

201128095B

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22-23年度 総合研究報告書

研究代表者 福嶋 義光

平成24（2012）年 5月

目 次

I. 総合研究報告

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

研究代表者： 福島義光（信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座・教授）

（資料1）事業の概要

（資料2）Wolf-Hirschhorn症候群 患者情報調査表

（資料3）ウォルフヒルシュホーン症候群患者22例のゲノムアレイ解析結果

（資料4）WHS患者以外の既知の染色体異常患者のゲノムアレイ解析結果

（資料5）原因不明の多発奇形/精神運動発達遅滞症候群患者のゲノムアレイ解析結果

（資料6）ゲノムアレイ解析結果をふまえたmetaphase FISH解析結果

（資料7）WHS患者15例の遺伝型・表現型結果

（資料8）GeneReviews Japanに掲載したウォルフヒルシュホーン症候群に関する情報

（資料9）2011年 4pモノソミー症候群集団外来 勉強会資料

II. 分担研究者ごとの研究のまとめ ----- 38

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 40

IV. 研究成果の刊行物, 等 ----- 43

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

研究要旨

本邦のウォルフヒルシュホーン症候群の出生率を、約31,000出生にひとり（1/17,000から1/100,000出生）と推定するとともに、遺伝型-表現型相関解析を行った。従来の報告と同様に、欠失サイズと身体合併症の頻度・重症度には大まかな相関が認められた。これらの情報は、新規患者の予後予測や合併症管理による医療水準向上、患者家族への遺伝カウンセリングに有用である。ゲノムアレイ解析は、ウォルフヒルシュホーン症候群のみならず、ゲノムコピー数異常を伴う原因不明の先天奇形症候群の確定診断に大変有用な検査である。ゲノムコピー数異常が検出された場合には、染色体再構成の確認のため、両親の解析を含め、適切なプローブを用いたmetaphase FISH解析が必要である。しかしながら、頻度が低く、確定診断が容易でないウォルフヒルシュホーン症候群を含むゲノムコピー数異常を伴う奇形症候群を、一般医療のなかで確定診断に結びつけるためには、欧米先進国ですでに普及しているゲノムアレイ解析（マイクロアレイ染色体検査）を臨床検査として導入できるよう体制を整備し、原因不明の先天奇形症候群患者に対して最初に実施する臨床検査とすることで稀少難治性疾患患者を正確に診断することが重要である。そして、早期のゲノムアレイ解析をその後の合併症管理等適切な医療提供につなげるためには、診断のついた患者・家族への継続的情報提供および支援も必要である。一方、ゲノムコピー数異常の臨床的評価には、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、および日本人のbenign CNV、の3点に留意して臨床的影響への評価を行う必要がある。さらなる症例の蓄積が重要である。精度の高い解析を進めるために、最新の分子遺伝学的解析に関する技術と知識に加え、従来の染色体核型分析技術と知識も有し、かつ結果を分子細胞遺伝学的に総合的に解釈することができる、細胞遺伝学の専門家を継続的に育成してゆくための教育体制もあわせて整備することが重要課題である。

研究分担者

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）
鳴海洋子（信州大学医学部・助教）
大橋博文（埼玉県立小児医療センター・科長兼部長）
川目 裕（お茶の水女子大学・教授）

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（Wolf-Hirschhorn syndrome, 4番染色体短腕欠失症候群, 4pモノソミー症候群; 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が、正確な発生頻度は明らかにされていない。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を確定診断につなげ、患者情報を蓄積し、わが国のWHSを含む各稀少先天奇形症候群の患者数を把握することである。特にWHSについては、遺伝型-表現型相関解析のデータを蓄積し、新規の症例に早期のゲノムアレイ解析を実施することが表現型の予測やけいれんを含む

合併症管理に有用な情報となり、各患者への医療水準向上につなげることをめざす。既知の染色体構造異常症例やゲノムコピー数異常が確認された診断未確定であった先天奇形症候群症例においても、関与する遺伝子や染色体再構成の詳細を明らかにすることで診断を確定し、特に合併症管理に役立て、患者のQOL向上につなげるとともに、患者家族に疾患への理解を促したり、再発リスクや予後を評価したりして遺伝カウンセリングに役立てる。さらにそれぞれの異常に関与する遺伝子について基礎研究が進めば、新たな治療法・予防法の開発に結びつくことも期待される。

ゲノムアレイ解析は医療負担の大きい診断未確定の先天奇形症候群患者の診断において極めて有用な検査であるが、本研究を通じ医療へ応用する際の具体的な留意点等を明らかにし、どのように利用することが有効な難病対策につながるかについての提言もめざす。

B. 研究方法 (資料1)

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、日本小児遺伝学会 Dysmorphologyのタベ実行委員会委員が所属する施設では、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ため、これらの施設などから、WHSと診断された症例および疑いのある症例、既知の染色体構造異常を有する症例、原因不明の先天奇形症候群症例、および協力の得られた親から試料を収集した。

②WHSの患者数把握

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する。各医療機関における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する。

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™) (Roche)を用いて、専用解析ソフトGenoglyphix®により、WHS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ことを考慮した上で、以下の3群について、解析を行った。

- 1) WHS患者
- 2) WHS以外の既知の染色体異常患者
- 3) 原因不明の多発奇形/精神遅滞症候群(MCA/MR syndrome)患者

患者に検出されたゲノムコピー数変化を、細胞遺伝学の専門家である担当者が、1) 患者の臨床症状と関連がある(clinically significant)、2) 患者の臨床症状との関連は不確定(unclear clinically significance)、3) 患者の臨床症状には影響していない可能性が高い(thought to be benign)、のいずれに相当するかについて、基本的に下記を基準として評価した。

主にゲノムコピー数変化領域に含まれる遺伝子とその機能、ゲノムコピー数の大きさ、および病気の原因とは直接関係のない多型(benign copy number

variations: bCNVs) として既存のデータベースに登録のある領域かどうかを考慮する。

「clinically significant」は、検出されたゲノムコピー数変化領域が、ISCAで病的変異である可能性が高い目安とした200kb以上のコピー数減少か400kb以上のコピー数増加であり、かつ、1) 既知の奇形症候群の責任領域として知られている、2) 臨床症状と関連するあるいは関連が示唆されるゲノムコピー数異常として Genoglyphix® や、公開されている Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources (DECIPHER*) や The International Standards for Cytogenomic Arrays (ISCA**) に登録されている、あるいは論文として複数の既報告がある、3) 臨床症状との関連が知られている責任遺伝子が座位している領域であることを確認した場合に評価した。

「thought to be benign」の評価は、1) 本研究に協力いただいた患者の親に実施したゲノムアレイ解析結果（現時点で日本人100例以上）を蓄積した一般成人のデータにおいて、異なる5家系以上に認められた同じコピー数変化である場合、2) 臨床症状のない親から伝達したことが判明した場合、3) コピー数変化領域の大きさがISCAで病的変異である可能性が低い目安とした200kb以下のコピー数減少か400kb以下のコピー数増加であり、かつ、a) 領域内に臨床症状と関連することが知られているあるいは関連が示唆される遺伝子が含まれておらず、かつ b) Genoglyphix®, ISCA, Database of Genomic Variants (DGV***) に bCNVs あるいは多型として登録されている領域と一致あるいはオーバーラップしている場合とした。

