

201128/21A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

14番染色体父親性・母親性ダイソミーおよび

類縁疾患の診断・治療指針作成

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 鏡 雅代

平成24（2012）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

1 4 番染色体父親性・母親性ダイソミーおよび
類縁疾患の診断基準・治療指針の作成

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 鏡 雅代

平成24 (2012) 年 3月

目 次

I. 総括研究報告

- 1 4番染色体父親性・母親性ダイソミーおよび類縁疾患の診断基準・治療指針の作成に関する研究

(独) 国立成育医療研究センター研究所 鏡 雅代 ----- 1

II. 分担研究報告

1. 1 4番染色体母性片親性ダイソミー関連疾患の遺伝子診断法の確立と日本での実態に関する研究

名古屋市立大学大学院 齋藤 伸治 ----- 9

2. 1 4番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患の臨床像に関する研究

神奈川県立こども医療センター 黒澤 健司 ----- 12

3. 1 4番染色体父性片親性ダイソミー関連疾患の出生前所見に関する研究

(独) 国立成育医療研究センター 左合 治彦 ----- 17

4. 1 4番父性片親性ダイソミー (UPD(14)pat) における胸郭変形の検討に関する研究

(独) 国立成育医療研究センター 宮寄 治 ----- 19

5. 1 4番染色体父親性ダイソミー類縁疾患の遺伝学的原因別頻度の研究

神奈川県立こども医療センター 柴崎 淳 ----- 21

6. 1 4番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患の診断基準・治療指針の作成に関する研究

(独) 国立成育医療研究センター研究所 鏡 雅代 ----- 24

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	27
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	29

總 括 研 究 報 告

14 番染色体父親性・母親性ダイソミーおよび類縁疾患の診断基準・治療指針の作成の研究

研究代表者 鏡 雅代 国立成育医療研究センター研究所分子内分泌研究部 上級研究員

研究要旨

我々が開発した14番染色体インプリンティング異常症(14番染色体父親性・母親性ダイソミーおよび類縁疾患)の遺伝子診断法を用いて確定診断された患者の主治医に対する詳細な臨床情報調査の結果をもとに14番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患の診断基準・治療指針を作成した。14番染色体母親性ダイソミーおよびその類縁疾患に関しては遺伝学的病因別頻度を明らかとし、その臨床像を明らかとした。

A. 研究目的

14番染色体がともに父親に由来する14番染色体父親性ダイソミー(UPD(14)pat)は胎児期より羊水過多、胎盤過成長を呈し出生後はベル型と形容される小胸郭、臍帯ヘルニアなどの腹壁の異常、特徴的な顔貌などを示す。一方、14番染色体がともに母親に由来する14番染色体母親性ダイソミー(UPD(14)mat)は出生前後の成長障害、新生児期・乳児期の筋緊張低下、小さな手など非特異的な臨床像を示す。UPD(14)patは14番染色体インプリンティング領域内の父性発現遺伝子の過剰発現および母性発現遺伝子の発現消失、UPD(14)matは父性発現遺伝子の発現消失と母性発現遺伝子の過剰発現に表現型は起因すると考えられる。両疾患はともに希少疾患であり、診断基準、治療指針は存在しない。さらに、疾患概念も広く周知しているとは言い難い。本研究では、両疾患の確定診断として有用な遺伝子診断法を開発し、全国調査により本邦における両疾患表現型をもつ患者において遺伝子診断を行い、確定診断された患者における遺伝学的病因の検討、臨床像の調査を調査し、患者数の把握、診断基準、治療指針を作成することを目的とする。そして本研究の成果は、医療の均てん化、本疾患患者の生命予後の改善、生活の質の向上につながると考えられる。平成23年度は、14番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患については、平成21年度行った全国一次調査、平成22年度に行った遺伝子診断にて確定診断された患者の主治医に対する詳細な臨床像の調査の結果をもとに、14番染色体父親性ダイソミーおよび類

縁疾患の診断基準、治療指針を作成すること、また、遺伝子診断による本疾患の遺伝学的病因別頻度を明らかとする。14番染色体母親性ダイソミーおよび類縁疾患に関しては、平成22年度に行った患者の有無を調査する一次調査結果施行し、遺伝子診断法を開発した。平成23年度は一次調査で患者ありと答えた施設の医師に対し遺伝子診断の依頼を行い、遺伝子診断で確定診断された症例の主治医に対し詳細な臨床像を調べるための二次調査を行うことを目的とする。

B. 研究方法

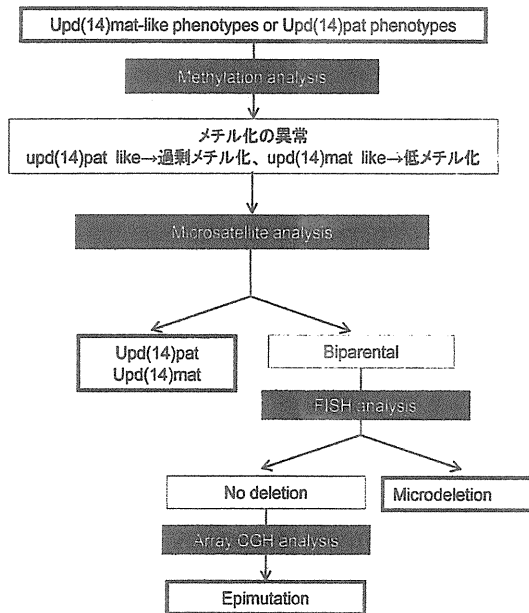
遺伝子診断法の開発

UPD(14)pat表現型患者およびUPD(14)mat表現型患者の白血球から抽出したゲノムDNAを用いて、スクリーニング法としてメチル化解析を行う。具体的には、メチル化可変領域にプライマーを設計し、患者白血球から抽出したゲノムDNAをバイサルファイト処理し、これをテンプレートとしてPCR反応を行い、得られたPCR産物をメチル化修飾の差異で切れ方の異なる制限酵素で処理し電気泳動後、バンドの濃度差によりメチル化状態を判定する。メチル化テストで異常を認めた症例に対しては、両親のゲノムDNAを用いてマイクロサテライトマーカー解析を行い、14番染色体の親由来を調べる。ダイソミーが否定され他症例に対しては、二か所のメチル化可変領域を含むFISHプローブを用いてFISH解析を行い微小欠失の有無を検索する。さらに14番染色体インプリンティング領域にプローブを作成したカスタムCGHアレイを用いて欠

