

201128/25A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

Prader-Willi症候群の診断・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 永井 敏郎

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

Prader-Willi症候群の診断・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 永井 敏郎

平成24(2012)年 3月

目 次

I. 総括研究報告

Prader-Willi症候群の実態把握と治療指針の作成	-----	1
研究代表者 獨協医科大学越谷病院 永井敏郎		

II. 分担研究報告

1. 治療指針の作成 (エビ) 遺伝子型—表現	-----	7
獨協医科大学越谷病院 永井敏郎		
2. PWS発症に影響を与える外的因子について	-----	10
浜松医科大学 緒方勤		
3. 成長ホルモン治療効果および性腺機能不全における治療効果の判定---	---	14
成育医療研究センター 堀川玲子		
4. Prader-Willi症候群における諸症状の評価と治療効果の判定-----	-----	17
獨協医科大学越谷病院 村上信行		

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	21
---------------------	-------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	23
-----------------	-------	----

総括研究報告

Prader-Willi 症候群の診断・治療指針の作成

研究代表者 永井 敏郎

獨協医科大学越谷病院 小児科 教授

研究要旨

本研究の目的は、Prader-Willi 症候群の診断・治療指針の作成である。本年度は、昨年度に引き続き、全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査、遺伝子診断法の確立、詳細な（エピ）遺伝子型—表現型解析（成長ホルモン分泌動態、性腺機能不全、精神症状、側弯症、脂質代謝異常）、情報発信の基盤整備がなされた。この成果は、疑いなく、PWS の診断・治療指針の作成に結実する筈である。さらに、今年度は PWS 発症に影響を及ぼす因子として、生殖補助医療、父親の環境因子と PWS 発症についても検討を行った。生殖補助医療およびその関連因子（高齢出産、環境因子など）は、PWS 発症リスクであることが示された。母親由来の因子のみならず、父親精子形成時の何らかの外的因子（環境因子、生活環境）が PWS 発症に影響を及ぼす可能性も示された。これらの研究成果により、PWS 発症に関わる因子の一部を明らかにすることができ、外的要因と PWS を含む先天異常症発症の関連の検討に際し、有用であると考えられる。

研究分担者

緒方勤、浜松医科大学小児科
堀川玲子、国立成育医療研究センター
村上信行 獨協医大越谷病院

A. 研究目的

本研究の目的は、Prader-Willi 症候群（PWS）の実態把握と、それに基づく治療指針の作成である。その必要性は、本症候群が、乳児期早期の筋緊張低下、乳児期以降の過食と高度の肥満傾向およびその結果としての糖・脂質代謝異常、中枢性（および続発性）性腺機能低下、成長障害、精神発達遅延など、生涯にわたり QOL の低下を招く難病であるにもかかわらず、現行治療法の評価、遺伝的異質性による症状や治療反応性の解析、長期予後の解明がなされていないことにある。

B. 研究方法

倫理面への配慮

本研究に当たって、患者もしくは家族から研究の内容、臨床データの使用について同意を得た。臨床データより、個人情報特定することはできない。また、本研究の遂行にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守し、検体の収集を含めた研究計画については、国立成育医療研究センター、および各検体の収集施設において予め倫理委員会の承認を得ている。検体は、書面によるインフォームド・コンセントを取得後に収集している。

C. 研究結果

全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査；

本研究班では、平成 22 年度、全国病院医師を対

象とする実態調査を行い、患者数、診断根拠、治療内容、合併症などについて、全国の小児遺伝学会会員、小児内分泌学会会員、全国重症心身障害児施設神経科医など、計 692 名の医師から回答を得た。その結果、把握できた患者数が 1,147 名（男性 604 名、女性 543 名）であり、さらに 0-55 歳まで、5 歳間隔で患者数を把握しえた。本年度は、患者会を開催し、その同意のもとに患者会をベースとする詳細なアンケート調査を実施した。

遺伝子診断法の確立；

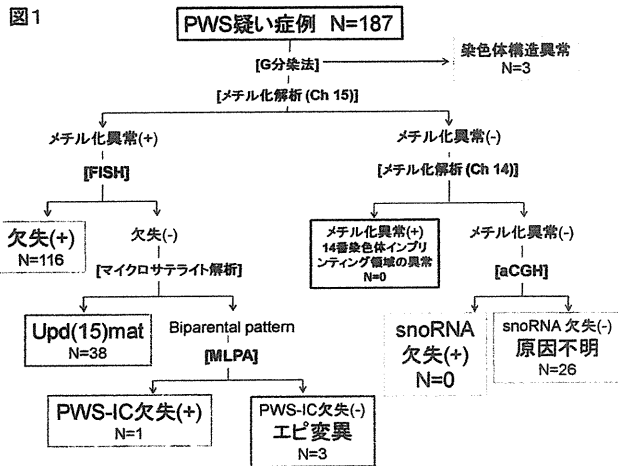
現在、第 15 番染色体長腕近位部に存在する Prader-Willi 症候群インプリンティング領域の分子遺伝学的解析を目的とした FISH probe, MLPA probe, メチル化解析プライマー、マイクロサテライトプライマー、さらに、snoRNA 欠失を同定するための高密度オリゴアレイ cGH プローブを作成しえた。これにより、理論的にすべての第 15 染色体インプリンティング領域の異常を同定できることになった。さらに、昨年度、われわれは、第 14 染色体インプリンティング領域の異常（母性ダイソミー、微小欠失、エピ変異）が PWS 類似疾患を生じることを見いだしており、これに基づき、第 14 染色体インプリンティング領域を解析するための FISH probe, メチル化解析プライマー、マイクロサテライトプライマー、高密度オリゴアレイ cGH プローブも作成しえた。これにより、PWS 様表現型陽性患者の遺伝子診断アルゴリズムを決定できた（図 1）。

（エピ）遺伝子型—表現型解析；

ほぼ全例の患者（187 例）において上記のように発症原因を特定した。その結果、欠失が 116 名（62.0%）、

upd(15)mat が 38 名 (20.3%)、エピソード症例が 3 名 (1.6%)、PWS-IC の微小欠失が 1 名 (0.5%)、染色体構造異常が 3 名 (1.6%) 見いだされた。また、PWS 様表現形を示しているながら、15 番染色体インプリンティング領域のメチル化異常を認めなかった 26 名に対し、aCGH や 14 番染色体インプリンティング領域のメチル化解析を施行したが、snoRNA の欠失症例や 14 番染色体インプリンティング領域の異常は認められなかった (図 1)。