上記基準で「clinically significant」とも「thought to be benign」とも評価を確定できないゲノムコピー数異常については、「unclear clinically significance」と評価した。

<URL>

*DECIPHER: <http://decipher.sanger.ac.uk/>

**ISCA: <https://www.iscaconsortium.org/>

***DGV: <http://projects.tcag.ca/variation/>

④Metaphase FISH解析による染色体再構成の確認

ゲノムアレイ解析によってゲノムコピー数の変化が検出された症例のうち、染色体再構成の確認が可能かつ必要な症例と親について、順次、32k DNA cloneライブラリーから染色体再構成の確認に適したBAC cloneを選択してプローブとしFISH解析を実施している。

⑤WHS患者の遺伝型-表現型相関解析

2012年2月末までに解析し、ゲノムアレイ解析により4番染色体短腕欠失を確認した患者22例について、主治医宛にウォルフヒルシュホーン症候群として留意すべき臨床症状について詳細なアンケート調査を実施し、これまでに情報の得られた15例について遺伝型-表現型相関解析を実施した（資料2）。

⑥WHSについての情報提供と情報収集

1) 遺伝情報サイトであるGeneReviews Japan <<http://grj.umin.jp/>>にWHS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）を継続して掲載している。

2) 埼玉県立小児医療センターにおいて、2010年と2011年に、4pモノソミー症候群集団外来を開催し、勉強会において患者家族へ情報を提供した。

3) 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

⑦ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の詳細な解析

既知のゲノムコピー数異常症である22q11.2欠失症候群の臨床症状が認められたが、22q11.2の微細欠失が確認できない一例について、ゲノムアレイ解析を行った。

（倫理面への配慮）

信州大学の倫理委員会の承認を得た研究計画に基づき、主治医より患者家族からインフォームド・コンセントを得たうえで試料を採取した。説明の内容は、ゲノムアレイ解析の意義として、患者の症状に関する深い納得につながり、起きやすい合併症など経過に関する見通しが立ち、医療・療育にいかせる

こと、さらに家族にとって次子の再発率が正確に算出され家族計画に役立てられるということをなどが一方、不利益としては、詳細な診断により家族の心理的負担となる場合があること、意味が不明なコピー数異常が検出される場合があることなどである。また、解析を行う前に連結可能匿名化を行い、患者の情報と連結する対応表は管理担当医師が厳重に管理、遺伝子診断や遺伝カウンセリングに関するカルテは他のカルテとは異なった独立の鍵のかかる場所に保管すること、さらに遺伝子解析が終わった試料の扱いや、個人が誰であるかわからないようにした上で学会や学術雑誌およびデータベース上で公に発表される場合があること、いつでも研究協力の意思変更や遺伝カウンセリングをうけることができること、などについても伝え、同意を得た。

C. 研究結果

①解析対象症例の集積とサンプル収集

本研究により、2012年3月末までに、計264家系266名の先天奇形症候群患者〔WHS患者22例、WHS以外の既知の染色体異常患者58例、原因不明の多発奇形/精神遅滞(MCA/MR)患者186例〕、および計241名の患者の親の試料が収集された。

②WHS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。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ゲノムアレイ解析結果

1) WHS患者のゲノムアレイ解析結果(資料3)

WHS患者22例における男女比は4人:18人であり、4p欠失サイズ(Mb)は平均±SD=10.97±7.47Mbであった。同じ切断点(8.77Mb)を示した症例が3例あり、切断点近傍は嗅覚受容体遺伝子クラスターを含んだ座位であった。このうち1例は8番染色体の同座位との不均衡転座であり、過去にも繰り返している転座切断点であることが判明し

た。欠失の分類では、単純欠失18人(82%)、不均衡転座3人(14%)、派生4番染色体(腕間逆位に伴う)1人(5%)であった。単純欠失18人の分類では、端部欠失14人(68%)、中間部欠失3人(14%)となった。22例中21例は、4p端部から約1.8-1.9Mb領域に存在する約300-600kbのWHS責任領域(WHSCR)を含んだ欠失であったが、1例はこの領域を含まない中間部欠失であった。両親解析をさせた7例においては、de novoの6例はすべて単純欠失であり、不均衡転座der(4)t(4;8)の1例において母由来の均衡転座を認めた。また、従来法(G分染法)との比較においては、ゲノムアレイ解析で6Mbを超える欠失(6.92Mb~29,42Mb)を示した19例(73%)では先行するG分染法でも異常を認めたが、5Mb台以下(2.06Mb-5.49Mb)の症例ではG分染法では異常を認めなかった。

**WHS症例23は、解析が2012年3月以降となったため、研究分担者の大橋の分担研究報告書の遺伝型表現型相関解析の対象に加わっていない。*

2) WHS以外の既知の染色体異常患者(資料4)

既知の染色体異常58例についてゲノムアレイ解析を実施し、核型分析あるいはFISH解析にて検出されていた構造異常部位の詳細を確認した。低頻度モザイクの1例以外はすべて、ゲノムアレイ解析により不均衡型構造異常染色体のゲノムコピー数異常の詳細を特定できた。そのうち7例は、従来の核型分析では確定できない複雑な染色体再構成を示唆する結果が得られた。均衡型構造異常と考えられていた症例のうち、2例に転座に伴うと考えられたゲノムコピー数減少を、さらにうち1例は別の領域のゲノムコピー数増加も伴っていたことを確認した。

3) 原因不明の多発奇形/精神遅滞症候群(MCA/MR syndrome)(資料5)

原因不明の先天奇形症候群188例についてゲノムアレイ解析を実施した。臨床的影響が明らかでないゲノムコピー数異常が多数検出されるため、結果の解釈に親のゲノムアレイ解析などを追加実施し、検証を進めている。31/188例(16.5%)に臨床的に明らかに影響を及ぼすと考えられるゲノムコピー数異常を認めた。そのうち2例に、複数の染色体に独立したゲノムコピー数異常を検出した。今後さらに、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、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。

患者に検出された臨床的意義の不明なゲノムコピー数異常の評価を主な目的として実施した、これまでに解析した患者の両親（一般成人）100名を対象としたゲノムアレイ解析で、常染色体上にひとり0～9個、平均3.8個のゲノムコピー数変化（copy number change: CNC）が検出された。そのうち、約7割が集計時点で1名のみのCNCで、増減を認めたゲノムのサイズは約37kb～187kbであった。Referenceの違いにより差のあるCNC領域もあった。臨床的影響がない領域と考えられるにも関わらず、ほとんどの領域が既知の遺伝子を含んで、あるいはオーバーラップしていた。DGVやISCAなどの公開されているゲノムコピー数データベースに登録されていない、日本人特有と考えられるCNCもあった。