失、重複などを検索し、コピー数異常を認めない症例をエピ変異とした。

個人情報情報は潜在化させ、個人情報の取り扱いには十分な注意を払っている。

遺伝子解析方法



患者数の把握と遺伝学的病因別頻度の解明

UPD(14)pat 表現型を有する患者に関しては平成 22 年度に一次調査で表現型ありと答えた施設に対し遺伝子診断の依頼を行い、同意を得られた患者に対し遺伝子診断を行った。さらに一次調査後に出生、もしくは疑われて当研究部に問い合わせのあった患者に対しても同様に遺伝子診断を行った。UPD(14)mat 表現型患者においては、一次調査で患者ありと返答した施設に遺伝子診断施行のための依頼を行い、同意を得た患者の遺伝子診断を行い、確定診断された患者において遺伝学的病因別頻度を算出した。

両疾患患者の臨床像の把握、診断基準・治療指針の作成

遺伝子診断で確定診断がされた症例の主治医に対し詳細な臨床情報調査のための質問紙法による調査を行い、その結果をもとに、診断基準、治療のてびきを作成する。

（倫理面への配慮）

使用したサンプルはすべて（独）国立成育医療研究センター倫理委員会の承認を得たうえで行われている。遺伝子解析は十分なインフォームドコンセントの後に文書により承諾を得た。自験例における臨床情報は全ての

C. 研究結果

14 番染色体父親性および類縁疾患の遺伝学的病因別頻度

対象として UPD(14)pat 表現型を持つ 35 症例の遺伝学的病因は下記の通りである。

		正常核型	異常核型	核型不明
UPD(14)pat	22 (62.8%)	20	1 (45,XX,der(14;21) (q10;q10))	1
欠失	6 (17.1%)	IG-DMR and MEG3-DMR	IG-DMR only	MEG3-DMR only
		4 (兄弟例 含む)	1	1
エピ変異	4 (11.4%)			
染色体異常	1 (2.8%) (環状 14 番 染色体)			
原因不明	2 (5.7%)			

さらに我々は、正常核型で出生時の両親の年齢が明らかである 26 症例について遺伝学的要因とその原因について検討した。その結果、ダイソミー 17 名 (65.4%)、微小欠失 5 名 (19.2%)、エピ変異 4 名 (15.4%)であった。もっとも多い UPD(14)pat についてマイクロサテライトマーカー解析の結果から、monosomy rescue (MR), trisomy rescue (TR), gamete complementation (GC), post-fertilization mitotic error (PE) に分類した。MR、GC は卵子、TR、GC は精子における減数分裂時の異常により生じることから、その発症因子となりうる出生時の両親の年齢について検討した。

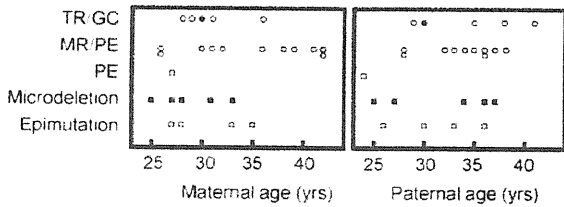


Figure 2 The distribution of parental ages at childbirth according to the underlying genetic causes for the development of UPD(14)pat-like phenotype and UPD(14)pat subtypes. Of the five plots for the TR/GC subtype, open and black circles indicate the TR/GC subtype due to non-disjunction at paternal M1 and M2, respectively.

35 歳以上で児を出産した母親の割合は卵子の第一減数分裂の不分離に起因する MR を含む MR/PE 群に有意に高かった。同様に母親の平均出産年齢は MR/PE 群で有意に他の群に比較して高かった。父親の年齢には有意差は認めなかった。

14 番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患の臨床像

遺伝子診断にて確定診断された 35 症例の主治医への質問紙法による二次調査を行った。結果は以下の通りである。

胎児期の臨床像

胎児期には羊水過多、胸郭低形成、腹壁の異常で診断される。胎児期の臨床像は下記の通りである。

羊水過多	31/34							
羊水過多が判明した時期	中央値 25w (n=18 : 19-30w)							
羊水穿刺(回)	0	1	2	3	4	5	6	7
症例数	5	2	4	4	5	4	2	1
	複数回の穿刺 24/31							

胸郭低形成に気づかれていた	8/21
胸郭低形成が判明した時期	中央値 28.5w (n=6 : 23-31w)
腹壁異常に気づかれていた	11/21
腹壁異常が判明した時期	中央値 26.5w (n=6 : 19-31w)
在胎週数	中央値 35w (n=34 : 24-38w)
胎盤重量 (在胎週数別平均胎盤重量比%)	平均値 162.1±41.9% (n=29, 107-262%)
子宮内胎児発育遅延	0/33

患者において、34 症例中 31 症例で羊水過多を認めた。

羊水過多は 25 週ごろより同定され、複数回の穿刺を必要とする症例を多数認めた。胸郭異常は 28 週ごろより認められる症例が多かった。腹壁異常は半数で胎児期に認められた。在胎週数は平均 35 週、胎盤重量は在胎週数別平均重量に比較して平均 162%と胎盤過形成を認めた。子宮内胎児発育遅延はみとめなかった。

出生後の臨床像

胸郭異常	
ベル型の胸郭	35/35
腹壁異常	
腹直筋離開のみ	21/32
臍帯ヘルニア	11/32
特徴的顔貌	
前額部突出	22/30
毛深い額	21/32
眼瞼裂狭小	25/33
平坦な鼻梁	32/33
前向き鼻孔	25/30
小耳	11/31
突出した人中	29/31
皺状の口唇	14/31
小顎	32/33
その他	
発達遅延	27/27
けいれん	1/28
摂食障害	28/29
翼状頸、短頸	30/32
喉頭軟化症	9/26
	9/33(PDA:3,
心疾患	PS:1, ASD:2, 不明:3)
鼠径ヘルニア	8/31
外反股	4/25
関節拘縮	21/31
側弯症	14/30
肝芽腫	3/35 (3例とも3歳未満の発症)