そして、これらの結果をもとに、各発症原因と種々の症状や治療効果との関連性を検討した。



・成長ホルモン分泌動態の検討；

PWS の成長ホルモン分泌能について欠失群 (n=63) と、UPD (n=22) について比較検討を行なった。その結果、UPD 群でインスリン刺激後の GH 頂値が低値であり、また UPD 群でインスリン刺激後およびアルギニン刺激後ともに GH 分泌不全基準 (< 6 ng/ml) を満たすものの割合が多いことが判明した。GH 治療の反応性は、欠失と UPD 全体では同等であったが、GHD の基準を満たす群では、UPD 群の方が GH 使用開始 1 年後の身長伸びは良かった。

・Prader-Willi 症候群での成長ホルモン開始時期の検討；

GH 使用中の PWS 患者 26 名を、GH 使用開始時期により 2 群に分け (2 歳未満開始群 n=13、2 歳以降開始群 n=13)、GH 開始 1 年後の身長 SDS、insulin-like growth factor-1 (IGF-1)、body mass index (BMI)、体脂肪率 (%fat)、除脂肪筋量 (LBM)、骨密度 (BMD) について比較検討した。GH 開始時期に関わらず、全てのパラメーターにおいて有意な改善を認めたものの、2 群間における有意差は認められなかった。しかし体組成、骨密度を乳幼児期から改善させることで、糖尿病、骨粗鬆症などの予防に好影響を及ぼす可能性が示唆された。また 2 歳未満開始群では粗大運動発達が遅く、筋力低下が著しい症例が多く含まれていたが、GH 治療開始後にキャッチアップした可能性があり、今後粗大運動発達改善効果に関する検討も必要と思われた。

・Prader-Willi 症候群で成長ホルモン治療を中止した後に起こる早期の変化について；

PWS14 名 (GH 治療中止時年齢 14.0 歳~17.85 歳、欠失群 10 名、UPD 4 名) において、GH 治療中止後の BMI-SDS、脂肪分布解析 (内臓脂肪量、皮下脂肪量) について検討を行なった。GH 治療中止前 6 ヶ月と治療中止後 6 ヶ月での BMI-SDS の差の推移 (BMI-SDS Δ 0.5、BMI-SDS Δ -0.5) はそれぞれ 0.13 ± 0.42 、 -0.03 ± 0.24 と $p=0.288$ で有意差は認められなかったが、GH 治療中止前 1 年と治療中止後 1 年での BMI-SDS の差の推移 (BMI-SDS Δ 1、BMI-SDS Δ -1) は、 0.33 ± 0.45 、 -0.05 ± 0.37 ($p=0.038$) と有意差が認められた。GH 治療中止前 1 年 6 ヶ月と治療中止後 1 年 6 ヶ月での BMI-SDS の差の推移 (BMI-SDS Δ 1.5 と BMI-SDS Δ -1.5) は 0.40 ± 0.38 、 -0.11 ± 0.48 ($p=0.012$)、GH 治療中止前 2 年と治療中止後 2 年 (BMI-SDS Δ 2 と BMI-SDS Δ -2) では、 0.77 ± 0.62 、 -0.14 ± 0.46 ($p=0.001$) と明らかな有意差を認めた。GH 治療中止前 1 年と治療中止後 1 年での内臓脂肪、皮下脂肪の差の推移はそれぞれ内臓脂肪 (VAT Δ 1.0、VAT Δ -1 (n=8)) が 25.40 ± 17.38 、 3.50 ± 4.64 ($p=0.04$) であった。また皮下脂肪 (SAT Δ 1.0、SAT Δ -1 (n=8)) においても 76.83 ± 44.26 、 5.16 ± 19.80 ($P < 0.01$) と有意差を認めた。GH 治療中止前 2 年と治療中止後 2 年での内臓脂肪、皮下脂肪の差の推移はそれぞれ内臓脂肪 (VAT Δ 2.0、VAT Δ -2.0) が 25.40 ± 17.38 、 3.50 ± 4.64 ($p=0.04$) だった。また皮下脂肪 (SAT Δ 2.0、SAT Δ -2.0) が 5.16 ± 19.80 、 -15.40 ± 55.37 ($P < 0.01$)、また皮下脂肪 (SAT Δ 2.0、SAT Δ -2.0) においても 36.20 ± 24.77 、 8.40 ± 9.73 ($P < 0.01$) と有意差を認めた。

・Prader-Willi 症候群での糖尿病発症率・発症要因・治療法に関する検討；

PWS 患者 65 人を対象とし、糖尿病 (DM) 頻度、発症年齢、発症要因、DM 合併症、治療法について調査検討を行った。DM 発症頻度は 26% であり、その多くは 10 歳代前半に発症していた。DM 発症患者の BMI は、非罹患 PWS 患者の BMI と比較し有意に高値であり、肥満の有無は DM 発症に強く影響するものと考えられた。また、成長ホルモン補充がなされた患者群では DM 発症頻度が低かった。糖尿病性腎症を発症した患者は 5 名、糖尿病性網膜症を発症した患者は 2 名同定された。また治療に関して、約 60% で経口糖尿病薬が、約 65% でインスリンが用いられていた。

・男性ホルモン補充に関する検討；

男性 PWS 患者に対するテストステロン補充の効果と有害事象について検討した。検討項目は、BMI (body mass index)、%Fat、BMD (bone mineral density)、筋肉量、身体的二次性徴の発現、精神的効用について検討した。BMD と筋肉量は有意差をもって改善した。精神的効果は本人の QOL を改善した。有害事象の発現はなく、性ホルモン治療は PWS 成人患者に積極的に行うべき治療法と結論づけられた。

・Prader-Willi 症候群と広汎性発達障害の心理行動
症状の比較研究；

Prader-Willi 症候群 (PWS) を性別と遺伝子型に分類し、心理行動症状 (WAIS - III、PARS《広汎性発達障害
評定尺度》、WHOQOL - 26) を比較検討し、以下の結果
を得た。

- ①性別別では、すべての知能検査で女性の IQ が高か
った。
- ②幼児期のほうが広汎性発達障害の特性を有してい
る患者が多く、成人になるにつれてその傾向はやわら
いでいくと考えられる。
- ③母親の QOL については女性患者の母親のほうが低
かった。
- ④遺伝子型では、すべての IQ においても欠失型のほ
うが UPD よりも高かった。
- ⑤欠失型においては幼児期には広汎性発達障害の特
性を有しているが、成人になるにつれてその特性は変
化した。UPD 型では成人期に広汎性発達障害の特性を
有している傾向が高い。

