

図3 メチル化解析結果

上段: MEG3-DMR メチル化テスト結果 下段: Bisulfite Sequence 結果

プローブ1, FISHプローブ2は, IG-DMR領域を包含する5,104bpの領域とMEG3-DMRを包含する5,182bpの領域をLA-PCRで増幅したPCR-産物をラベルして作成した⁴⁾.

3 結果

<メチル化解析>

MEG3-DMRのメチル化テストにおいて, 29症例中5症例でupd(14)matのメチル化パターンに一致する低メチル化を示した. 症例27はメチル化アレール特異的プライマーでもバンドを得られたが, 正常に比較してバンドの強度は低下していた. この6症例につき, IG-DMRのメチル化状態を解析したところコントロールに比較し低メチ

ル化を示した. 症例27は低メチル化傾向を示したが, モザイクにメチル化クローンが認められた(図3).

<マイクロサテライトマーカ解析>

症例4, 8, 18, 29は母親性ダイソミーであることが証明された. 症例27は母親性ダイソミーと正常のモザイクであった. 症例12はダイソミーが否定された(図4a, b, c).

<FISH解析>

症例12はダイソミーが否定されたため, FISH解析を行った. シグナルはFISHプローブ1, 2ともに2コピー認められ, 微小欠失は否定された(図4d).

B

Marker	Region	症例 4	症例 8	症例 18	症例 29
D14S261	14q11.2	-	-	-	hetero (mar)
D14S283	14q11.2	-	-	-	-(mar)
D14S275	14q12	iso	hetero	-	-(mar)
D14S70	14q13.1	-	-	-	-
D14S288	14q21.2	-	-	iso	iso
D14S276	14q22.3	hetero	-	-	hetero
D14S63	14q23.2	hetero	hetero	iso	hetero
D14S258	14q24.2	-	-	iso	hetero
D14S74	14q24.3	-	hetero	iso	hetero
D14S68	14q31.3	-	hetero	-	-
D14S280	14q32.12	-	-	hetero	hetero
D14S65	14q32.2	iso	hetero	-	-
D14S985	14q32.2	iso	-	iso	hetero
D14S292	14q32.33	iso	hetero	hetero	hetero

Marker	Region	症例 27	父	母
D14S261	14q11.2	275 297 297	i 275 299	297 273
D14S283	14q11.2	139 139 139	i 139 137	139 147
D14S275	14q12	152 146 148	h 152 156	146 148
D14S70	14q13.1	103 101 101	h 103 101	101 101
D14S288	14q21.2	196 190 204	h 196 188	190 204
D14S276	14q22.3	244 246 246	h 244 242	246 246
D14S63	14q23.2	193 187 189	h 193 187	187 189
D14S258	14q24.2	198 196 196	h 198 200	196 196
D14S74	14q24.3	305 299 301	h 305 299	299 301
D14S68	14q31.3	323 321 321	h 323 323	321 321
D14S280	14q32.12	241 243 247	h 241 245	243 247
D14S65	14q32.2	147 135 147	h 147 147	135 147
D14S985	14q32.2	247 247 249	h 247 253	247 249
D14S292	14q32.33	89 87 89	h 89 89	87 89

A

C

Marker	Region	症例 12	父	母
D14S261	14q11.2	298 298	298 274	298 298
D14S283	14q11.2	149 147 b	149 139	147 137
D14S275	14q12	146 146	146 156	146 146
D14S70	14q13.1	102 100 b	102 102	100 104
D14S288	14q21.2	201 191 b	201 203	191 207
D14S276	14q22.3	241	241 239	247
D14S63	14q23.2	187 187	187 187	187 187
D14S258	14q24.2	206 204	206 196	204 202
D14S74	14q24.3	299 313	299 260	313 303
D14S68	14q31.3	323 323	323 323	323 323
D14S280	14q32.12	248 246 b	248 248	246 246
D14S65	14q32.2	135 141	135 135	141 135
D14S985	14q32.2	255 255	255 251	255 257
D14S292	14q32.33	84 86	84 86	86 86