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

出生後の臨床像はベル型の小胸郭、腹壁異常はほぼ全例で認め非常に特異性の高い所見であった。前額部突出、平坦な鼻梁、突出した人中、小さい顎などの特徴的顔貌、発達遅延、摂食障害、などを認め、注目すべき所見として35例中3例で肝芽腫の合併を認めた。

長期予後

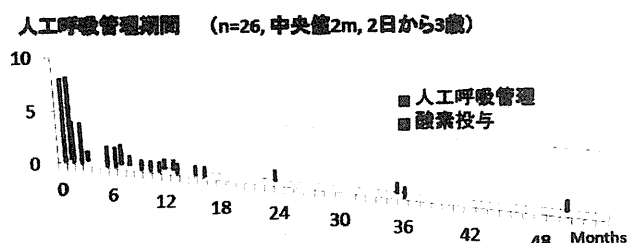
生命予後 (n=35, 生後2時間～16歳)	
生存	27症例
死亡	8症例(ダイソミ-4例、微小欠失3例、染色体異常1例)

死亡した時期、原因、児の在胎週数 (n=8)	
0～7日	2症例(34w: 出生直後の蘇生に反応せず、28w: 頭蓋内出血)
8日～6か月	0症例
6か月～1歳	2症例(34w: 壊死性腸炎、27w: 発熱時に心停止)
1歳～	4症例 2症例(24w, 32w: 肝芽腫合併例) 2症例(35w, 35w: 呼吸器感染症)

人工呼吸管理の有無 (n=33)	
施行	31症例
未施行	2症例(C-PAP+O ₂ , O ₂ のみ)

退院後の入院回数およびその理由 (n=14)	
0回	6症例
1回	1症例(換気不全、ヘルニアの手術)
2回	2症例(イレウス、気管支炎&熱性けいれん)
3回	1症例(呼吸器感染症)
5回以上	4症例(呼吸器感染症)

人工呼吸管理は33名中31例で施行され、出生時呼吸障害は必発であり、その改善に長い時間を必要とする症例が多いが、急性期をのりきれば成長に伴って改善する場合も多かった。

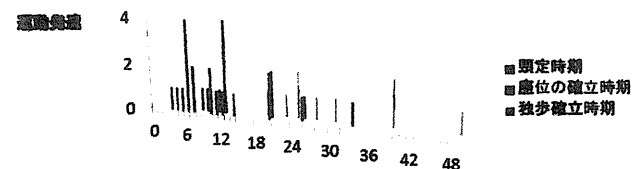


腹壁の異常	32/35
腹直筋離開のみ	21症例
臍帯ヘルニア	11症例(8例で手術施行)
便秘の有無	25症例中11症例であり(下剤、浣腸で対応)
摂食障害	26/28
経管栄養期間	19症例で情報が得られた
1か月以内	3症例
1か月以上6か月以内	5症例
6か月以上1年6か月以内	4症例
1年6か月以上	6症例

腹壁異常のうち11例が臍帯ヘルニアで手術を必要とした。便秘を約半数に認めた。哺乳不良を大多数で認め、半年以上の経管栄養を必要とする症例が多かった。

運動神経発達

運動発達	
頭定(4か月以上の児 n=18)	中央値 6.5m (得られず3名 1 11/12y, 1/12y, 3y)
座位(7か月以上の児 n=17)	中央値 12m (得られず5名 1/12y から 3 2/12y)
独歩(1歳6か月以上の児 n=13)	中央値 2 3/12y (得られず2名 1 11/12y, 3 10/12y)



神経発達(n=10)			
DQ/IQ			
31～40	41～50	51～60	60～65
1症例	3症例	4症例	2症例
就学状況(n=6)			
特殊支援学級・養護学校	普通学級	未就学	
4症例	2症例	0症例	

ほぼ全例に運動、発達遅延の遅延を認めたが、就学に達した症例において、遅れは認めるものの通常の日常生活は可能であった。

診断基準

出生前

特徴的な超音波所見

①羊水過多

（妊娠中期以降、頻回の羊水除去を要す）

②胸郭低形成（ベル型・コートハンガー型）

③巨大胎盤

その他、参考所見

- ・ 軽度四肢短縮
- ・ 腹壁異常（臍帯ヘルニア等）

出生後

主症状

- ・ 特徴的な小胸郭（コートハンガー型、ベル型）と呼吸障害
- ・ 腹壁の異常（臍帯ヘルニア、腹直筋離開）
- ・ 特徴的顔貌（前額部突出、眼瞼裂狭小、平坦な鼻梁、小顎、前向き鼻孔、突出した人中）

副症状

- ・ 発達遅延
- ・ 摂食障害
- ・ 翼状頸・短頸
- ・ 喉頭軟化症
- ・ 関節拘縮
- ・ 側弯症
- ・ 鼠径ヘルニア

治療の手引き

胎児期

- ・ 適宜羊水吸引術を施行し、可能な限り満期まで妊娠継続を図る。
- ・ 出生時に重度の呼吸障害を呈するため、新生児科医師立会いで分娩を行う。

出生後

呼吸障害：呼吸障害の原因となる喉頭軟化，気管・気管支軟化，胸郭低形成が成長にともない改善するまで、数ヶ月間の人工呼吸管理、1年程度の酸素投与を必要

とすることが多い。人工呼吸器からの離脱には、気管気管支軟化症のほかに、胸郭の成長が必須であり、早期からの呼吸リハビリテーションの導入を考慮する。腹壁異常：臍帯ヘルニアの外科手術の際、腹圧が上昇し、呼吸障害が悪化する可能性があり注意が必要である。排便障害に対し、浣腸、緩下剤投与を行う。

発達障害：適切な呼吸管理下での療育参加が、長期的な発達予後改善を促す。

経口摂取障害：摂食リハビリを考慮する。

その他：3例に肝芽腫発症を認めており、腹部エコー、腫瘍マーカーなどによる注意深いフォローが必要である。

14 番染色体母親性ダイソミーおよび類縁疾患の遺伝学的病因別頻度

一次調査にて表現型陽性であった135例のなかで、遺伝子診断でUPD(14)mat および類縁疾患として確定診断されたのは、UPD(14)mat 8例、14q32.2インプリント領域を含む微細欠失3例、エピ変異1例であった。