・日本人 Prader-Willi 症候群での痙攣の頻度
と特徴；

本邦 Prader-Willi 症候群 (PWS) 患者での痙攣合併
の頻度と特徴を明らかにするために後方視的に痙攣
の頻度と特徴を調査した。日本の PWS 患者の痙攣合併
の頻度 21%であり、海外の報告と同様で、人種間によ
る差異はないと考えられた。このうち 57%が熱性痙攣
であり、2 歳以降の発症は少ないため、低年齢の PWS
の発熱時には注意が必要だが、幼少期を過ぎると痙攣
のリスクは減少すると考えられた。Angelman 症候群
に認めるような特徴的な脳波所見は PWS にはなく、ま
た難治に経過する例は少なかった。

・Prader-Willi 症候群 (PWS) の GH 療法における脂
質の研究；

Prader-Willi 症候群 (PWS) では、肥満、過食、
内臓脂肪の蓄積、成長ホルモン(GH)欠乏、糖尿病な
ど種々の要因が脂質代謝に影響を及ぼすことが推察
される。GH 療法における、脂質環境に対する影響を
53例で後方視的に検討した。使用後、コレステロー
ル、LDL が減少、HDL が上昇する傾向があった。体
脂肪率の変化と脂質の変化には相関がなかった。イン
スリン抵抗性は上昇したがHbA1Cの変化はなかった。

PWS において、GH 療法は脂質環境を改善する可
能性があり、積極的に導入するべきと思われた。

・Prader-Willi 症候群 (PWS) の体脂肪分布における
研究；

Prader-Willi 症候群 (PWS) は、乳児期、GH 投与期、
年長肥満期と、体組成が劇的に変化する。また、肥満
PWS では、単純性肥満と比し心血管性疾患リスクが低
く、その要因として脂肪分布が異なるためとされてい
る。PWS 脂肪分布の特徴と GH 療法の影響を検討した。
PWS 48 例 (男:女 30:18、年齢中央値 16.8 歳

(6.4-39.4) の、臍高腹部 CT の脂肪分布(内臓脂
肪量:V、皮下脂肪量:S、V/S)を FatScan[®]で解析し、
年齢での変化と、①GH 投与中群、②投与なし(既往
あり群)③投与なし(既往なし群)の3群で比較し
GH の脂肪分布に対する影響を検討した。加齢と共に
脂肪量は蓄積したが、肥満群 (BMI \geq 25)22 例中、内
臓脂肪優位型肥満は 5 人のみであった。①群は②、③
群に比し V が少なかった。GH 中止により V は著明に
増加するため、GH 療法は成人でも継続する事が望ま
しい。

・肥満 Prader-Willi 症候群 (PWS) の体脂肪分布の特
徴-アディポサイトカインが高脂血症と糖尿病へ与え
る影響について-；

Prader-Willi 症候群 (PWS) は、年長児からの高度
肥満と肥満合併症が問題になる疾患である。しかし、
単純性肥満と比し心血管性疾患 (CVD) のリスクが低
く、その一因として、内臓脂肪が相対的に少なく、ア
ディポネクチンが高いからであると推察されている。
肥満 PWS 27 例 (男:女 18:9、年齢中央値 23.0 歳

(14.9-54.6)、BMI 中央値 33.3 (26.6-60.6)) で、臍
高腹部 CT の脂肪分布(内臓脂肪量:V、皮下脂肪量:
S、V/S)を FatScan[®]で解析し、脂肪分布の特徴と、
アディポサイトカイン、脂質代謝、糖代謝異常への関
連を検討した。PWS の肥満は皮下脂肪優位型であった。
脂質プロファイル、アディポネクチンは高度肥満を呈
するにもかかわらず正常値であった。V が多いほどア
ディポネクチンは低く、TC、TG、HbA1C が高かった。V
が相対的に少なく、アディポネクチンが高い事が CVD
のリスクを下げている一因と考えられた。一方、内臓
脂肪量が多くアディポネクチンが低い肥満 PWS 症例
には、積極的な治療介入が必要である。

・Prader-Willi 症候群患者と側彎症；

PWS に合併した側弯症の手術治療は、手術合併症の
発生率が高く治療に難渋することが知られている。し
かし近年小児科領域で Growth Hormone (GH) 補充
療法を中心とした治療が積極的におこなわれるよう
になり、治療による体組成改善などの全身状況は改善
してきている。当科における手術患者は、肥満患者は
少なく手術成績も良好であり、術前の管理法が向上す
ることにより、側弯症手術のリスクは少なくなること
が示唆された。したがって、PWS 患者の側弯症の治療
にあたっては、小児科、整形外科とのチーム医療が重
要であると考えられた。

・Prader-Willi 症候群における成長ホルモン療法と
側弯症の関連：急速進行例について；

成長ホルモン療法開始後に 9 か月間に側弯症が発
症・増悪した例を報告した。その急速進行例の増悪因
子について、身長伸び、脊椎の形態異常、脊椎負荷
の変化(運動能の変化、体重変化)、傍脊筋の増大
率や左右差の観点より検討した。その結果、GH 使用
による成長率の改善が見られた時期に側弯症が発
症・増悪し、また独歩開始による脊椎への加重増加も

急性増悪との関連が疑われた。したがって、PWS 症候群患者においては、身長伸び始める時期および歩行開始時期には側弯の発症に十分注意し、3 ヶ月毎に側弯症のチェックが必要である。

PWS 発症に影響を及ぼす因子の検討；

・高年齢出産と母性ダイソミー；

Prader-Willi 症候群 (PWS) の約 25%は、15 番染色体母性片親性ダイソミー (upd(15)mat) により発症する。この upd(15)mat を引き起こすメカニズムのひとつに trisomy rescue が知られており、trisomy rescue タイプの upd(15)mat は、減数第一分裂あるいは第二減数分裂時の不分離により生じた異数性を有する卵子が正常な精子と受精した後、父性由来の 15 番染色体が脱落することで生じる。そして、高年齢出産が卵子における減数第一分裂不分離のリスクファクターであることから、減数第一分裂時の不分離を介する trisomy rescue タイプの upd(15)mat は、近年の高年齢出産傾向を反映して、増加傾向にあると推察される。本研究では、PWS138 例の分子遺伝学的解析を通じ、高年齢出産が第一減数分裂不分離後の trisomy rescue を介した 15 番染色体母性片親性ダイソミー発症のリスクファクターであることを明らかとした。