D

D

4 臨床像

メチル化異常を示した6症例の臨床像を示す

図 4 マイクロサテライトマーカー解析と FISH 解析の結果
 A. 症例 4, 8, 18, 29 のマイクロサテライトマーカー解析の結果
 B. 症例 27 のマイクロサテライトマーカー解析の結果
 C. 症例 12 のマイクロサテライトマーカー解析の結果
 D. 症例 12 の FISH 解析の結果

(表 1). 6 例中 5 例が女兒である。出生時、出生後の成長障害が明らかである。出生時体重が正常範囲内であったエピソードの症例 12 は、出生後の

表 1 臨床像

症 例	4	8	12	18	27	29
性 別	男	女	女	女	女	女
評価時の年齢	4歳2カ月	2歳7カ月	2歳2カ月	1歳9カ月	3歳4カ月	3歳4カ月
染色体	46,XY	46,XX	46,XX	46,XX	46,XX	46,XX/47,XX+mar(14)
原 因	upd(14)mat	upd(14)mat	エビ変異	upd(14)mat	upd と正常のモザイク	upd(14)mat
在胎週数	36w1d	37w3d	41w5d	40w4d	36w	40w5d
出生身長(cm)	-(-0.4 SD)	+(-4.0 SD)	-(-0.2 SD)	+(-2.5 SD)	Unknown	48(-0.6 SD)
出生体重(kg)	+(-1.8 SD)	+(-3.2 SD)	-(-0.5 SD)	+(-3.6 SD)	+(-3.3 SD)	+(-2.7 SD)
出生時頭圍(cm)	-(0.1 SD)	+(-1.6 SD)	Unknown	-(-0.9 SD)	Unknown	+(-4.2 SD)
評価時体重(kg)	+(-2.1 SD)	+(-2.8 SD)	+(-2.4 SD)	+(-3.7 SD)	+(-3.3 SD)	+ (+2.0 SD)
評価時身長(cm)	+(-2.9 SD)	+(-2.7 SD)	+(-3.1 SD)	+(-3.4 SD)	+(-4.5 SD)	+(-3.2 SD)
評価時頭圍(cm)	-(+0.4 SD)	-(0 SD)	+(-1.5 SD)	+(-1.8 SD)	+(-1.6 SD)	+(-0.7 SD)
筋緊張低下	+	+	+	+	+	+
発達遅延(運動)	+	-	Unknown	+	+	+
発達遅延(知的)	-	-	-	-	+(DQ 40.2)	+
						West 症候群の合併