核型		正常	異常	不明
UPD(14)mat	8 (66.7%)	8	0	0
欠失	3 (25%)	3	0	0
エピ変異	1 (8.3%)	1	0	0

D. 考察

14 番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患

我々は14番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患の遺伝学的病因別頻度を明らかとした。他のインプリント領域の異常である11番染色体インプリンティング異常症であるBeckwith-Wiedemann症候群、7番染色体と11番染色体インプリンティング異常症であるSilver-Russell症候群、15番染色体インプリンティング異常症であるPrader-Willi症候群およびAngelman症候群とその遺伝学的病因別頻度を比較した。

	UPD(14)pat-like phenotype	BWS	SRS	AS	PWS
Uniparental disomy	65.4%	16%	10%	3-5%	25% (25%)
	UPD(14)pat	UPD(11)pat (mosaic)	UPD(7)mat	UPD(15)pat	UPD(15)mat
Cryptic deletion	19.2%	Rare	...	70%	70% (72%)
Cryptic duplication	Rare
Epmutation
Hypermethylation	15.4%	9%	2-5% (2%)
Affected DMR	IG-DMR/MEG3-DMR	H19-DMR	SNRPN-DMR
Hypomethylation	...	44%	>38%	2-5%	...
Affected DMR	...	KvDMR1	H19-DMR	SNRPN-DMR	...
Gene mutation	...	5%	...	10-15%	...
Mutated gene	...	CDEK1C	...	UBE3A	...
Unknown	...	25%	>40%	10%	...
Reference	This study	15	16	17	8, 17

BWS: Beckwith-Wiedemann syndrome, SRS: Silver-Russell syndrome, AS: Angelman syndrome, and PWS: Prader-Willi syndrome.
Patients with abnormal karyotypes are included in BWS and AS, and not included in SRS. In PWS, the data including patients with abnormal karyotypes are shown, and those from patients with normal karyotype alone are depicted in parentheses.

14 番染色体父親性ダイソミー及び類縁疾患はダイソミーの頻度が他のインプリンティング疾患に比較し高く、原因不明症例を認めない。これは、欠失が起こりやすいリピート配列が特に存在していないこと、責任領域は 14 番染色体インプリンティング領域だけであること、臨床像が非常に特異的であることが推測される。14 番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患において最頻度の病因は UPD(14)pat であった。UPD(14)pat をマイクロサテライトマーカー解析のパターンから、正常精子と 14 番染色体を持たない卵子が受精し、その後父親由来の 14 番染色体が倍加することにより生じる MR、二倍体の精子と正常卵子が受精後に卵子由来の 14 番染色体が消失することにより生じる TR、14 番染色体をもたない卵子と 14 番染色体を 2 本持つ精子の受精により生じた GC、受精後の体細胞分裂時の異常により生じた PE に分類した結果、MR/PE（マイクロサテライトマーカー解析では両者の区別はできない）に分類される UPD(14)pat が多いことから、出生時の両親の年齢を比較検討した。その結果、35 歳以上の母親の割合、平均出産年齢において、MR/PE とそれ以外（MR 以外の全ての UPD(14)pat、微小欠失、エピ変異）とのあいだに有意差を認めた。これは母親の出産年齢の高齢化が UPD(14)pat 発症のリスクファクターであることを示唆する結果である。

さらに我々は、UPD(14)pat 表現型を示す 35 症例の遺伝学的病因別頻度、臨床像、長期予後を明らかとし、診断基準、治療のてびきを作成した。本研究で、長期予後は遺伝学的病因よりも呼吸障害の重症度に大きく左右されることが明らかとなった。しかし、長期の呼吸管理を要した場合でも、在宅移行後の気道感染、呼吸不全を呈さない症例が半数以上であった。さらに、就学年齢に達した 6 例全例において、知的障害をみと

めるもの呼吸障害を認めず、通常の日常生活ができていた。以上の結果から、新生児期の呼吸障害への適切な対応と、胸郭の発育を促す早期からの呼吸リハビリが生命予後の改善に重要と考えられた。さらに、経口摂取障害もほとんどの症例で認められ、早期からの摂食リハビリの重要性が示唆された。また、腹壁異常に起因する便秘の合併に対する適切な対応も必要であることが判明した。本研究により肝芽腫が本疾患において 35 症例中 3 例で合併したことが初めて明らかとなった。3 症例とも肝芽腫発症は 3 歳未満であり、本疾患患者のフォロー中、特に 3 歳未満の児において、肝芽腫を念頭においた定期的な腹部エコー、腫瘍マーカーのチェックが重要と考えられる。

さらに我々は UPD(14)pat 表現型を示す患者における画像診断法を開発した。新生児期に診断することができなかった症例については、コートハンガー型変形が画像診断上有用であることを明らかにした。

14 番染色体母親性ダイソミーおよび類縁疾患

14 番染色体母親性ダイソミーおよび類縁疾患の遺伝学的頻度を明らかとした。14 番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患と同様ダイソミーが最も多いという結果となったが、ダイソミーの発症要因に対する両親の年齢についての検討は、症例数が少なく検討が不可能であった。また、135 名の UPD(14)mat 表現型を認める症例のうち遺伝子診断で確定できたのは 6 名のみであり（欠失例は UPD(14)pat 表現型の児の家族解析で判明した）、UPD(14)mat は非特異的な症状のため、未診断のままになっている患者が沢山存在することが予想された。15 番染色体インプリンティング異常症である UPD(15)mat は PWS の 25%を占める。PWS の発症頻度は 15,000 出生に 1 名とされ、全国では年間 70 名ほどが発生している。UPD(15)mat は従って、年間 15 名ほどが発生していると計算される。UPD(14)mat も同数ほど出生していることを想定すると、20 歳までの患者が 300 名ほど存在することが予想される。今回の把握例が 12 名はその一部に過ぎないことが予想され、未診断例が多数存在すると考えられる。上記したように未診断例が多数存在することが予想されるため、新生児期の筋緊張低下例や原因不明の低身長例を対象として、14 番染色体インプリン