・生殖補助医療が PWS 発症に与える影響について；

本研究では、14 名の生殖補助医療および非配偶者間人工授精、排卵誘発剤のみの使用による出生児 14 名を含む PWS142 名を対象に分子遺伝学的解析を行い、不妊治療と PWS 発症の因果関係につき検討を行った。不妊治療により出生した児の頻度は、一般集団に比し、PWS 患者群で有意に高頻度であり、このことは不妊治療およびその関連因子（不妊体質、高年齢出産など）が PWS 発症に影響を及ぼす可能性を示唆する。また、第一減数分裂不分離後の trisomy rescue を介した upd(15)mat (TR/GC[M1]) 患者の割合は、自然妊娠群に比し、不妊治療群において有意に高値であった。しかし、母親年齢適合集団における解析では、TR/GC[M1] の頻度に有意差は認められなかった。本研究により、PWS 患者において高頻度に不妊治療による出生児が認められ、この要因として、高年齢出産、父親年齢の上昇、不妊の原因そのものなどが関与している可能性が考えられた。

・Prader-Willi 症候群における誕生季節性の検討；

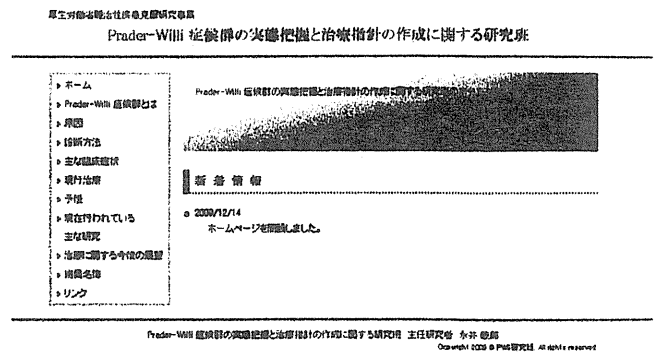
Prader-Willi 症候群 (PWS) の発症に関与する環境因子の同定のために後方視的に誕生季節性を調査した。少なくとも 1990 年代以降に出生した微小欠失が原因の PWS 患者においては、誕生季節性を認めており、秋生まれが多く春生まれが少ない。精子形成時の環境因子が PWS 発症に関与する可能性が示唆された。

情報発信；

ホームページの設置を行い、適宜その更新を行った。
(<http://www.dokkyomed.ac.jp/dep-k/kshouni/PWS/>

index.html) (図 1)

図 1



D. 考察

全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査；

この全国患者会の開催は、全国患者会間の連携および患者会と医療者間の連携強化に基盤を確固とするものである。また、患者会でなければできない詳細な調査がなされたことは、PWS 症候群の研究を大きく進展させるものである。患者会の同意を得て、生殖補助医療の有無までを含む詳細な調査がなされたことは、今後、(エピ) 遺伝子型-表現型解析に基づく、治療効果の判定、長期予後や合併症の評価に大きく貢献すると考えられる。

遺伝子診断法の確立；

本年度の研究から、PWS 様表現型を有する患者の確定診断や鑑別診断のツールが完成し、さらに、遺伝子診断フローチャートも完成させた。

しかし、現時点での問題点は、このフローチャートで用いられているメチル化解析は保険収載されておらず、自費による検査、あるいは限られた研究施設でしか実施しえないものである点である。保険収載されている FISH 解析は、欠失により発症した PWS 患者のみを同定する一方、メチル化解析は、PWS のほとんどを診断することができる有用なスクリーニング法であるため、早期の保険収載が望まれる。

本研究中で、近年の高年齢出産の影響により upd(15)mat 患者の相対的頻度の上昇が認められたが、この知見は FISH で診断不能な PWS 症例の増加を意味するものであり、メチル化試験の保険収載に向けた重要な根拠となるものである。

(エピ) 遺伝子型-表現型解析；

上記の遺伝子診断法が確立し、われわれが検体を入手できた全員の患者の遺伝的発症原因が決定したことで、大きく進展した。これは、他の研究分担者報告にあるように、今後の PWS の診断・治療指針の確立に重要な役割を果たすことに疑いがない。

各臨床症状および治療効果の判定；

成長ホルモン分泌動態、性腺機能不全、精神症状、側弯症、脂質代謝異常と、PWS における様々な合併

症に関する詳細なデータが得られたことは、治療指針の作成に極めて有用とであったと考えられる。本研究で得られたデータをもとに、PWS 患者に有用であると考えられる診療指針、治療法を、内分泌学的、神経学的、および整形外科的観点より以下にまとめる。

1) 内分泌学的症状

GH 使用は、低身長のみならず、体組成の改善、脂肪代謝の改善を促し、有益な治療法である。また、乳幼児期の粗大運動発達を促す作用もあることから早期に GH 使用開始すること、また、GH 中止後の内臓脂肪の蓄積が悪化することから、成人期でも GH 使用を継続する必要性が示された。

男性患者に対する男性ホルモン補充に関しては、従来想定されていた攻撃性の増悪などの有害事象はなく、むしろ体組成や QOL が改善された。したがって、男性ホルモン補充は、有益な治療法の一つであると考えられる。

BMI の高い PWS 患者では糖尿病の発症リスクが特に高く、慎重なフォローが必要である。また、食事療法、運動療法に加え、経口糖尿病薬、インスリン治療も有効であった。

2) 神経学的症状

本研究により PWS に特異的な心理行動症状が少しずつ明らかとなってきた。これらの知見は、PWS 特異的な治療指針の作成に非常に有用である。

2 歳未満の PWS 患者における熱性痙攣発症頻度は一般小児集団と同様であり、また、PWS 特異的な脳波異常も認められなかったことより、PWS における痙攣の合併リスクは高くないことが考えられる。

3) 側弯症

手術適応例に対しては、GH 使用などによる体組成を改善し、術前管理を向上させることで、側弯症の治療に対する手術リスクを減じることができる。

一部の症例で、GH 使用後に側弯症の急性増悪例が存在し、GH 開始後の身長伸び始める時期および歩行開始時期には側弯の発症や増悪に留意する必要がある。

PWS 発症に影響を及ぼす因子の検討；

本研究中においては、高齢出産、生殖補助医療、患者出生の季節性の 3 点につき、PWS 発症との関連を検討した。高齢出産と母性ダイソミーの研究により、PWS 発症における交絡因子を明確にすると共に、生殖補助医療を受ける母親が通常高齢であることから、今後の生殖補助医療における PWS を含むインプリンティング疾患発症の評価において有用と考えられる。

また、患者出生の季節性の検討からは、精子形成時の外的因子（環境物質、生活習慣など）が PWS 発症に影響を及ぼす可能性を示唆するものであり、今後も検討を行う必要がある。