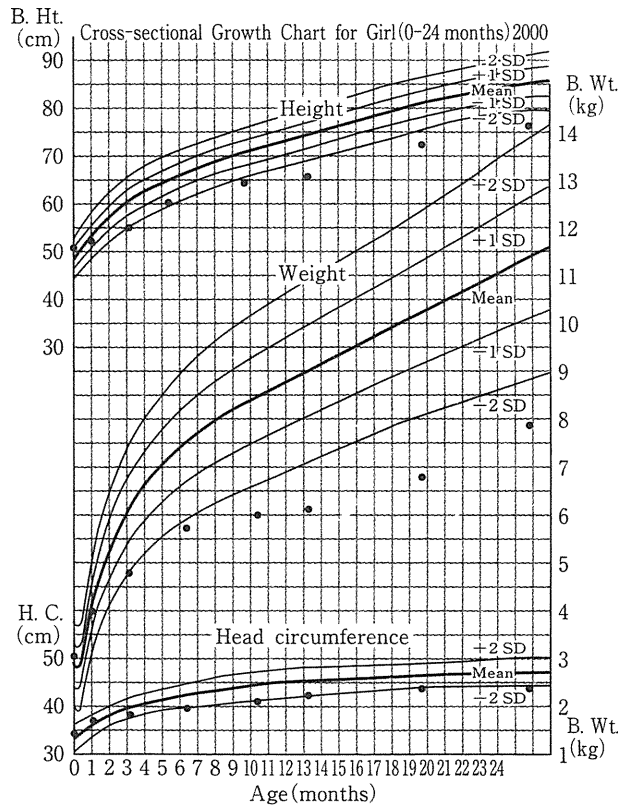


図 5 症例 12 の成長曲線

著しい成長障害を認めている (図 5)。筋緊張の低下は全例に認められており、運動発達の遅れも

認められているが、知的発達は 6 例中 4 例で正常である。

Prader-Willi 症候群 (PWS)

新生児期から乳児期

低出生体重児, 成長障害

著しい筋緊張低下 (哺乳障害)

短小陰茎, 陰嚢低形成

発達遅延

小さい手足

特徴的顔貌 (平坦な顔, テント上の上口唇, 薄い上口唇, 三角口)

幼児期

低身長, 小さな手足, アーモンド様の目, 過食, 肥満, 精神発育遅延など

思春期から成人

低身長, 小さな手足, 側湾, 骨粗しょう症, 思春期遅延など

14 番染色体母性片親性ダイソミー (upd(14)mat)

低出生体重児, 成長障害

筋緊張低下 (哺乳障害)

運動発達遅延

軽度精神発達遅延

小さな手足

特徴的顔貌 (前額部突出, 短い人中, 小顎, 下向きの口角 など)

図6 Prader-Willi 症候群と 14 番染色体母親性ダイソミーの臨床像の比較

5 考 察

これまでに upd (14) mat およびその類縁疾患は, upd (14) mat 35 例, 微小欠失 4 例, エピ変異 5 例が報告されている^{4, 9-12)}. 子宮内胎児発育遅延, 出生後の成長障害, 新生児・乳児期の筋緊張低下, 小さな手足, 哺乳不良, 思春期早発傾向が認められる. 14 番染色体がともに父親に由来する upd (14) pat およびその類縁疾患は羊水過多, 胎盤過形成, コートハンガー型, ベル型と形容される胸郭低形成, 腹壁異常といった特徴的な臨床像を呈するのに対し, upd (14) mat およびその類縁疾患は非特異的な臨床像であるため, これまでに同定された多くの症例が染色体異常を伴っていた⁵⁾. 近年 Mitter らによって, PWS 様の臨床像を示す患者のなかに upd (14) mat 患者が同定されたと報告された⁷⁾. PWS は 15 番染色体インプリンティング遺伝子群の発現異常で生じる疾患で新生児・乳児期には筋緊張低下, 哺乳不良, 発達遅延, 停留精巣などを示し, 幼児期になると成長障害, 小さな手足, 過食, 肥満, 行動異

常, 発達遅延が明らかとなってくる¹³⁾. 図6に PWS と upd (14) mat の臨床像をしめす. 新生児期から乳児期にかけては, 成長障害, 哺乳不良, 筋緊張低下, 発達の遅れと共通する臨床像が認められる. PWS に特徴的な過食, 性腺機能障害, 発達遅延といった症状は新生児・乳児期では目立たず, upd (14) mat 関連疾患との鑑別を必要とする. さらに, 本研究において 6 例中 5 例が女児であることから, 停留精巣などの外性器異常を同定しにくい女児においては, 鑑別にさらに注意が必要である. Mitter らの解析では PWS を疑われた 78 症例中 5 例で upd (14) mat を同定した⁷⁾. 一方, Cox らは 35 例の PWS を疑われた症例で 1 例も upd (14) mat を同定できなかった¹⁴⁾. 我々は遺伝子解析で 15 番染色体のメチル化異常, 微小欠失を否定された 29 例の PWS 表現型をもつ症例において 5 例の upd (14) mat 患者, 1 例のエピ変異患者を同定した. この結果は新生児・乳児期の PWS 疑い症例の鑑別疾患として upd (14) mat を念頭におく必要性を示すものである. 幼児期に入ると, upd (14) mat は比較的良好な精神運動発