ト領域のメチル化解析をスクリーニングとして行う
ことが望まれる。

E. 結論

14 番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患については、病因別頻度を算出し、診断基準（案）、治療のてびき（案）を作成した。14 番染色体母親性ダイソミーおよび類縁疾患は遺伝子解析法を確立し、遺伝学的病因別頻度を算出した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kagami M, Kato F, Matsubara K, Sato T, Nishimura G, Ogata T. Relative frequency of underlying genetic causes for the development of UPD(14)pat-like phenotype. *European Journal of Human Genetics* (in press)
2. Miyazaki O, Nishimura G, Kagami M, Ogata T. Radiological evaluation of dysmorphic thorax of paternal uniparental disomy 14. *Pediatric Radiology*. 41(8):1013–1019, 2011.
3. Tohyama J, Yamamoto T, Hosoki K, Nagasaki K, Akasaka N, Ohashi T, Kobayashi Y, Saitoh S. West Syndrome Associated with Mosaic Duplication of FOXG1 in a Patient with Maternal Uniparental Disomy of Chromosome *American Journal Medical Genetics A* 155A:2584–2588, 2011.
4. Ozawa K, Ishikawa H, Maruyama Y, Nagata T, Nagase H, Itani Y, Kurosawa K, Yamanaka M. Congenital omphalocele and polyhydramnios: A study of 52 cases. *Fetal Diagnosis and Therapy* 30:184–188, 2011.
5. 鏡雅代、加藤芙弥子、松原圭子、渡部功之、有阪治、緒方勤. 14 番染色体インプリンティング遺伝子群の調節において、IG-DMR と MEG3-DMR は異なった役割をはたす. ホルモンと臨床 (印刷中)

2. 学会発表

1. 鏡雅代、松岡健太郎、加藤芙弥子、宮戸真美、松原圭子、深見真紀、山中美智子、鈴森伸宏、永井敏郎、緒方勤. RTL1 遺伝子の胎盤における機能の解明：胎盤発育不全、子宮内胎児発育遅延の原因解明をめざして. 第 45 回日本小児内分泌学会学術集会、埼玉、2011.
2. 鏡雅代、黒澤健司、宮寄治、柴崎淳、左合治彦、西村玄、深見真紀、緒方勤. 14 番染色体父親性ダイソミー症候群：遺伝学的病因、臨床像、治療. 第 56 回日本人類遺伝学会学術集会、幕張、2011.
3. 佐々木愛子、鈴木朋、今野秀洋、住江正大、林聡、左合治彦、小崎里華、鏡雅代. upd14 の出生前診断を行った 1 例. 第 56 回日本人類遺伝学会学術集会、幕張、2011
4. 鏡雅代、松岡健太郎、加藤芙弥子、宮戸真美、山中美智子、鈴森伸宏、松原圭子、佐藤智子、永井敏郎、緒方勤: 14 番染色体インプリンティング遺伝子の胎盤における機能と発現調節メカニズムの解明、第 5 回エピジェネティクス研究会、熊本、2011.
5. 鏡雅代、松岡健太郎、加藤芙弥子、宮戸真美、山中美智子、鈴森伸宏、松原圭子、佐藤智子、永井敏郎、緒方勤: 14 番染色体インプリンティング遺伝子の胎盤における機能と発現調節メカニズムの解明、第 34 回 日本小児遺伝学会、横浜、2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他

分 担 研 究 報 告

14 番染色体母性片親性ダイソミー関連疾患の遺伝子診断法の確立と日本での実態

研究分担者 齋藤 伸治 名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野教授

研究要旨

14番染色体母性片親性ダイソミー (UPD(14)mat) および関連疾患の実態を知ることが目的として、全国調査を実施した。全国の小児内分泌学会学会員、小児神経学会学会員合計2206名に対して行った一次調査では、825名から回答を得て、135例の表現型陽性例の報告を認めた。それらの中で、遺伝子診断でUPD(14)matもしくは関連疾患として確定診断されたのは、UPD(14)mat 8例、エピ変異1例、14q32.2微細欠失微細欠失3例にとどまった。今回の調査から、UPD(14)matおよび関連疾患が十分に把握されていない実態が明らかになった。発症頻度を考えると、見逃されている可能性が高く、より広くスクリーニングを実施する体制が望まれる。

研究分担者

齋藤伸治（名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野・教授）

A. 研究目的

14番染色体母性片親性ダイソミー (UPD(14)mat) は子宮内胎児発育遅延、成長障害、新生児期乳児期の筋緊張低下、思春期早発傾向などを示す症候群である。UPD(14)mat は14q32.2に位置するインプリンティング遺伝子の発現異常により起こることが明らかにされている。この発現異常はUPD(14)mat以外に、同領域の父性欠失、インプリンティング機構の変異であるエピ変異により引き起こされ、同様の症状を示し、UPD(14)mat関連疾患と呼ばれる。したがって、UPD(14)mat および関連疾患の診断には系統的な遺伝子診断が必要である。

UPD(14)mat および関連疾患の報告例は少数のみである。しかし、発症メカニズムが共通している15番染色体母性片親性ダイソミーによって引き起こされるPrader-Willi症候群(PWS)の発症頻度を考えると、UPD(14)matの大部分は診断されていない可能性が高い。そこで、本研究においては、UPD(14)mat および関連疾患の実態を把握するために、日本における実態調査を行い、135例の表現型陽性例の報告を認めた。これらの例に対して、二次調査を行った。

B. 研究方法

日本小児内分泌学会および日本小児神経学会会員を対象として、アンケート調査(一次調査)を実施し、UPD(14)mat および関連疾患表現型を呈する例として135例が確認された。これらの例に対して、二次調査を実施し、希望のある例には遺伝子解析を実施した。遺伝子解析としては、MEG3メチル化テストにてスクリーニングを行い、メチル化テスト異常例に対しては、多型マーカーを用いた多型解析、同領域に位置する複数のプローブを用いたFISH解析を実施した。

(倫理面への配慮)

本研究は国立成育医療研究センターおよび北海道大学大学院医学研究科医の倫理委員会の承認を受け、解析にあたっては、ご家族から書面による同意を得た。

C. 研究結果

一次調査にて表現型陽性であった135例のなかで、遺伝子診断でUPD(14)matもしくは関連疾患として確定診断されたのは、UPD(14)mat 8例、エピ変異1例、14q32.2微細欠失微細欠失3例にとどまった。