情報発信：ホームページの設置を行い、適宜その更新を行った。

(<http://www.dokkyomed.ac.jp/dep-k/kshouni/PWS/index.html>)

E. 結論

全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査、遺伝子診断法の確立、詳細な（エピ）遺伝子型—表現型解析（成長ホルモン分泌動態、性腺機能不全、精神症状、側弯症、脂質代謝異常）、PWS 発症に影響を及ぼす因子の検討、情報発信の基盤整備がなされた。この成果は、疑いなく、PWS の診断・治療指針の作成に結実する筈である。さらに、今年度は PWS 発症に影響を及ぼす因子として、生殖補助医療、父親の環境因子と PWS 発症についても検討を行った。生殖補助医療およびその関連因子（高齢出産、環境因子など）は、PWS 発症リスクであることが示された。母親由来の因子のみならず、父親精子形成時の何らかの外的因子（環境因子、生活環境）が PWS 発症に影響を及ぼす可能性も示された。これらの研究成果により、PWS 発症に関わる因子の一部を明らかにすることができ、外的要因と PWS を含む先天異常症発症の関連の検討に際し、有用であると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsubara K, Murakami N, Nagai T, Ogata T. Maternal age effect on the development of Prader-Willi syndrome resulting from upd(15)mat through meiosis 1 errors. Matsubara K, Murakami N, Nagai T, Ogata T. 2011, *J Hum Genet* 56(8):566-571
2. Tsuchiya T, Oto Y, Ayabe T, Obata K, Murakami N, Nagai T. Characterization of diabetes mellitus in Japanese Prader-Willi syndrome. *Clin Pediatr Endocrinol*, 2011,20:30-38.
3. Miyazaki O, Nishimura G, Kagami M, Ogata T. Radiological evaluation of dysmorphic thorax of paternal uniparental disomy 14. *Pediatr Radiol*, 2011,41:1013-9.
4. Nakabayashi K, Trujillo AM, Tayama C, Camprubi C, Yoshida W, Lapunzina P, Sanchez A, Soejima H, Aburatani H, Nagae G, Ogata T, Hata K, Monk D. Nakabayashi K, Trujillo AM, Tayama C, Camprubi C, Yoshida W, Lapunzina P, Sanchez A, Soejima H, Aburatani H, Nagae G, Ogata T, Hata K, Monk D. *Hum Mol Genet*, 2011, 20:3188-97.
5. Yamazawa K, Nakabayashi K, Matsuoka K, Masubara K, Hata K, Horikawa R, Ogata T. Androgenetic/biparental mosaicism in a girl with Beckwith-Wiedemann syndrome-like and upd(14)pat-like phenotypes. *J Hum Genet*, 2011, 56(1):91-3.

6. Nakamura Y, Nagai T, Iida T, Ozeki S, Nohara Y. Growth hormone supplement treatment reduces the surgical risk for Prader-Willi syndrome patients. *Eur Spine J*, 2011. (Published online)
 7. Sakazume S, Ohashi H, Sasaki Y, Harada N, Nakanishi K, Sato H, Emi M, Endoh K, Sohma R, Kido Y, Nagai T, Kubota T. Spread of X-chromosome inactivation into chromosome 15 is associated with Prader-Willi syndrome phenotype in a boy with a t(X;15)(p21.1;q11.2) translocation. *Hum Genet*, 2011, 131:121-130.
 8. Fuke-Sato T, Yamazawa K, Nakabayashi K, Matsubara K, Matsuoka K, Hasegawa T, Dobashi K, Ogata T. Mosaic upd(7)mat in a patient with Silver-Russell syndrome. *Am J Med Genet A*, 2012, 158A(2):465-8.
 9. Oto Y, Obata K, Matsubara K, Koza Y, Tsuchiya T, Sakazume S, Yoshino A, Murakami N, Ogata T, Nagai T. Growth Hormone Secretion and its Effect on Height in Pediatric Patients with Different Genotypes of Prader-Willi Syndrome. 2012, *Am J Med Genet A*. (In press)
 10. 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. *Eur J Hum Genet*, 2012, In press.
2. 学会発表
 1. 第25回小児脂質研究会(京都)「Prader Willi 症候群 (PWS) の脂肪分布解析と成長ホルモン(GH)療法が分布に及ぼす影響について」阿部美子、田中百合子、村上信行、永井敏郎
 2. 第25回小児脂質研究会(京都)「肥満 Prader-Willi 症候群(PWS)の脂肪分布の特徴 -アディポサイトカインが高脂血症と糖尿病へ与える影響について-」田中百合子、阿部美子、村上信行、永井敏郎
 3. 第114回小児科学会（東京）「高齢出産は trisomy rescue に起因する母性片親性ダイソミーの発症リスクである：Prader-Willi 症候群 154 例の分子遺伝学的解析」松原圭子、佐藤智子、鏡雅代、緒方勤、永井敏郎
 4. European Human Genetics Conference 2011 (Amsterdam) “Risk assessment of ART and its related factors in the development of Prader-Willi syndrome” Keiko Matsubara, Nobuyuki Murakami, Satoru Sakazume, Yuji Oto, Toshiro Nagai, Tsutomu Ogata.
 5. 第34回小児遺伝学会（横浜）「ART および ART 関連因子は PWS の発症リスクとなるか？」松原圭子、村上信行、坂爪悟、大戸祐二、緒方勤、永井敏郎
 6. 61st, The American Society of Human Genetics (Montreal) “Risk assessment of ART and its related factors in the development of Prader-Willi syndrome” Keiko Matsubara, Nobuyuki Murakami, Satoru Sakazume, Yuji Oto, Toshiro Nagai, Tsutomu Ogata.
 7. 第45回小児内分泌学会（大宮）「ART および ART 関連因子は PWS の発症リスクとなるか？」松原圭子、村上信行、佐藤智子、鏡雅代、永井敏郎、深見真紀、緒方勤
 8. 第56回人類遺伝学会（千葉）「ART および ART 関連因子は PWS の発症リスクとなるか？」松原圭子、村上信行、佐藤智子、鏡雅代、永井敏郎、深見真紀、緒方勤
- 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
なし

分 担 研 究 報 告

治療指針の作成と（エピ）遺伝子型—表現型解析

研究分担者 永井 敏郎

獨協医科大学越谷病院 小児科 教授

研究要旨

本研究の目的は、Prader-Willi 症候群の診断・治療指針の作成である。本年度は、昨年度に引き続き、Prader-Willi 症候群の全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査、遺伝子診断法の確立、詳細な（エピ）遺伝子型—表現型解析、情報発信の基盤整備がなされた。