達を認め、食行動の異常、性腺機能障害も認められないことから鑑別は容易であると考えられる。

本研究で同定された6症例において、子宮内胎児発育遅延は6例中5例で認められ、出生後の成長障害は全例において -2.5 SD以下の低身長を認めた。これまで報告されたupd (14) matのうち最終身長に達した5例の身長の平均は -3.4 SDであり⁴⁾、欠失症例、エピソード変異症例のうち成人に達した4例全例において -2 SD以下の低身長を認め、うち3例は -2.5 SDを下回っている⁹⁻¹²⁾。

Upd (14) mat 表現型の原因は、欠失患者における欠失領域と表現型の比較検討により、14q32.2領域内に存在する父性発現遺伝子であるDLK1, RTL1の発現消失が原因であることを我々は明らかにしている⁴⁾。さらにDlk1欠失マウスは成長障害を示し、Dlkが二倍に過剰発現するマウスでは、胎児期、出生時の過成長が報告されている^{15, 16)}。Rtl1欠失マウスにおいて胎児、胎盤ともに成長障害を示し、Rtl1過剰発現マウスでは胎盤過形成が同定されている¹⁷⁾。これらの結果は、DLK1, RTL1が胎盤、胎児の発育因子、さらには出生後の成長因子であることを示しており、DLK1, RTL1が子宮内胎児発育遅延、低身長の原因遺伝子である可能性を示唆するものである。

ま と め

新生児、乳児期に筋緊張低下、哺乳不良、発達遅延といったPWS様の臨床像を示す症例のなかにupd (14) matおよびその類縁疾患 (upd (14) mat 4例, upd (14) matと正常核型のモザイク症例1例, エピソード変異1例) を6例同定した。新生児

期・乳児期において、upd (14) matおよびその類縁疾患とPWSの臨床像は類似するため、PWS疑い症例の鑑別疾患としてupd (14) matを念頭におく必要性を示すものである。upd (14) matおよびその類縁疾患において成長障害は必発であり、その原因遺伝子であると考えられるDLK1, RTL1は子宮内胎児発育遅延、低身長の候補遺伝子となりうる。

文 献

- 1) Reik, W., et al. : Nat. Rev. Genet., 2 : 21, 2001.
- 2) Kaneko, I. T., et al. : J. Biochem., 133 : 699, 2003.
- 3) da Rocha, S. T., et al. : Trends Genet., 24 : 306, 2008.
- 4) Kagami, M., et al. : Nat. Genet., 40 : 237, 2008.
- 5) Kotzot, D. : Ann. Genet., 47 : 251, 2004.
- 6) Kagami, M., et al. : Placenta, 29 : 760, 2008.
- 7) Mitter, D., et al. : Am. J. Med. Genet. A., 140 : 2039, 2006.
- 8) Murphy, S. K., et al. : Hum. Mutat., 22 : 92, 2003.
- 9) Buiting, K., et al. : Hum. Mutat., 29 : 1141, 2008.
- 10) Temple, I. K., et al. : J. Med. Genet., 44 : 637, 2007.
- 11) Hosoki, K., et al. : Eur. J. Hum. Genet., 16 : 1019, 2008.
- 12) Zechner, U., et al. : Clin. Genet., 75 : 251, 2009.
- 13) Bittel, D. C., et al. : Expert Rev. Mol. Med., 7 : 1, 2005.
- 14) Cox, H., et al. : Am. J. Med. Genet. A., 127 : 21, 2004.
- 15) Moon, Y. S., et al. : Mol. Cell. Biol., 22 : 5585, 2002.
- 16) da Rocha, S. T., et al. : PLoS Genet. Epub Feb 27, e1000392. 2009.
- 17) Sekita, Y., et al. : Nat. Genet., 40 : 243, 2008.