D. 考察

UPD(14)mat は子宮内胎児発育遅延、成長障害、新生児期乳児期の筋緊張低下、特徴的な顔貌、思春期早発傾向を示し、特に、成長障害と新生児期乳児期の筋緊張低下にて疑われる。しかし、これらの症状は非特

異的であり、診断には遺伝子診断が必須である。

上述したように、UPD(14)mat は非特異的な症状を示すので、未診断のままになっている患者が沢山存在することが予想される。UPD(15)mat は PWS の 25% を占める。PWS の発症頻度は 15,000 出生に 1 名とされ、全国では年間 70 名ほどが発生している。UPD(15)mat は従って、年間 15 名ほどが発生していると計算される。UPD(14)mat も同数ほど出生していることを想定すると、20 歳までの患者が 300 名ほど存在することが予想される。今回の把握例が 12 名はその一部に過ぎないことが予想され、未診断例が多数存在すると考えられる。

これまでに同定された UPD(14)mat 及び関連疾患はすべて MEG3 メチル化テストが陽性であった。そのために、MEG3 メチル化テストは UPD(14)mat のみならず、エピソード、微細欠失例のスクリーニング検査として有用である。上記したように未診断例が多数存在することが予想されるため、新生児期の筋緊張低下例や原因不明の低身長例を対象として、MEG3 メチル化テストによるスクリーニングを行うことが望まれる。

E. 結論

日本における UPD(14)mat および関連疾患の一次調査に基づき、遺伝学的原因の調査を実施した。その結果、原因が同定された例は UPD(14)mat 8 例、エピソード 1 例、14q32.2 微細欠失 3 例にとどまった。未診断例が多数存在することが予想され、本疾患の啓発の必要性と、MEG3 メチル化テストによるスクリーニングの重要性が明らかになった。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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. *Journal of Human Genetics* 56:110–124, 2011.

2. Sato K, Yabe I, Yaguchi H, Nakano F, Kunieda Y, Saitoh S, Sasaki H. Genetic analysis of two Japanese families with progressive external ophthalmoplegia and parkinsonism. *Journal of Neurology* 258:1327–1332, 2011.
3. Takahashi Y, Hosoki K, Matsushita M, Funatsuka M, Saito K, Kanazawa H, Goto Y, Saitoh S. A loss-of-function mutation in the *SLC9A6* gene causes X-linked mental retardation resembling Angelman syndrome. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 156:799–807, 2011.
4. Tohyama J, Yamamoto T, Hosoki K, Nagasaki K, Akasaka N, Ohashi T, Kobayashi Y, Saitoh S. West Syndrome Associated with Mosaic Duplication of *FOXG1* in a Patient with Maternal Uniparental Disomy of Chromosome *American Journal Medical Genetics A* 155A:2584–2588, 2011.
5. Sudo A, Takeichi N, Hosoki K, Saitoh S.. Successful cochlear implantation in a patient with mitochondrial hearing loss and m.625G > A transition. *The Journal of Laryngology & Otology* 125:1282–1285, 2011.
6. Hosoki K, et al. Hand-foot-genital syndrome with a 7p15 deletion demonstrates a clinically recognizable syndrome. *Pediatrics International* (in press)

2. 学会発表

1. 斎藤伸治、細木華奈、夏目淳、今井純好、中島翠、植田佑樹、朝比奈直子、白石秀明：5q31 微細欠失は乳児期の筋緊張低下と重度精神遅滞を示す新しい症候群である、第 53 回日本小児神経学会総会、東京、2011
2. 高野亨子、小沢浩、稲田穰、上石晶子、有本

潔、木実谷哲史、久保田雅也、斉藤伸治：

Prader-Willi 症候群の摂食の改善について 第
53 回日本小児神経学会総会、東京、2011

3. 細木華奈、太田亨、新川詔夫、斉藤伸治. PWS 様
表現型を示す微細染色体異常: 第 56 回日本人類遺
伝学会 幕張、2011
4. Hosoki K, Ohta T, Natume J, Imai S, Okumura A,
Matsui T, Harada N, Scaglea F, Bacino CA, Niikawa N,
Saitoh S. 5q31.3 microdeletion syndrome is a clinically
discernible new syndrome characterized by severe
neonatal hypotonia, feeding difficulties, respiratory
distress, and severe developmental delay. 61th Annual
Meeting of American Society of Human Genetics,
Montreal, Canada, 2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

14 番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患の臨床像の研究

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 部長

研究要旨

14番染色体父親性ダイソミーの表現型を示し、14番染色体インプリンティング領域メチル化可変領域におけるメチル化異常を示す 35 症例についてその臨床像を解明した。これまで不明であった本疾患の長期予後について明らかとなった。

A. 研究目的

14 番染色体父親性ダイソミー (UPD(14)pat) は胎児期より羊水過多、胎盤過成長を呈し出生後はベル型と形容される小胸郭、臍帯ヘルニアなどの腹壁の異常、特徴的な顔貌などを示すが、その疾患概念は、ほとんど浸透していない。これまでに 20 例ほどの症例報告を認めるが、その長期予後について研究したものはない。我々は、14 番染色体インプリンティング遺伝子異常症を同定するための効率的な遺伝子解析方法を開発し、これにより確定診断された UPD(14)pat 表現型患者の臨床像、長期経過を明確にすることにより、14 番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患患者の診断基準、治療指針の作成にあたっての基盤となる情報を収集することを目的に研究を進めた。

B. 研究方法

UPD(14)pat に特徴的なベル型小胸郭、腹壁の異常、羊水過多、胎盤過形成、特徴的顔貌などの UPD(14)pat 表現型を示す患者で、メチル化テストにおいて 14 番染色体インプリンティング領域のメチル化可変領域のメチル化異常を示す患者 35 名を対象とした。遺伝子診断により病因を UPD(14)pat、インプリンティングセンターを含む微小欠失、インプリンティングセンターに存在するメチル化可変領域のメチル化異常であるエピ変異に分類した。遺伝子診断にて確定診断された症例の主治医に対し患者臨床像を明らかにするための質問紙を送付、回収し解析した。