これらの結果は、PWS の診断・治療指針の作成に結実するはずである。

共同研究者

大戸祐二 獨協越谷病院

（成長ホルモンの分泌動態の検討、GH 中止後の早期の変化について、GH 開始時期の検討）

城戸康宏 獨協越谷病院（性ホルモン補充）

土屋貴義（Prader-Willi 症候群での糖尿病発症率・発症要因・治療法に関する検討）

タより、個人情報特定することはできない。また、本研究の遂行にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針を遵守し、検体の収集を含めた研究計画については、国立成育医療研究センター、および各検体の収集施設において予め倫理委員会の承認を得ている。検体は、書面によるインフォームド・コンセントを取得後に収集している。

A. 研究目的

本研究の目的は、Prader-Willi 症候群（PWS）の実態把握と、それに基づく治療指針の作成である。その必要性は、本症候群が、乳児期早期の筋緊張低下、乳児期以降の過食と高度の肥満傾向およびその結果としての糖・脂質代謝異常、中枢性（および続発性）性腺機能低下、成長障害、精神発達遅延など、生涯にわたり QOL の低下を招く難病であるにもかかわらず、現行治療法の評価、遺伝的異質性による症状や治療反応性の解析、長期予後の解明がなされていないことにある。

本分担研究では、治療指針の作成と（エピ）遺伝子型—表現型解析を行った。

B. 研究方法

全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査；

食生活、活動性、合併症、治療内容とその効果及び副作用、生殖補助医療の有無など、多岐にわたる詳細な調査を実施した。

遺伝子診断法の確立；

昨年度に引き続き、PWS 表現型陽性患者の詳細な分子遺伝学的解析により、遺伝子診断法のフローチャートを作成した。

（エピ）遺伝子型—表現型解析；

上記のフローチャートにより個々の症例の発症原因を同定し、種々の症状や治療効果との関連性を、研究分担者とともに検討した。

（倫理面への配慮）

本研究に当たって、患者もしくは家族から研究の内容、臨床データの使用について同意を得た。臨床デー

C. 研究結果

全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査；

本研究班では、平成 22 年度、全国病院医師を対象とする実態調査を行い、患者数、診断根拠、治療内容、合併症などについて、全国の小児遺伝学会会員、小児内分泌学会会員、全国重症心身障害児施設神経科医など、計 692 名の医師から回答を得た。その結果、把握できた患者数が 1,147 名（男性 604 名、女性 543 名）であり、さらに 0-55 歳まで、5 歳間隔で患者数を把握しえた。本年度は、患者会を開催し、その同意のもとに患者会をベースとする詳細なアンケート調査を実施した。

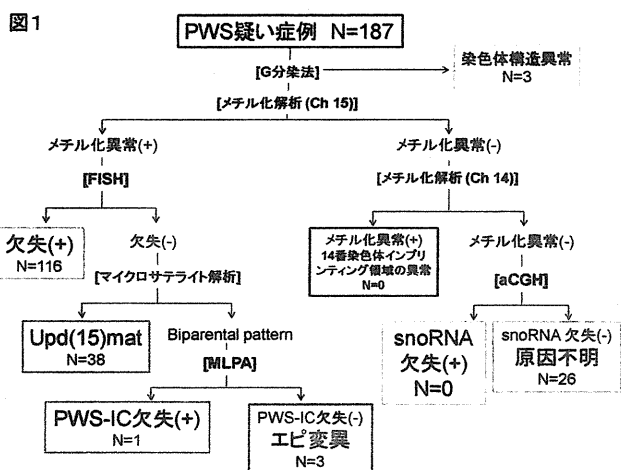
遺伝子診断法の確立；

昨年度に引き続き実施し、第 15 番染色体長腕近位部に存在する Prader-Willi 症候群インプリンティング領域の分子遺伝学的解析を目的とした FISH probe, MLPA probe, メチル化解析プライマー、マイクロサテライトプライマー、さらに、snoRNA 欠失を同定するための高密度オリゴアレイ cGH プローブを作成しえた。これにより、理論的にすべての第 15 染色体インプリンティング領域の異常を同定できることになった。さらに、昨年度、われわれは、第 14 染色体インプリンティング領域の異常（母性ダイソミー、微小欠失、エピ変異）が PWS 類似疾患を生じることを見いだしており、これに基づき、第 14 染色体インプリンティング領域を解析するための FISH probe, メチル化解析プライマー、マイクロサテライトプライマー、高密度オリゴアレイ cGH プローブも作成しえた。これにより、PWS 様表現型陽性患者の遺伝子診断アルゴリズムを決定できた（図 1）。

（エピ）遺伝子型－表現型解析；

ほぼ全例の患者（187例）において上記の方法を用いて各々の発症原因を特定した。その結果、欠失が116名（62.0%）、upd(15)matが38名（20.3%）、エピ変異症例が3名（1.6%）、PWS-ICの微小欠失が1名（0.5%）、染色体構造異常が3名（1.6%）で見いだされた。また、PWS様表現形を示していながら、15番染色体インプリンティング領域のメチル化異常を認めなかった26名に対し、aCGHや14番染色体インプリンティング領域のメチル化解析を施行したが、snoRNAの欠失症例や14番染色体インプリンティング領域の異常は認められなかった（図1）。

そして、これらの結果をもとに、各発症原因と種々の症状や治療効果との関連性を検討した。



・Prader-Willi 症候群での糖尿病発症率・発症要因・治療法に関する検討（土屋）

思春期以降 PWS にはしばしば糖尿病の合併が認められる。欧米では PWS における DM 合併頻度は 7-20% と報告されているが、日本人のデータは非常に少ない。本研究では 1) 頻度、2) 発症年齢、3) 危険因子、4) 長期合併症、5) 治療に関して調査した。対象は 10-53 歳の 65 人で全例日本人であった。DM の頻度は 26.2% (17/65) で、発症年齢は 10-29 歳 (中央値年齢 15 歳) であった。非 DM 患者に比べて DM 患者では BMI が著明に上昇していた。DM 患者の中では、GH 使用歴のある患者は少数であった。糖尿病性腎症では、蛋白尿 (U-Alb/Cr $\geq 300\text{mg/gCr}$) が 5.9% (1/17)、ミクロアルブミン尿 (U-Alb/Cr 30-300mg/gCr) が 23.5% (4/17) であった。糖尿病性網膜症では非増殖性網膜症が 11.8% (2/17) であった。経口血糖降下剤では α -グルコシダーゼ阻害剤が 58.8% (10/17) と最も使用頻度が高く、インスリンの使用は 64.7% (11/17) であった。