我々の解析条件でこれまでに解析した患者の親（一般成人）100名のゲノムアレイ解析において、異なる家系の5名以上に共通した以下の計18ヶ所：1q44 (37kb), 5q35.3 (190kb), 6p25.3 (110kb), 7p22.3 (26kb), 7q36.2 (122kb), 8p23.2 (244kb), 8p23.2 (2.2Mb), 8p11.23 (125kb), 8p11.1 (257kb), 8q11.1 (264kb), 10q11.22 (168kb), 10q26.3 (150kb), 12p13.31 (107kb), 12q24.11 (142kb), 16p12.1 (76kb), 19p12 (81/97kb), Xp22.33 (102kb), Xq28 (103kb) のゲノムコピー数変化領域を、現時点での当研究室における確実なbenign CNVs (bCNVs)と考えた。最も大きかったのは8p23.2に認めた2.2Mbであった。200kb以上のゲノムコピー数減少（染色体欠失）、あるいは400kb以上のゲノムコピー数増加（染色体重複）は患者の臨床症状に影響している可能性が高いと考えられているが、本研究の一般成人の解析結果において、単独の検出も含めると200kb以上のゲノムコピー数減少が10領域、400kb以上のゲノムコピー数増加が8領域に検出されたことは、まだまだ一般成人のデータ蓄積が必要と考えられた。

患者に1Mb以上のOMIM geneを含むゲノムコピー数変化が検出され、公開データベースにbCNVsの登録もないため、当初病的変異を疑ったが、その後実施した症状のない両親の追加解析で、片親が同じ変化を有していることが確認された領域も複数あり、評価には両親の解析が重要で、さらに日本人のCNVsに関する正確な情報をさらに蓄積してゆくことの必要性が強く示唆された。

④Metaphase FISH解析による染色体再構成の確認

1) WHS患者

4番染色体短腕欠失とともに10番染色体長腕端部にゲノムコピー数増加を認めた症例が2例あったが、1例のゲノムコピー数増加は追加metaphase FISH解析および両親のゲノムアレイ解析により臨床的に影響のないbCNVであることを確認した（資料3）。

さらに4番染色体短腕端部欠失を含む構造異常のモザイクであることが確認できた2症例を示す（資料6）。

<資料2-WHS症例20>

G分染法で端部欠失を指摘されていたが、ゲノムアレイ解析で4番染色体短腕端部欠失に加え、11番染色体長腕端部のゲノムコピー数増加を認めた。しかしながら、11番染色体長腕端部のゲノムコピー数増加は通常欠失で認められるアレイプロットのlog ratioより低いことに気づいた。4番染色体短腕端部と11番染色体長腕端部に座位するプローブを用いたmetaphase FISH解析により、4番染色体短腕端部欠失のみの染色体構成の細胞と、欠失のある4番染色体に11番染色体長腕端部が不均衡型転座している染色体構成を有する細胞とのモザイクであることが確認された。

<資料2-WHS症例23>

G分染法で正常核型と中間部欠失のモザイクを指摘されていたが、ゲノムアレイ解析結果は端部欠失パターンであり、しかもモザイクを疑わせる所見はなかった。しかし、欠失領域の遠位部と近位部切断点付近に座位するプローブを用いたmetaphase FISH解析により、主となる染色体構成は12Mb程度の4番短腕の端部欠失であり、正常核型とおもわれていた頻度の少ない染色体構成の細胞は2.5Mb程度の4番短腕の端部欠失と確認された。

2) WHS以外の既知の染色体構造異常患者

既知の染色体異常症例のうち、由来不明の過剰マーカー染色体を有していた症例のうち4症例は、ゲノムアレイ解析後のmetaphase FISH解析により、マーカー染色体がゲノムアレイ解析でコピー数増加が検出されていた染色体領域から構成されていることを検証できた。

ゲノムコピー数異常が確認された症例で、これまでにmetaphase FISH解析による染色体再構成の確認を終えた症例のうち7例は、従来の核型分析では確定できない複雑な染色体再構成であったことをmetaphase FISH法を実施したことにより明らかにできた。

ある染色体の端部に他染色体端部が転座している

派生染色体において、派生染色体の端部にゲノムコピー数減少が確認できなかった症例が2例あった。染色体端部欠失は通常de novoであるが、ゲノムアレイ解析においても端部欠失を示唆する結果であった1家系の患者の片親に、metaphase FISH解析で患者の欠失領域が端部着糸型染色体短腕サテライト部位に均衡型転座していることを確認した。

3) 原因不明の多発奇形/精神遅滞症候群 (MCA/MR syndrome)

通常の染色体検査では異常は認めなかったが、ゲノムアレイ解析で、7番染色体長腕端部のコピー数増加と、13番染色体長腕端部のコピー数減少を合併していた。G分染法で確認できない潜在性の微細構造異常の可能性が示唆された。長腕端部欠失した13番に7番染色体長腕端部が転座した不均衡型構造異常である可能性を考慮し、metaphase FISH法の準備を進めるとともに、もしそうであれば両親のいずれかが均衡型転座保因者である可能性があるため、主治医を通じて両親の染色体検査を勧められている。

⑤WHS 臨床所見と欠失サイズとの関連

前述した解析例 22 例のうち詳細な臨床症状を調査しえた 15 例の結果につき、資料 7 に示した。欠失サイズにより、分類 1 : G分染法で診断困難な小さい欠失サイズ (~5Mb)、分類 2 : 一般的な欠失サイズ(6~15Mb)、分類 3 : 大きな欠失サイズ(16Mb~) の 3 群に便宜的に分類し、各欠失サイズにおける主な身体合併症や、けいれんを中心とした神経合併症の状況を調べた。

成長(身長・体重)においては欠失サイズによる明らかな差異は認めなかった。栄養摂取法においては、分類 1 では経口摂取が中心であったのに対し、分類 2 においてはチューブ栄養の割合が増加し、分類 3 では 3 例中 1 例がチューブ栄養、2 例で胃瘻の増設が必要であり、欠失サイズの増加に伴い補助が必要な傾向が認められた。主な身体合併症においては、心疾患については従来の報告よりその頻度が高く 13/15(87%)、その内訳はほとんどが心房中隔欠損症(ASD)や動脈管開存症(PDA)など、経過観察可能な比較的軽症例がほとんどあり、欠失サイズによる頻度、重症度による差異は認めなかった。

一方、口唇口蓋裂、腎泌尿器合併症、眼合併症、難聴などにおいては、欠失サイズの増加と共にその頻度が増加傾向となっていた。また分類 3 においては、腎の形態異常を示した 3 例中全員が腎不全となっており、また 3 例中 2 例で眼コロボーマをきたす

など、欠失サイズの大きな例では、合併症の重症度も高くなる傾向があった。その他、高コレステロールを合併する症例が比較的多いこと、稀な合併症として症例 2 における多発性骨軟骨腫や症例 17 における矢状縫合早期癒合症が認められた。

