

（倫理面への配慮）

解析にあたっては全ての個人情報 は潜在化させた。

C, D. 研究結果と考察

6 症例の FIM 評価表を表 1 にまとめた。合計点では 19-53 と幅が大きかった。セルフケアでは、6 例中 5 例がほとんどの項目で 1 点であった。しかし、移乗では比較的点数が高い症例が見られ、動作に関しては比較的大きく、目的が明確な動作は獲得が達成されやすいことが推定された。また、コミュニケーションに関しても、セルフケアがほとんど達成されない症例でも比較的高い点数が計上され、状況の理解が習慣にしたがって獲得されやすいことが推測された。社会的認知も、セルフケアの低さに比較して、比較的高い点数が得られ、社会性の豊かさが今回の調査からもわかった。記憶においてはほぼ全例が 2 点以上の評価を得、日課・習慣の重要性が確認できた。

Evans ら (Evans et al., Am J Med Genet Part A 2012;158A:358-366.) は、Mowat-Wilson 症候群の行動特性として、常套動作や痛み刺激に対する反応の低さ、陽気な気質、人懐こさなどを挙げる一方で、情緒面の障害や歯ぎしりなどの口腔動作の異常などを指摘している。顔貌を含めた Angelman 症候群との共通性を述べているが、水への関心や笑い発作など明らかな違いがあることを強調している。今回解析した 6 例においても 1 例で乳児期に Angelman 症候群を疑われていた症例があったことは興味深い。

残念ながら、今回の評価では調査期間が短く、時間的経過による ADL の向上を定量評価することはできなかった。成人と異なった発達リハビリテーションという面では今後長期的な FIM 評価が課題と考えられた。また、同時にこうした評価と Genotype との相関関係も無視できないと思われる。さらに多症例での長期的評価が重要と考えられた。

E. 結論

FIM による Mowat-Wilson 症候群小児例の ADL 評価をおこなった。セルフケア能力に比較して社会的認知能力は比較的点数を獲得し、この症候群で言われている社会性の豊かさなどの行動特性と連動する評価となった。今後、多症例での長期的評価が重要と考えられた。

謝 辞

本研究の資料の一部は、神奈川県産科婦人科医学会の協力による神奈川県新生児特別地域保健事業によっている。先天異常モニタリング調査による研究の一部は、厚生労働科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業)「本邦における先天異常モニタリングの構築と外的・環境因子サーベイランスに関する研究(主任研究者 平原史樹)」(H19-子ども一般 007)によっている。

F. 研究発表

1. 論文発表

本年度、関連発表なし。

2. 学会発表

黒澤健司: 希少難病と小児病院遺伝科. 公開シンポジウム・成果発表会「難治性疾患の克服に向けて」(東京) 2011.7.10.

G. 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

FIM評価表

症 例		1	2	3	4	5	6
		7y4m男児	12y0m女児	7y10m 女児			
評価項目	食事	2	2	1	1	1	2
	セルフケア	整容	2	1	1	1	1
清拭		3	1	1	1	1	1
更衣・上半身		3	1	1	1	1	1
更衣・下半身		2	1	1	1	1	1
トイレ動作		2	1	1	1	1	1
排尿管理		1	1	1	1	1	1
排泄コントロール	排便管理	2	1	4	1	1	1
	移乗の対象						
移 乗	ベッド・椅子・車椅子	7	6	2	1	1	3
	トイレ	3	4	2	1	1	3
	浴槽・シャワー	3	2	1	1	1	3
	移乗の対象						
移 動	歩行	7	3	2	1	1	2
	車椅子	-	1	1	1	1	1
	おもな移動手段	歩行					
	階段	3	5	1	1	1	1
コミュニケーション	理解	4	4	3	1	1	1
	理解の手段				視覚	視覚	
	表出	1	2	1	1	1	1
	表出の手段	音声	音声	音声		音声	
社会的認知	社会的交流	4	2	6	1	1	2
	問題解決	1	1	1	1	1	1
	記憶	3	2	2	1	2	2
合 計 点		53	41	33	19	20	29

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

モワット・ウィルソン症候群の患者・家族会の設立の支援

研究分担者 小崎 里華

国立成育医療研究センター 遺伝診療科

研究要旨

本研究の今年度の目的は、従来報告されているモワット・ウィルソン(Mowat-Wilson)症候群の症状とわが国の症例の症状スペクトラムを比較検討し、成長発達に伴う問題点を明らかにし、その対策に関する研究を行うことである。

本年度は、本疾患の患者・家族会の設立にむけて、医療者の取り組み・サポートを行ったことを報告する。わが国の医療・療育機関に対する本疾患の周知を図ることにより、早期介入、療育の開始など慢性難治疾患としての対策を講じうると期待される。