情報発信；

ホームページの設置を行い、適宜その更新を行った。
(<http://www.dokkyomed.ac.jp/dep-k/kshouni/PWS/index.html>)

D. 考察

全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査；

この全国患者会の開催は、全国患者会間の連携および患者会と医療者間の連携強化に基盤を確固とするものである。また、患者会でなければできない詳細な調査がなされたことは、PWS 症候群の研究を大きく進展させるものである。患者会の同意を得て、生殖補助医療の有無までを含む詳細な調査がなされたことは、今後、（エピ）遺伝子型－表現型解析に基づく、治療効果の判定、長期予後や合併症の評価に大きく貢献すると考えられる。

遺伝子診断法の確立；

本年度の研究から、PWS 様表現型を有する患者の確定診断や鑑別診断のツールが完成し、さらに、遺伝子診断フローチャートも完成させた。

しかし、現時点での問題点は、このフローチャートで用いられているメチル化解析は保険収載されておらず、自費による検査、あるいは限られた研究施設でしか実施しえないものである点である。保険収載されている FISH 解析は、欠失により発症した PWS 患者のみを同定する一方、メチル化解析は、PWS のほとんどを診断することができる有用なスクリーニング法であるため、早期の保険収載が望まれる。

本研究中で、近年の高齢出産の影響により upd(15)mat 患者の相対的頻度の上昇が認められたが、この知見は FISH で診断不能な PWS 症例の増加を意味するものであり、メチル化試験の保険収載に向けた重要な根拠となるものである。

（エピ）遺伝子型－表現型解析；

上記の遺伝子診断法が確立し、われわれが検体を手に入れた全員の患者の遺伝的発症原因が決定したことで、大きく進展した。これは、他の研究分担者報告にあるように、今後の PWS の診断・治療指針の確立に重要な役割を果たすことに疑いが無い。

各臨床症状および治療効果の判定；

成長ホルモン分泌動態、性腺機能不全、精神症状、側弯症、脂質代謝異常と、PWS における様々な合併症に関する詳細なデータが得られたことは、治療指針の作成に極めて有用とであったと考えられる。本研究で得られたデータをもとに、PWS 患者に有用であると考えられる診療指針、治療法を、内分泌学的、神経学的、および整形外科的観点より以下にまとめる。

1) 内分泌学的症状

BMI の高い PWS 患者では糖尿病の発症リスクが特に高く、慎重なフォローが必要である。また、食事療法、運動療法に加え、経口糖尿病薬、インスリン治療も有効であった。

2) 神経学的症状

本研究により PWS に特異的な心理行動症状が少しずつ明らかとなってきた。これらの知見は、PWS 特

異的な治療指針の作成に非常に有用である。

2歳未満のPWS患者における熱性痙攣発症頻度は一般小児集団と同様であり、また、PWS特異的な脳波異常も認められなかったことより、PWSにおける痙攣の合併リスクは高くないことが考えられる。

3) 側弯症

手術適応例に対しては、GH使用などによる体組成を改善し、術前管理を向上させることで、側弯症の治療に対する手術リスクを減じることができる。

一部の症例で、GH使用後に側弯症の急性増悪例が存在し、GH開始後の身長伸び始める時期および歩行開始時期には側弯の発症や増悪に留意する必要がある。

情報発信：ホームページの設置を行い、適宜その更新を行った。

(<http://www.dokkyomed.ac.jp/dep-k/kshouni/PWS/index.html>)

E. 結論

全国患者会連合大会の開催と全国患者会を対象とする詳細な実態調査、遺伝子診断法の確立、詳細な（エピ）遺伝子型—表現型解析、情報発信の基盤整備がなされた。この成果は、疑いなく、PWSの診断・治療指針の作成に結実する筈である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsubara K, Murakami N, Nagai T, Ogata T. Maternal age effect on the development of Prader-Willi syndrome resulting from upd(15)mat through meiosis I errors. Matsubara K, Murakami N, Nagai T, Ogata T. 2011, *J Hum Genet* 56(8):566-571
2. Tsuchiya T, Oto Y, Ayabe T, Obata K, Murakami N, Nagai T. Characterization of diabetes mellitus in Japanese Prader-Willi syndrome. *Clin Pediatr Endocrinol*, 2011,20: 30-38.
3. Nakamura Y, Nagai T, Iida T, Ozeki S, Nohara Y. Growth hormone supplement treatment reduces the surgical risk for Prader-Willi syndrome patients. *Eur Spine J*, 2011. (Published online)
4. Sakazume S, Ohashi H, Sasaki Y, Harada N, Nakanishi K, Sato H, Emi M, Endoh K, Sohma R, Kido Y, Nagai T, Kubota T. Spread of X-chromosome inactivation into chromosome 15 is associated with Prader-Willi syndrome phenotype in a boy with a t(X;15)(p21.1;q11.2) translocation. *Hum Genet*, 2011, 131:121-130.
5. Oto Y, Obata K, Matsubara K, Kozu Y, Tsuchiya T, Sakazume S, Yoshino A,

Murakami N, Ogata T, Nagai T. Growth Hormone Secretion and its Effect on Height in Pediatric Patients with Different Genotypes of Prader-Willi Syndrome. 2012, *Am J Med Genet A*. (In press)

2. 学会発表

1. 第25回小児脂質研究会(京都)「Prader Willi 症候群（PWS）の脂肪分布解析と成長ホルモン(GH)療法が分布に及ぼす影響について」阿部美子、田中百合子、村上信行、永井敏郎
2. 第25回小児脂質研究会(京都)「肥満 Prader-Willi 症候群(PWS)の脂肪分布の特徴 -アディポサイトカインが高脂血症と糖尿病へ与える影響について-」田中百合子、阿部美子、村上信行、永井敏郎
3. 第114回小児科学会（東京）「高齢出産は trisomy rescue に起因する母性片親性ダイソミーの発症リスクである：Prader-Willi 症候群 154 例の分子遺伝学的解析」松原圭子、佐藤智子、鏡雅代、緒方勤、永井敏郎
4. European Human Genetics Conference 2011 (Amsterdam) “Risk assessment of ART and its related factors in the development of Prader-Willi syndrome” Matsubara K, Murakami N, Sakazume S, Oto Y, Nagai T, Ogata T.
5. 第34回小児遺伝学会（横浜）「ART および ART 関連因子は PWS の発症リスクとなるか？」松原圭子、村上信行、坂爪悟、大戸祐二、緒方勤、永井敏郎
6. 61st, The American Society of Human Genetics (Montreal) “Risk assessment of ART and its related factors in the development of Prader-Willi syndrome” Matsubara K, Murakami N, Sakazume S, Oto Y, Nagai T, Ogata T.
7. 第45回小児内分泌学会（大宮）「ART および ART 関連因子は PWS の発症リスクとなるか？」松原圭子、村上信行、佐藤智子、鏡雅代、永井敏郎、深見真紀、緒方勤
8. 第56回人類遺伝学会（千葉）「ART および ART 関連因子は PWS の発症リスクとなるか？」松原圭子、村上信行、佐藤智子、鏡雅代、永井敏郎、深見真紀、緒方勤