神経所見においては、けいれんのない 1 例は調査時 7 ヶ月であり評価困難であったため除外し、残り 14 例中 12 例(86%)にけいれんを認めた。またけいれん出現 12 例中 10 例(83%)と高率に重積もしくは群発を認めた。初発年齢は、分類 2 と分類 3 においてはほとんどが乳児期発症(2 ヶ月~14 ヶ月)であったが、欠失サイズが小さい分類 1 における発症年齢は 2 歳台と遅く、重積、群発は認めなかった。またけいれんを認めなかった 2 例では、1 例が 6 歳で欠失サイズが最少の 2.06Mb、もう一例では 12 歳であり、欠失サイズは 8.85Mb と平均的な大きさであったが、4p 端部の約 1.4Mb は保たれている中間部欠失であった。また治療においては全例多剤併用において対応されていたが、3 歳前後を境に軽快する例が多くみられた。近年その有用性が報告されている臭化ナトリウム/カリウム(Na/KBr)においては今回の調査においても有用な例が複数認められた。

⑥WHS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 WHS を含む多くの稀少難治性疾患に関する最新情報(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)を継続して掲載している。昨年、WHS についての記載を翻訳・改訂したのに引き続き、本年度、ゲノムコピー数異常を伴う可能性のある遺伝性疾患も複数追加掲載した(資料 8)。

2) 埼玉県立小児医療センターにおいて 4p モノソミー集団外来を開催し、勉強会を開催した。すでに診断されている 12 名のうち 9 名の患者・家族が集まった。医療者からは継続支援の一環として最新情報を提供でき、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用であった。

3) 系統的レビューのための文献検索

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。今後、詳細に解析し、逐次、患者・家族・医療者向けに情報提供を行う予定である。

⑦ゲノムコピー数異常を伴う先天奇形症候群の詳細な解析

22q11.2欠失症候群において、通常のFISH法にて欠失が見いだせない症例が、約5%に認められる。それらのFISH検査にて欠失を認めなかった症例について、ゲノムコピー数異常の検討をおこなった。今回、2q33.1領域のゲノムコピー数異常を異常が認められ、その領域内の遺伝子、および近縁の報告例より、表現型の原因と判明し診断が確定された。22q11.2欠失症候群の鑑別疾患として、特にovertな口蓋裂と有意な遅れを認める場合には、2q33.1微細欠失症候群を考える必要があり、22q11.2欠失症候群の鑑別症候群として重要な疾患であることが判明した。ゲノムコピー数の解析は、従来の先天奇形症候群の鑑別診断にも有用であることが確認された。

D. 考察

多くの染色体異常症や先天奇形症候群患者が定期的フォローアップのために受診している全国の小児遺伝医療の中核的専門施設における WHS 患者数とダウン症候群患者数の比から、WHS の出生率は、約 31,000 出生にひとりであり、毎年 35 名程度の WHS 患者がわが国では生まれていると推定される。

ウォルフヒルシュホーン症候群を含む先天奇形症候群の診断は、主治医の主観的判断によるところが大きく、また、通常の染色体検査で検出できるのは、5~10Mb以上のゲノムの変化がなければ検出することができないため、一部の小児科臨床遺伝専門医が在職する以外の施設における診断精度は低く、確定診断がなされないままの症例が数多く存在していることが想定される。本研究では、主に高度な奇形症候群の診断能力を有する専門医の在職する施設から症例を収集したため、多くの症例は特異顔貌等の特徴により、G分染法による染色体検査を依頼する際に本疾患を疑っていることを検査側に伝えていることから、5Mb程度の欠失でも検出できた症例があり、さらにG分染法で異常を検出されなかった場合は、4番染色体短腕のサブテロメアFISH解析により診断を確定していたため、非常に欠失範囲が小さい WHS も多く登録されたと考えられた。一方、今回、臨床遺伝を専門としない医師からウォルフヒルシュホーン症候群疑いで送付された1症例を含む原因不明のMCA/MR患者として収集された患者187名のゲノムアレイ解析では、4番染色体短腕欠失は検出されなかった。G分染法による核型分析では、疑われる疾患を伝えられていない場合には、10Mb程度の欠失があっても見逃されてしまう場合があることを考えると、本研究で現在までに収集したウォルフヒルシュホーン症候群の約半数は10Mbより小さい欠失なので、確定診断されていないWHS症例がまだまだ

いると考えられた。特定の疾患を疑わなくても全ゲノムのコピー数異常を検出できるゲノムアレイ解析が普及すれば、確定診断される症例が増えることが予想され、これまで想定されていた頻度より高くなることも想像できる。

また、ゲノムアレイ解析を行うことにより、他の微細欠失症候群と異なり、WHSにおいては、共通の構造異常を来しやすいホットスポットが存在しないことが明らかにされた点は細胞遺伝学的に興味深い。

本研究で現在までに収集した、日本人WHS22例（臨床調査は15例）の遺伝型・表現型の検討からは、従来の報告 [Zollino et al., 2008] と同様に、欠失サイズと身体合併症の頻度・重症度には大まかな相関が認められた。けいれんの重症度に関しては、特に5Mb以下の欠失例では軽度な傾向であった。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。これらの情報の蓄積は、今後、新規のWHS患者に対して早期にゲノムアレイ解析を実施することにより、表現型の予測や、けいれんを含む合併症管理等の患者のQOL向上につなげる医療を提供するために有用であり、さらなる症例の蓄積が有用と考えられた。

ゲノムアレイ解析は、WHSの診断のみならず、先天奇形症候群の診断目的に実施されたG分染法あるいはFISH法で染色体構造異常が判明していた患者のゲノムコピー数異常領域の詳細な特定と染色体再構成の確認にも大変有用であった。また、通常の染色体検査で異常を特定できなかった原因不明の先天奇形症候群症例に実施したゲノムアレイ解析では、その約1割に臨床症状と明らかに関連すると考えられる微細なゲノムコピー数異常が検出できた。さらに、確定的な検証まではできていないものの、現時点の情報から臨床症状との関連がきわめて高いと考えられるゲノムコピー数異常もやはり約1割程度検出されている。原因不明の先天奇形症候群症例のなかには、現時点で解析法の確立した類似の症状の一部を有する遺伝性疾患を疑い複数の遺伝子をターゲットとした遺伝学的検査を実施したものの変異が特定されていない症例も複数含まれていた。

原因不明の先天奇形症候群症例に対してゲノムアレイ解析を実施することは、確定診断できた場合には、過去の類似症例との比較等により、患者の将来予測についての情報を得たり、合併症への早期対応を促したりすることによる、両親の不安の軽減に繋がるのみならず、ゲノムコピー数異常の原因が親由来のもので次子も同様の状態になる可能性があるものかを、de novoによるもので次子には影響を与えな

いものかを明確にすることは、de novoであることが確認できれば、やはり両親の不安の軽減や、次子の挙児へのモチベーションにつなげることを期待される。

なお、ゲノムアレイ解析後、適切なプローブを用いたmetaphase FISH解析による染色体再構成の確認は、上述のde novoかどうかの確認には必須であることを強調したい。ゲノムアレイ解析結果が、通常、de novoと考えられている端部欠失のパターンであっても、ヒトのゲノムにはコピー数異常の解析のできない領域が存在し、それらの領域が関与する染色体再構成があるため、特に次子のリスクの評価が必要な遺伝カウンセリングのためには、本人と両親についてmetaphase FISH解析により染色体再構成の確認をすることが欠かせない。また、由来不明の過剰マーカー染色体の同定や、ゲノムコピー数増加が検出された領域がどのような染色体再構成によるものかの確認のためにもmetaphase FISH解析は必須である。さらに、染色体構造異常が判明していた症例のゲノムコピー数異常領域の特定後に実施したmetaphase FISH解析により、これまで考えられていた以上に複雑な染色体構造異常が、想定されていたより高い頻度で起きていることが明らかにされ、今後、さらなる症例の蓄積により、染色体構造異常発生のメカニズム解明といった基礎研究の推進にも役立つことが期待される。