(倫理面への配慮)

使用したサンプルはすべて（独）国立成育医療研究センター倫理委員会の承認を得たうえで行われている。遺伝子解析は十分なインフォームドコンセントの後に文書により承諾を得た。自験例における臨床情報は全ての個人情報情報は潜在化させ、個人情報の取り扱いには十分な注意を払っている。

C. 研究結果

対象として UPD(14)pat 表現型を持つ 35 症例の遺伝学的病因は下記の通りである。

		正常核型	異常核型	核型不明
UPD(14)pat	22 (62.8%)	20	1 (45,XX,der(14;21) (q10;q10))	1
欠失	6 (17.1%)	IG-DMR and MEG3-DMR	IG-DMR only	MEG3-DMR only
		4 (兄弟例 含む)	1	1
エピ変異	4 (11.4%)			
染色体異常	1 (2.8%) (環状 14 番 染色体)			
原因不明	2 (5.7%)			

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

14 番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患の臨床像
遺伝子診断にて確定診断された 35 症例の主治医への
質問紙法による二次調査を行った。結果は以下の通り
である。

胎児期の臨床像

胎児期には羊水過多、胸郭低形成、腹壁の異常で診断
される。胎児期の臨床像は下記の通りである。

羊水過多	31/34							
羊水過多が判明した時期	中央値 25w (n=18 : 19-30w)							
羊水穿刺(回)	0	1	2	3	4	5	6	7
症例数	5	2	4	4	5	4	2	1
	複数回の穿刺 24/31							

胸郭低形成に気づかれていた	8/21
胸郭低形成が判明した時期	中央値 28.5w (n=6 : 23-31w)
腹壁異常に気づかれていた	11/21
腹壁異常が判明した時期	中央値 26.5w (n=6 : 19-31w)
在胎週数	中央値 35w (n=34 : 24-38w)
胎盤重量 (在胎週数別平均胎盤重量比%)	平均値 162.1±41.9% (n=29, 107-262%)
子宮内胎児発育遅延	0/33

患者において、34 症例中 31 症例で羊水過多を認めた。
羊水過多は 25 週ごろより同定され、複数回の穿刺を必要
とする症例を多数認めた。胸郭異常は 28 週ごろより認め
られる症例が多かった。腹壁異常は半数で胎児期に認め
た。在胎週数は平均 35 週、胎盤重量は在胎週数別平均
重量に比較して平均 162%と胎盤過形成を認めた。子
宮内胎児発育遅延はみとめなかった。

出生後の臨床像

胸郭異常	
ベル型の胸郭	35/35
腹壁異常	32/35
腹直筋離開のみ	21/32
臍帯ヘルニア	11/32
特徴的顔貌	

前額部突出	22/30
毛深い額	21/32
眼瞼裂狭小	25/33
平坦な鼻梁	32/33
前向き鼻孔	25/30
小耳	11/31
突出した人中	29/31
髭状の口唇	14/31
小顎	32/33
その他	
発達遅延	27/27
けいれん	1/28
摂食障害	28/29
翼状頰、短頸	30/32
喉頭軟化症	9/26
心疾患	9/33(PDA:3, PS:1, ASD:2, 不明:3)
鼠径ヘルニア	8/31
外反股	4/25
関節拘縮	21/31
側弯症	14/30
肝芽腫	3/35 (3例とも3歳未満の発症)

出生後の臨床像はベル型の小胸郭、腹壁異常はほぼ全
例で認め非常に特異性の高い所見であった。前額部突
出、平坦な鼻梁、突出した人中、小さい顎などの
特徴的顔貌、発達遅延、摂食障害、などを認め、注目
すべき所見として 35 例中 3 例で肝芽腫の合併を認め
た。

長期予後

生命予後	(n=35, 生後 2 時間 ~ 16 歳)
生存	27 症例
死亡	8 症例(ダイソミー4 例、微小欠失 3 例、染色体異常 1 例)
死亡した時期、原因、児の在胎週数 (n=8)	
0~7 日	2 症例(34w: 出生直後の蘇生に反応せず、28w: 頭蓋内出血)

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

8日～6か月	0症例
6か月～1歳	2症例(34w: 壊死性腸炎、27w: 発熱時に心停止)
1歳～	4症例
	2症例(24w, 32w: 肝芽腫合併例)
	2症例(35w, 35w: 呼吸器感染症)

人工呼吸管理の有無 (n=33)

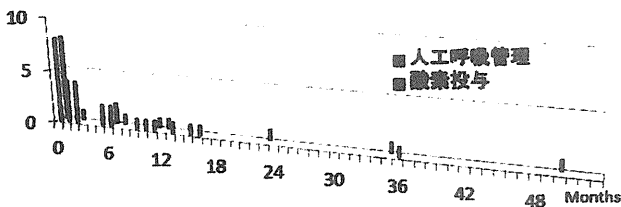
施行: 31症例
未施行: 2症例(C-PAP+O ₂ , O ₂ のみ)

退院後の入院回数およびその理由 (n=14)

0回	6症例
1回	1症例(換気不全、ヘルニアの手術)
2回	2症例(イレウス、気管支炎&熱性けいれん)
3回	1症例(呼吸器感染症)
5回以上	4症例(呼吸器感染症)

人工呼吸管理は33名中31例で施行され、出生時呼吸障害は必発であり、その改善に長い時間を必要とする症例が多いが、急性期をのりきれば成長に伴って改善する場合も多かった。

人工呼吸管理期間 (n=26, 中央値2m, 2日から3歳)



腹壁の異常	32/35
腹直筋離開のみ	21症例
臍帯ヘルニア	11症例(8例で手術施行)
便秘の有無	25症例中11症例であり(下剤、浣腸で対応)
摂食障害	26/28
経管栄養期間	19症例で情報が得られた
	1か月以内 3症例
	1か月以上6か月以内 5症例
	6か月以上1年6か月以内 4症例
	1年6か月以上 6症例