A. 研究目的

モワット・ウィルソン症候群（Mowat-Wilson症候群；MWS）は、重度精神遅滞、特異な顔貌、小頭症を主徴とする先天性多発奇形症候群である。無神経節性巨大結腸症や先天性心疾患などの内臓奇形を伴うこともある。比較的、新しい疾患の稀少疾患であることから、疾患情報が少ないのが現状である。そのため、患者・家族はほとんど疾患情報の入手が困難となり、疾患を理解することが難しい。また、社会の認知も乏しいため、周囲からの理解や協力も得にくく、家族は孤立し、育児不安の原因となりうる。今回、患者家族への均一的な提供ができるような組織、併せて、心理・社会支援が可能となりうる当該疾患の患者・家族会のニーズを把握した。患者・家族会の設立によって、患者家族への均一は情報提供やわが国の医療・療育機関に対する本疾患の周知を図り、早期介入、療育の開始など慢性難治疾患としての対策を講じうることを目的とし、医療者の家族会の設立へ向けて、取り組み・サポートを行う。

B. 研究方法

昨年度、愛知県心身障害者コロニー中央病院で開催された MWS グループ外来（本研究班主催）に参加された患者・家族（東京在住）を対象に、家族会のニーズについて聞き取り調査を行った。その結果、家族会の設立に向け、前向きな意見がきかれた。

研究分担者からの呼びかけのもと、患者家族が自ら、資料検索、難病関連支援機関へ相談、学校関係者へ協力要請、患者家族へ連絡など、設立へむけて準備を開始した。

C. 研究結果

MWS 患児の数家族（東京在住）が、主治医の家族会設立への呼びかけに賛同した。1家族が中心となり、資料検索、「難病のこども支援全国ネットワーク」へ相談、学校関係者へ協力要請を開始した。また、同疾患の患者への呼びかけは、昨年度、開催された MWS グループ外来での参加者資料を参照した。

2011年11月、都内で、3家族（9名）が集まり、「モワット・ウィルソン症候群家族会」

(略称 MWS 家族会) 準備会ならびに第一回患者・家族会が開催された。当日、都合が悪く、参加不可能だった 2 家族があった。医療関係者の参加者 (オブザーバー) は、3 名で、当研究班の研究分担者ならびに患者の主治医らであった。

準備会では、当会の設立趣意、会則などが説明され、参加者からの同意が得られたため、引き続き、第 1 回患者・家族会が開催された。第 1 回では、会則の承認、役員を選出が行われた。今後の活動として、家族会 HP の作成・公開や、関連医療機関への広報活動、学会参加などについて議案された。

その後、患者・家族から、オブザーバーへ、医療・療育機関との連携、福祉医療・行政支援等について質疑応答があった。

2012 年 3 月に集会が予定されている。

D. 考 察

MWS は、重度精神遅滞、特異な顔貌、小頭症を主徴とする先天性多発奇形症候群である。無神経節性巨大結腸症や先天性心疾患などの内臓奇形を伴うこともある。原因遺伝子は 2 番染色体 q22 に位置する *ZEB2 (ZFHX1B)* である。根本的治療はなく、対症療法が主である。重度の精神運動発達遅滞を伴うため、医療機関の他に、療育機関・学校などの協力も児の発達支援において重要である。

本症候群の疾患概念が新しく、かつ稀少疾患であるため、国内では MWS の疾患情報の収集が困難であることから、疾患を理解することが難しい。原因遺伝子が本邦で同定されたにも関わらず、社会の認知も乏しいため、周囲からの理解や協力も得にくく、家族は孤立し、育児不安の原因となりうる。今回、患者家族への均一的な提供できるような組織、併せて、心理・社会支援が可能となりうる当該疾患の患者・家族会のニーズを把握したため、

家族会の設立の立ち上げを支援した。

患者・家族会は、いうまでもなく、当事者同士による相互援助 (ピアサポート) により、同じ立場であることから、感情を理解しあえるというメリットがある。患者・家族と医療者がお互いに尊重する姿勢すなわち「連携」をもって、「疾患克服」という共通の目的に向かって協同する場が「患者家族会」である。

一般に患者・家族会の目的は、共通の経験や困難を分かち合うこと、教育や研究推進、政策提言、権利擁護など多岐にわたる。今回、設立された家族会は「MWS についての社会への認知・理解の促進、患者・家族の交流範囲の拡大、情報収集・提供、社会支援システムの要請、治療へつながる研究の促進」を目的として組織された。詳細な計画はまだであり、社会情勢や科学の進歩により変更する可能性もあるが、現時点で、同じ気持ちをもつ同志が一堂に集結できたことは、大変に画期的であり喜ばしいことである。まさに、本事業による患者・家族への還元に値する本来の活動であると考え。より良い発達支援のために、今後の療育・教育機関において疾患の周知や情報提供を行い、併せて、心理・社会支援が可能になると考える。小さな組織からのスタートではあるが、当会の継続を期待し、支援を続けたい。

E. 結 論

MWS の患者・家族会の設立を支援した。今後、わが国の医療・療育機関に対する本疾患の周知を図ることにより、早期介入、療育の開始など慢性難治疾患としての対策を講じうると期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

本年度、関連発表なし。