WHS に関する情報提供としては、昨年度に引き続き、遺伝情報サイト GeneReviews Japan に継続して最新情報を掲載するほか、系統的レビューのための文献検索を行い、計 82 件の論文を検索することができたので、今後引き続き患者・家族・医療者向けに情報提供を行う予定である。

E. 結論

本研究により今後、わが国でゲノムアレイ解析を臨床応用することの意義と、解析を実施する際の留意点を示すことができたと考えられる。欧米ではすでに開始されているが、わが国においても、原因不明の先天奇形症候群の診断のために、最初に実施すべきスクリーニング検査として全ゲノムの微細なコピー数異常の検出が可能なゲノムアレイ解析を実施することと、そのための体制整備の必要性を提唱したい。現時点では解析可能な遺伝性疾患も限られていることもあり、原因不明の先天奇形症候群症例に対しては、確定診断目的というよりやむを得ず否定のために実施されている遺伝学的検査も少なくないと考えられるため、診断を確定するまでに必要な検査全体の費用削減につながることも期待される。

一方、既知の染色体異常症におけるトリソミー型か転座型かを識別するための核型分析や、ゲノムコピー数異常を伴わない均衡型構造異常の特定のためのみならず、ゲノムコピー数異常に伴う染色体再構成の確認のためにも、今後も核型分析技術は必要である。

ゲノムコピー数異常の適切な臨床的評価には、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、および日本人のbenign CNVを除外したうえで病気の原因とは直接関係のないCNCかどうか、の3点に留意して評価する必要がある。検出されるゲノムコピー数の変化の結果解釈は単純ではなく、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。

欧米先進国並みのゲノムアレイ解析（マイクロアレイ染色体検査）を臨床検査として実施する体制としては、稀少疾患患者の解析結果を集められるよう、全国規模で精度の高い検査を担う実施施設を定めるとともに、その施設で染色体分析技術を有する臨床細胞遺伝学の専門家を継続的に育成してゆくための教育体制もあわせて整備することが重要と考える。

F. 研究発表

1. 論文発表

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

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.
- Narumi Y, Shiohara M, Wakui K, Hama A, Kojima S, Yoshikawa K, Amano Y, Kosho T, Fukushima Y: Myelodysplastic syndrome in a child with 15q24 deletion syndrome. *Am J Med Genet Part A* 158A: 412-416, 2011
- 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, Saito 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.
- 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
- 涌井敬子, 福嶋義光：I. 染色体検査・遺伝子関連検査総論, II. 染色体検査（第13章）. 「臨床検査法提要 改訂第33版」（監修：金井正光）. 金原出版 pp.1113-1164, 2010
- 福嶋義光：ミラー・ディーカー症候群. 症候群ハンドブック（井村裕夫総編集）. 中山書店. p.611, 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 2010年増刊号 小児の治療指針. 906-909, 2010（4月30日）.
2. 学会発表
- 涌井敬子, 古庄知己, 鳴海洋子, 福嶋義光：分染法にて構造異常が判明した症例への Cytogenetic Array 解析をきっかけとして確認された複雑染色体構造異常. 日本人類遺伝学会第55回大会, さいたま, 2010
- 涌井敬子, 古庄知己, 高田史男, 福嶋義光. 染色体端部欠失患者の両親のメタフェーズ解析の必要性—染色体端部欠失パターンを示す患者の親に認めた均衡型構造異常からの考察—. 第34回日本小児遺伝学会学術集会, 横浜, 2011
- 鳴海洋子, 古庄知己, 福山哲広, 西村貴文, 松浦宏樹, 涌井敬子, 福嶋義光. 13番長腕中間部欠失症候群の1例. 第34回日本小児遺伝学会学術集会, 横浜, 2011
- 涌井敬子, 古庄知己, 鳴海洋子, 清水健司, 大橋博文, 福嶋義光. Cytogenetic Array 解析により検出された一般成人のゲノムコピー数変化. 遺伝医学合同学術集会 2011（第35回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 第18回日本遺伝子診療学会大会, 第17回日本家族性腫瘍学会学術集会）, 京都, 2011
- 涌井敬子, 古庄知己, 鳴海洋子, 大橋博文, 清水健司, 岡本伸彦, 水野誠司, 黒澤健司, 高田史男, 川目裕, 福嶋義光. 染色体構造異常およびMCA/MR患者を対象としたマイクロアレイ染色体検査と metaphase FISH 法による臨床細胞遺伝学的解析結果, 日本人類遺伝学会第56回大会, 千葉, 2011

清水健司, 黒田友紀子, 糸見和也, 服部重人, 西尾公男, 水野誠司, 岡本伸彦, 川目裕, 鳴海洋子, 古庄知己, 涌井敬子, 大橋博文, 福嶋義光. マイクロアレイ染色体検査による Wolf-Hirschhorn 症候群 22 例の遺伝型-表現型相関解析, 日本人類遺伝学会第 56 回大会, 千葉, 2011

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

資料1 事業の概要

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

H21年度

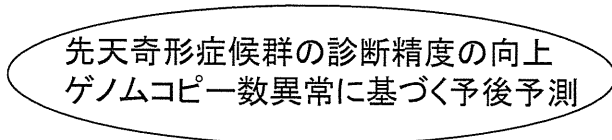
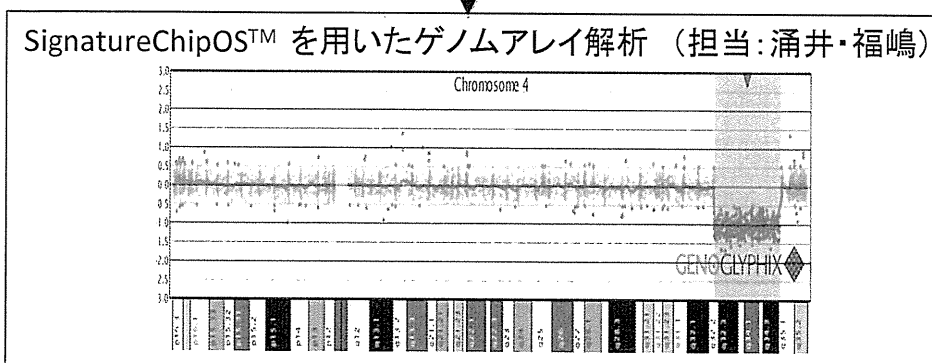
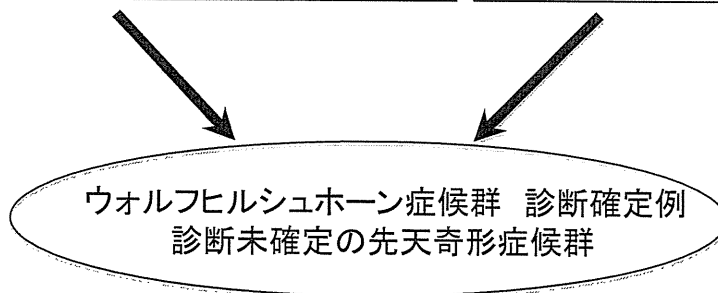
- ・ 解析システムの確立
- ・ 埼玉県と長野県の症例収集と解析