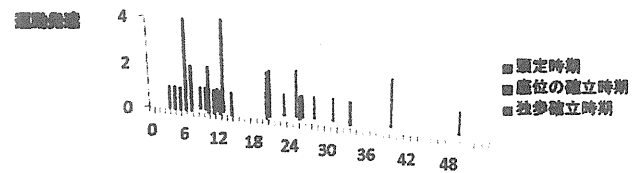
摂食リハビリ 19症例中10症例で施行

腹壁異常のうち11例が臍帯ヘルニアで手術を必要とした。便秘を約半数に認めた。哺乳不良を大多数で認め、半年以上の経管栄養を必要とする症例が多かった。

運動神経発達

運動発達

頭定(4か月以上の児 n=18)	中央値 6.5m (得られず3名 1 11/12y, 1 1/12y, 3y)
座位(7か月以上の児 n=17)	中央値 12m (得られず5名 1/12y から 3 2/12y)
独歩(1歳6か月以上の児 n=13)	中央値 2 3/12y (得られず2名 1 11/12y, 3 10/12y)



神経発達(n=10)

DQ/IQ			
31~40	41~50	51~60	60~65
1症例	3症例	4症例	2症例
就学状況(n=6)			
特殊支援学級・養護学校	普通学級	未就学	
4症例	2症例	0症例	

ほぼ全例に運動、発達遅延の遅延を認めたが、就学に達した症例において、遅れは認めるものの通常の日常生活は可能であった。

D. 考察

これまで詳細は不明であった14番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患の臨床像を明らかとした。胎児期に診断の一助となるのは複数回の穿刺を必要とする羊水過多とベル型と形容される特徴的な小胸郭である。後ほど述べるように、新生児期の呼吸障害はほぼ全例に認められることから、診断後はNICUのある医療センターへの母体搬送が児の予後改善に重要と考えられる。出生後の臨床像としては、ベル型小胸郭、腹壁の異常は本疾患に非常に特異的な所見であり、臨床診断上重要と考えられる。また、3例において肝芽腫の合併を認めていることがこの研究で明らかとなった。本疾患と同様に父性発現遺伝子の過剰発現を認める Beckwith-Wiedemann 症候群においても腫瘍とくに肝芽腫の高発生が報告されており、

本疾患においても注意すべき合併症と考えられた。患児においては、腹部エコー、腫瘍マーカーなどによる定期的なフォローが必要と考えられる。長期予後については、35 症例中 8 例で死亡していることが明らかとなった。症例数が少ないため、遺伝学的病因と死亡との関連は明らかにすることはできなかった。死亡例は全員早産時でうち 2 例が肝芽腫合併例であった。以上の結果は適切な母体管理により満期に近い出生が、児の予後改善にも寄与すると考えられた。呼吸障害は出生直後からほぼ全例に認められる。2 か月程度の人工呼吸管理を必要とするが、人工呼吸器から離脱後に入退院を繰り返さず症例は比較的少なく、新生児期の呼吸障害を乗り切ったあとの予後は比較的良く考えられた。哺乳不良はほぼ全例に認められ、長期の経管栄養を必要とする症例が多かった。早期からの摂食リハビリの重要性が認識される。また、腹壁の異常に起因する便秘も多く認められた。一例壊死性腸炎での死亡例も認め、適切な暖下剤の投与が重要と考えられる。運動神経発達は全例に遅れを認めた。就学に達した 6 例が全例通学できており、知的発達は認められるが、日常生活は問題なく送れると考えられる。人工呼吸管理を長期必要とする症例が多いが、人工呼吸管理下での適切なリハビリテーションは患者の長期予後の改善に寄与すると考えられる。

E. 結論

14 番染色体父親性ダイソミーおよび類縁疾患の臨床像、長期予後を明らかとした。現時点において、根本的な治療はなく対症療法が中心となるが、生命予後と関連する新生児期の呼吸障害、肝芽腫の合併については、適切な母体管理、早期からの呼吸リハビリの導入、定期的なエコー、腫瘍マーカーによる腫瘍検索を目的としたフォローの重要性を認識した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

Kurosawa K, Enomoto K, Tominaga M, Furuya N,

Sameshima K, Iai M, Take H, Shinkai M, Ishikawa H,
Yamanaka M, Matsui M, Masuno M. Spastic

quadriplegia in Down syndrome with congenital duodenal stenosis/atresia. *Congenital Anomaly* (in press)

Kurosawa K, Masuno M, Kuroki Y. Trends in occurrence of twin births in Japan. *American Journal Medical Genetics A* 158A:75–77, 2012.

Soneda A, Teruya H, Furuya N, Yoshihashi H, Enomoto K, Ishikawa A, Matsui K, Kurosawa K. Proportion of malformations and genetic disorders among cases encountered at a high-care unit in a children's hospital. *European Journal of Pediatrics* 171:301–305, 2012.

Tachibana Y, Aida N, Enomoto K, Iai M, Kurosawa K. A case of Sjögren-Larsson syndrome with minimal MR imaging findings facilitated by proton spectroscopy. *Pediatric Radiology* 42:380–382, 2012.

Kurosawa K, Tanoshima-Takei M, Yamamoto T, Ishikawa H, Masuno M, Tanaka Y, Yamanaka M. Sirenomelia with a de novo balanced translocation 46,X,t(X;16)(p11.2;p12.3). *Congenital Anomaly* (in press)

黒澤健司 確定診断とその進め方 遺伝子医学 MOOK 別冊「遺伝カウンセリングハンドブック」 福嶋義光編 メディカルドゥ 58–59.

黒澤健司 先天奇形、先天奇形症候群、Dysmorphology 遺伝子医学 MOOK 別冊「遺伝カウンセリングハンドブック」 福嶋義光編 メディカルドゥ 76–79.

黒澤健司 予想外の結果が得られた場合：次世代シーケンシング 遺伝子医学 MOOK 別冊「遺伝カウンセリングハンドブック」 福嶋義光編 メディカルドゥ 345–347.

学会発表

1. 黒澤健司、石川亜貴、和田敬仁、小坂仁 Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)の臨床応用 第 53 回日本小児神経学会 横浜、2011.
2. Kurosawa K, Enomoto K, Furuya N, Ishikawa A, Tominaga M, Wada T, Masuno M, Kuroki Y. Estimation of prevalence of malformation syndrome by population-based birth defects monitoring system in Japan. European Human Genetics Conference.