H22・23年度

- ・ 全国の症例を収集・解析

信州大学遺伝子診療部 (福嶋・古庄・鳴海)
長野・こども病院遺伝科 (古庄)
埼玉・小児医療センター遺伝科 (大橋)

日本小児遺伝学会を通じて、
全国の先天奇形症候群の
専門家に協力を依頼(川目)



ウォルフヒルシュホーン症候群を含む先天奇形症候群の医療・ケアの質的向上

Wolf-Hirschhorn症候群 患者情報調査表

所属施設名:

匿名化番号(信州大学解析番号): SUMA

Clinical features of WHS

項目 _____ 所見 _____

生年月日 _____ 西暦 _____ 年 _____ 月 _____ 日

最終診察年齢 / 性別 _____ 歳 _____ ヶ月 / 男・女

出生時

在胎週数 _____

出生体重 (g) _____

出生身長 (cm) _____

頭囲 (cm) _____

最終診察時の計測値

体重(g) _____

身長(cm) _____

頭囲 (cm) _____

Feeding

哺乳・摂食障害(有の場合以下へ) _____ 有 ・ 無

胃ろう _____ 有(開始: _____ 終了 _____)・無

チューブ栄養 _____ 有(開始: _____ 終了 _____)・無

経口摂取開始時期 _____

チューブ・胃ろうの理由 (GER、消化管合併症等) _____

Craniofacial(+ or -で記載)

microcephaly _____

craniofacial assymetry _____

Greek warrior helmet apearence _____

high forehead _____

prominent glabella _____

prominent eyes _____

epicanthus _____

eyelid ptosis _____

malformed ears _____

preauricular tag/pit _____

short philtrum _____

downturned corners of mouth _____

micrognathia _____

精神発達遅滞 _____ 重度 ・ 中等度 ・ 軽度 [IQ (DQ): _____ 歳 _____ ヶ月時施行]

言語発達・ADL(自由記載) _____

粗大運動 (years, months)

定頸 _____

座位 _____

伝え歩き _____

独歩 _____

continued

項目	所見
けいれん発作	有 ・ 無
初発年齢(月齢)	
発作型 (発熱の有無、部分・全般、 強直・間代、Westなど)	発熱(有 ・ 無)[]
重積(30分以上、反復、意識障害) の有無と発症時期・経過	有() ・ 無
最終発作年齢	
脳波異常	有() ・ 無
投薬内容	
発作のコントロール状況	
他神経所見	
筋緊張低下	有() ・ 無
脳奇形 (画像評価)	有() ・ 無
眼科所見(斜視、屈折異常など)	有() ・ 無
難聴	有(ABR rt. dB/lt. dB) ・ 無
口唇・口蓋裂	有() ・ 無
先天性心疾患	有() ・ 無
骨格所見	
内反足	有() ・ 無
側彎・後彎	有() ・ 無
椎体異常	有() ・ 無
others	
腎・泌尿器	
腎異形成・低形成	有() ・ 無
腎不全	有() ・ 無
膀胱尿管逆流	有() ・ 無
停留精巣(male)	有() ・ 無
尿道下裂(male)	有() ・ 無
others	
Cytogenetic tests	
G-banding, FISH	
array results	

注)評価できている場合は有か無に必ず○をしてください。有の場合()内に具体的内容わかれば記載をお願いします

上記以外の合併症や特記すべき所見あれば記載をお願いします

資料3 WHS患者 22 症例のゲノムアレイ解析結果

WHS 症例	性別	4 番染色体短腕のゲノムアレイ結果			4 番染色体短腕以外に検出した 他染色体端部のゲノムコピー 数増加領域 [サイズ]	4 番染色体構造異常の種類
		欠失バンド	欠失範囲	欠失サイズ[Mb]		
1	F	4p16.3	63075-2061942	2.06	10q26.3(ter) :134481006-135253240 [0.8 Mb]	unbalanced translocation
3	F	4p16.3	63075-2934119	2.93	4q31.22-q35.2(ter) :14557372 9-191133858 [45.6 Mb]	rearranged
4	F	4p16.3-4p16.2	63075-3453423	3.45		terminal deletion
5	F	4p16.3-4p16.1	63075-5259705	5.26		terminal deletion
6	F	4p16.3-4p16.1	33860-5488869	5.49		terminal deletion
7	F	4p16.3-4p16.1	33860-6920095	6.92		terminal deletion
8	M	4p16.3-4p16.1	63075-7509074	7.51		terminal deletion
9	F	4p16.3-4p16.1	63075-8089462	8.09		terminal deletion
10	M	4p16.3-4p16.1	63075-8772114	8.77		terminal deletion
11	F	4p16.3-4p16.1	33860-8772114	8.77	8p23.3-p23.1(ter): 192262-6907722 [2.03 Mb]	unbalanced translocation
12	F	4p16.3-4p16.1	33860-8772114	8.77		terminal deletion
13	F	4p16.3-4p16.1	1370178-10219850	8.85		interstitial deletion
14	F	4p16.3-4p15.33	63075-11105238	11.11		terminal deletion
23	M	4p16.3-4p15.33	33860-12006591	12.01		mos terminal deletion * confirmed by metaphase FISH
15	F	4p16.3-4p15.33	33860-12331994	12.33		terminal deletion
16	F	4p16.3-4p15.33	841095-14467735	13.63		interstitial deletion
17	F	4p16.3-4p15	63075-15700625	15.70		terminal deletion
18	M	4p16.1-4p15.32	5776985-17810150	12.03		interstitial deletion
19	F	4p16.3-4p15.31	63075-18616970	18.62		terminal deletion
20	F	4p16.3-4p15.31	63075-20992651	21.00	11q25(ter): 133160796-134434130 [1.3 Mb]	mos terminal deletion/ unbalanced translocation * confirmed by metaphase FISH
21	F	4p16.3-4p15.1	33860-28348051	28.35		terminal deletion
22	M	4p16.3-4p15.1	63075-29416450	29.42		terminal deletion

資料4 WHS患者以外の既知の染色体異常患者のゲノムアレイ解析結果

症例	既知の染色体異常	分類	アレイ解析により判明した ゲノムコピー数異常	ゲノムアレイ解析の効果・限界
1	t(1;16)(p36.3;p11.2)	b	gain 16qter [2.3Mb]	独立した別領域の新規異常疑い
2	add(1)(q42)	ub	loss 1qter [8.2Mb]	欠失範囲詳細同定
3	der(1)(pter->q44::q44->q41:)	ub	gain 1q41-1q44 [30.2Mb]	複雑構造異常
			loss 1qter [0.7Mb]	
4	inv(2)(p23q33)dn	b		ゲノム量的均衡確認
5	del(2)(q14q21)	ub	loss 2q14-q21 [13Mb]	欠失範囲詳細同定
6	add(2)(q37.3)	ub	gain 2q35-q37.2 [18.9Mb]	複雑構造異常
			loss 2qter [6.2Mb]	
7	add(2)(q35)	ub	loss 2qter [10Mb]	欠失範囲詳細同定
8	add(2q)	ub	loss 2q35-q36.3 [8.4Mb]	欠失範囲詳細同定
9	add(2)(q37.3)	ub	loss 2qter [2.3Mb],	欠失範囲詳細同定、過剰部分由来・詳細同定
			gain 12qter [32.9Mb]	
10	del(4)(q34)	ub	loss 4q34 [8.8Mb]	欠失範囲詳細同定
11	add(5)(p15.3)	ub	loss 5pter [2.4Mb],	欠失範囲詳細同定、 過剰部分由来・詳細同定
			gain 12pter [28Mb]	
12	del(5)(p14)	ub	loss 5pter [21.4Mb]	欠失範囲詳細同定
13	del(5)(p15.1)	ub	loss 5pter [18Mb]	欠失範囲詳細同定
14	?dup(5)(q13.1q13.2)	ub	gain 5q31.2-5q32 [7.7Mb],	重複範囲詳細同定 独立した別領域の新規異常疑い
			loss 7p11.2 [872kb]	
15	del(6)(q16.2q22.2)	ub	loss 6q16-q21 [15Mb]	欠失範囲詳細同定
16	del(6)(p25)	ub	loss 6pter [7.4Mb],	欠失範囲詳細同定、 不均衡型転座 or bCNV?
			gain 10qter [170kb *bCNV?]	
17	t(6;15)(q22.3;q21.3)	b		ゲノム量的均衡確認
18	mos add(7)(q36) *70%	m_ub	gain 7qter [13.4Mb]	重複範囲詳細同定
19	t(7;10)(q31.3;q23.2)	b	loss 7q31 [4.3Mb]	*転座切断点の微細欠失疑い。
20	add(7)(q36)	ub	gain 5pter [24.7Mb],	欠失範囲詳細同定、 過剰部分由来・詳細同定
			loss 7qter [5.0Mb]	
21	der(9)t(4;9)(p15;p23)	ub	gain 4pter [25.5Mb],	欠失範囲詳細同定、過剰部分詳細同定
			loss 9pter [13.4Mb]	
22	del(10)(q26.?)	ub	loss 10qter [5.9Mb]	欠失範囲詳細同定
23	ish del(10)t(10;16)(qter,pter)	ub	loss 10qter [10.1Mb]	欠失範囲詳細同定、 *サブテロメア FISH による不均衡転座確認 できず
24	add(11)(q22.2)	ub	loss 11q24 [5.7Mb]	複雑構造異常
			loss 11q25 [2.3Mb]	
25	der(11)t(4;11)(p15;q24)	ub	gain 4pter [28.4Mb],	欠失範囲詳細同定、過剰部分由来・詳細同定
			loss 11qter [10.2 kb]	
26	nuc ish mos (12pterx4) *数%	m_ub	gain 12pter [7.3Mb]	複雑構造異常 *モザイク頻度が低くアレイ解析では +i(12p)を正確に検出できていない
			gain 12p pericen [81kb]	
27	mos del(13)(q12.3q22) *30%	m_ub	loss 13q13-q31 [49Mb]	欠失範囲詳細同定
28	del(13)(q22q32)	ub	loss 13q22.1-13q32.1 [20.1Mb]	欠失範囲詳細同定

29	add(13)(q22)	ub	loss 10q11.23-q21.1 [2.2Mb]	独立した別領域の新規異常判明
			loss 13q32-q33 [9.2Mb]	複雑構造異常
			loss 13q42 [8.5Mb]	
30	del(14)(q13q21)	ub	loss 10p14 [4.0Mb],	欠失範囲詳細同定、
			loss 14q13.3-q21.3 [8.3Mb]	独立した別領域の新規異常判明
31-34	ish del(15)(q11.2q11.2)	ub	loss 15q11.2-q13 [4.92Mb]	欠失範囲詳細同定
35	ish del(15)(q11.2q11.2)	ub	loss 15q11.2-q13 [5.8Mb]	欠失範囲詳細同定
36	del(17)(p13)	ub	loss 17p13.2-q13.1 [3.2Mb]	欠失範囲詳細同定
37	add(17)(p13)	ub	gain 7pter [27.5Mb]	複雑構造異常
			gain 17p13.3 [1.2Mb]	
38	inv17(q11.2q12)	b	<i>susp bCNV only</i>	ゲノム量の均衡確認
39	del(18)(q22) dn	ub	loss 18qter [12.8Mb]	端部欠失範囲詳細同定
40	add(18)(q21.3).ish del(18)(qter)	ub	loss 18qter [17.5Mb]	端部欠失範囲詳細同定
41	mos r(18)(p11.2q23) *80%	m_ub	loss 18p	複雑構造異常
			loss 18q	
42	der(19)t(2;19)(p23;q13.4)	ub	gain 10qter [16.0Mb]	重複範囲詳細同定
43	der(21)t(8;21) (p22;q22.3)	ub	gain 8pter [13.7Mb]	欠失範囲詳細同定、過剰部分由来・詳細同定
			loss 21qter [5.5Mb]	
44	add(21)(q22.2).ish der(21)t(4q;21q)	ub	gain 4qter [29.1Mb],	欠失範囲詳細同定、過剰部分由来・詳細同定
			loss 21qter [6.5Mb]	
45	dup (22q)	ub	gain 22q11.2 [4.0Mb]	重複範囲詳細同定
46	dup (22q)	ub	gain 22q11.1-22q12.1 [9.2Mb]	重複範囲詳細同定
47	ish del(X)(p22.3)(SHOX-)	ub	loss Xp22.33 [366kb]	欠失範囲詳細同定
48	t(X;6)(q26;p11.2)dn	b		ゲノム量の均衡確認
49	der(X;15)(q28;q11.2)	ub	loss Xq28 [5.8Mb]	欠失範囲詳細同定、過剰部分由来・詳細同定
			?loss 15q11.2 [263.9 kb]	
50	add(X)(q28)	ub	gain Xpter [17.3Mb]	複雑構造異常
			gain Xq22.1-q28 [51.0Mb]	
			loss Xqter [1.6Mb]	
51	der(X)t(X;16)(q28;p13.1)	ub	loss Xq28 [6.4Mb]	欠失範囲詳細同定、過剰部分由来・詳細同定
			gain 16pter [27Mb]	
52	45,X/46,X,del(Y)(q12)	ub	loss X/Yqter [1.7Mb]	欠失範囲詳細同定
53	+18,+2mar	ub	gain 18pter-18qter	過剰部分由来+詳細同定
			gain 7cen [5.16 Mb]	
54	+mar	ub	gain8qter [20.7Mb],	複雑構造異常
			gain22q11 [2.7Mb]	
55	mos +mar *80%	m_ub	gain 13q12 [9.5Mb]	過剰部分由来+詳細同定
56	mos +mar	ub	gain 22q 11.2 [1.1Mb]	過剰部分由来+詳細同定
57	mos +mar	ub		由来同定できず
58	mos 92,XXXX *47%	m_p		ゲノム量の均衡確認

b: balanced, ub: unbalanced, m_ub: mosaic unbalanced, m_p: mosaic polyploidy

資料5 原因不明の多発奇形/精神運動発達遅滞症候群患者のゲノムアレイ解析結果

MCA/MR 症例	アレイ解析により判明したゲノムコピー数異常	判明した染色体再構成	臨床的影響の評価
1	loss 1p35-p34 [4Mb]	1p interstitial deletion	Clinically significant
2	gain 1p32 [0.4Mb]	1p interstitial duplication	susp Clinically significant
3	loss 1p21.1-1p13.2 [8.3Mb]	1p interstitial deletion	Clinically significant
4	loss 1q21 [1.2Mb]	1q interstitial deletion	Clinically significant
5	susp mos 1q2 gain [27.7Mb]	mos 1q interstitial deletion	Clinically significant
6	loss 1q23.3-1q24.3 [7Mb], loss 16q21 [1.3Mb]	1q interstitial deletion 16q interstitial deletion	Clinically significant Unclear clinically significance
7	loss 1q44 [0.5Mb]	1q interstitial deletion	Clinically significant
8	loss 2q33 [1.7Mb]	2q interstitial deletion	Clinically significant
9	gain 3p26 [0.5Mb]	susp complex abnormality of chr3	Unclear clinically significance
10	gain 3p26 [0.5Mb]	susp complex abnormality of chr3	Unclear clinically significance
11	loss 4q21 5.2Mb	4q interstitial deletion	Clinically significant
12	loss 5q35 1.9Mb	5q interstitial deletion, susp Sotos synd	Clinically significant
13	gain 6p25-p24 [0.6Mb],	6p interstitial duplication, and	Unclear clinically significance
	gain 17p13 [0.8Mb]	susp complex abnormality of chr17	Unclear clinically significance
14	loss 6q36 [0.5Mb]	6q interstitial deletion	Unclear clinically significance
15	loss 7p21-p15 [1.7Mb]	7p interstitial deletion	susp Clinically significant
16	gain 9q33-34 [20Mb]	9q interstitial deletion	Clinically significant
17	loss 10q21 [0.3Mb]	10q interstitial deletion	Unclear clinically significance
18	loss 10q21.3 [0.3Mb]	10q interstitial deletion	Unclear clinically significance
19	loss 13qter [7.4Mb], gain 7qter [4.8Mb]	susp der(13)t(7;13)	Clinically significant
20	loss 14q12 [2.2Mb]	14q interstitial deletion	Clinically significant
21	gain 14q32-qter [10Mb]	susp der(14)t(14;?) or dup(14q)	Clinically significant
22	loss 14qter [5Mb]	14q termial deletion	Clinically significant
23	loss 15q11.2-q13 [4.92Mb]	15q interstitial deletion, susp PWS or AS synd	Clinically significant
24	loss 15q24 int [3.4Mb]	15q interstitial deletion	Clinically significant
25	loss/gain 16pter [362kb/1.4Mb]	susp complex abnormality of chr16	Clinically significant
26	loss 18q22-q23 [0.9Mb]	18q interstitial deletion	Unclear clinically significance
27	loss 19p13 dn [0.2Mb]		Unclear clinically significance
28	loss 19p13.3 [2.2Mb]	19p interstitial deletion	Clinically significant
29	loss 20q11.21 [1.2Mb]	20q interstitial deletion	susp Clinically significant
30	loss 21qter q22 [7.4Mb]	21q termial deletion	Clinically significant
31	susp mos XXY	susp mos XXY	Unclear clinically significance

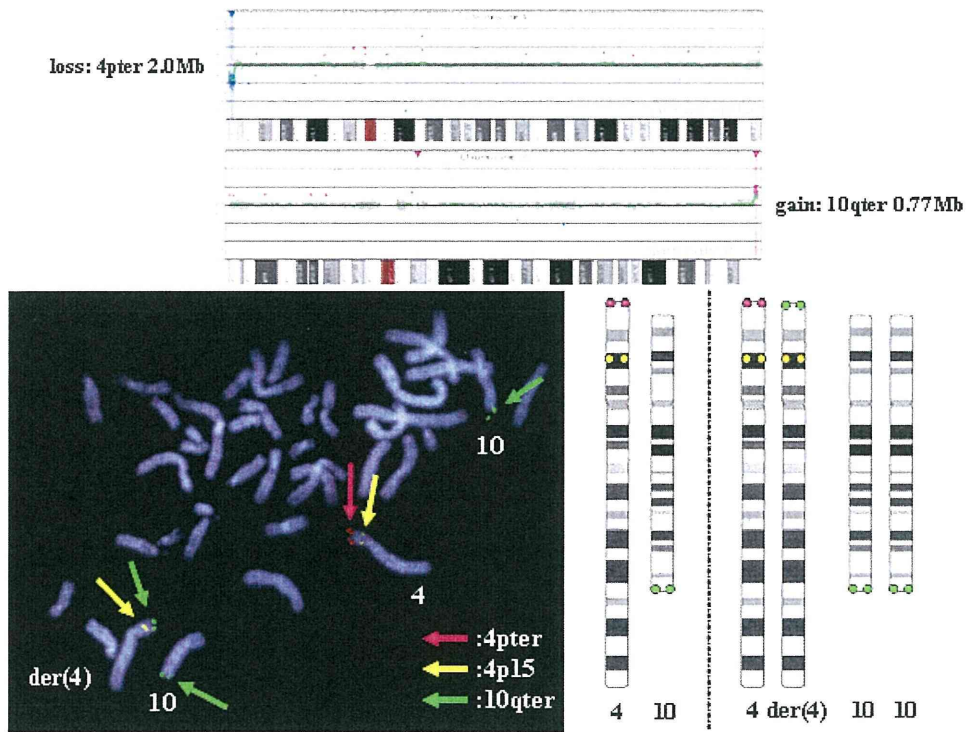
資料6 ゲノムアレイ解析結果をふまえたmetaphase FISH解析結果

- a. 4p 端部のゲノムコピー数減少とともに 10q 端部の微細なゲノムコピー数増加を認めた WHS2 症例の解析結果.

WHS 症例 1 は 10q 端部断片が欠失のある 4p 端部へ不均衡型転座していた.

WHS 症例 2 1 は, 10q 端部断片のシグナルは, 2 個の正常 10 番長腕端部にのみ認める正常ハイブリダイゼーションパターンであり, 不均衡型転座ではないと考えられた. その後, 両親の追加アレイ解析により, 片親が同じ 10q 端部の微細なゲノムコピー数増加を認めたため, WHS 症例 2 1 の 10q 端部の微細なゲノムコピー数増加は bCNV であったと判定した.

WHS症例 1



WHS症例21