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

PWS 発症に影響を与える外的因子について

研究分担者 緒方勤
浜松医科大学小児科 教授

研究要旨

今年度は、PWS 発症に影響を与える因子として生殖補助医療や父親の環境因子に注目し、検討を行った。

1) 生殖補助医療および非配偶者間人工授精、排卵誘発剤のみの使用による出生児 14 名を含む PWS142 名を対象に分子遺伝学的解析を行い、不妊治療と PWS 発症の因果関係につき検討を行った。不妊治療により出生した児の頻度は、一般集団に比し、PWS 患者群で有意に高頻度であり、このことは不妊治療およびその関連因子(不妊体質、高齢出産など)が PWS 発症に影響を及ぼす可能性を示唆する。また、第一減数分裂不分離後の trisomy rescue を介した upd(15)mat (TR/GC[M1]) 患者の割合は、自然妊娠群に比し、不妊治療群において有意に高値であった。しかし、母親年齢適合集団における解析では、TR/GC[M1]の頻度に有意差は認められなかった。

本研究により、PWS 患者において高頻度に不妊治療による出生児が認められ、この要因として、高齢出産、父親年齢の上昇、不妊の原因そのものなどが関与している可能性が考えられた。

2) PWS 381 例を対象として、後方視的に誕生季節性を調査した結果、1990 年代以降に出生した微小欠失患者には誕生季節性があり、秋生まれが多く春生まれが少ないことが明らかとなった。他の発症原因による患者群では明らかな誕生季節性を認めなかった。この成績は、精子形成時期の環境因子の暴露が精子染色体の微小欠失の発症リスク因子であり、その環境因子に季節性が存在する可能性を示唆する。

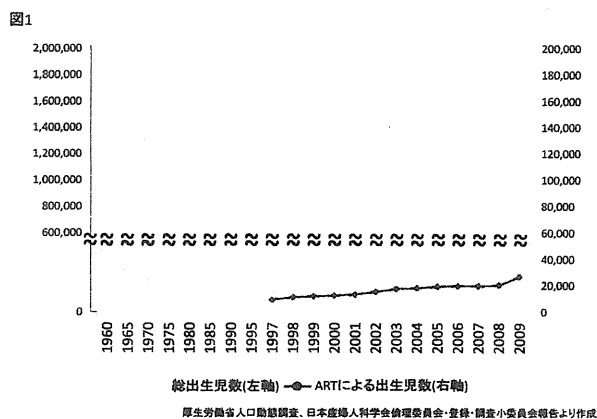
共同研究者

松原圭子 (国立成育医療研究センター)
綾部匡之 (国立成育医療研究センター)
村上 信行 (獨協大学越谷病院)

A. 研究目的

・生殖補助医療と PWS

生殖補助医療 (Assisted Reproductive Technologies, ART) は、世界中で広く普及している技術であり、ART による出生児数は増加し続けている。本邦においても、ART による出生児頻度は上昇し続けており、2009 年には総出生児数の約 2.5% を占めるまでになった (図 1)。



このような ART 出生児の増加に伴い、ART 出生児の健康や長期的予後について関心が寄せられるようになった。2002 年には ART 出生児に何らかの先天異常症が多いことが示された (N Eng J Med, 2002, Hansen M *et al*)。特に、エピ変異を介して発症する Beckwith-Wiedemann Syndrome (BWS) と Angelman Syndrome (AS) において、IVF (In Vitro Fertilization) や ICSI (IntraCytoplasmic Sperm Injection) による疾患発症頻度の有意な増加が報告されている (Hum Reprod, 2007, Amor DJ *et al*)。この原因として、不妊体質そのもの、排卵誘発剤投与、体外受精や顕微授精、胚移植に伴う物理的ダメージ、配偶子や胚の体外培養、胚培養操作などにより、胚の DNA

メチル化が引き起こされる可能性が考えられている。

一方、ARTによるエピ変異を介した Prader-Willi syndrome (PWS)の報告はなく、PWSとARTの明確な因果関係を示す研究結果も存在しない。今年度、本研究において、ARTにより出生した7名、および非配偶者間人工授精（Artificial Insemination by a Donor's sperm: AID）による出生例1例、排卵誘発剤のみの使用例（Controlled Ovarian Stimulation: COS）6例を含む142名のPWS患者の分子遺伝学的解析を行った。そして得られたデータを、日本産婦人科学会によるARTデータおよび人口動態調査から得られた出生児数および母親年齢と比較し、ARTとPWS発症の因果関係を検討した。

・PWSの誕生季節性

1型糖尿病、統合失調症、神経性食不振症などの疾患において、患者出生の季節性が認められており、PWSについても秋生まれが多く、冬生まれが少ないという研究報告が存在する（Butler MG, et al. *Lancet*, 1985）。ところが、その後PWSの誕生季節性についての追報告は存在せず、また先の報告においてはPWSの詳細な発症原因は同定されておらず、誕生季節性の変化を招く詳細な機序についても明らかになっていない。本研究中では、PWS 381患者の誕生季節性について、発症原因別、出生年次別に比較検討した。

B. 研究方法

・生殖補助医療とPWS

正常核型・SNRPNのメチル化異常を有するPWS患者142例を対象に、分子遺伝学的解析（FISH、マイクロサテライト解析、MLPA法）により発症原因を同定した。さらにupd(15)mat患者を、その発症機序により、減数第一分裂の不分離による Trisomy rescue/Gamete complementation type (TR/GC[M1])、減数第二分裂の不分離による Trisomy rescue/Gamete complementation type (TR/GC[M2])、Monosomy rescue/Postzygotic mitotic error type (MR/PE)に分類した。

・PWSの誕生季節性

PWS 381例を対象として、後方視的に誕生季節性を調査した。全患者群、および、微小欠失群と片親性ダイソミー群に分け、誕生季節性の検討を行った。

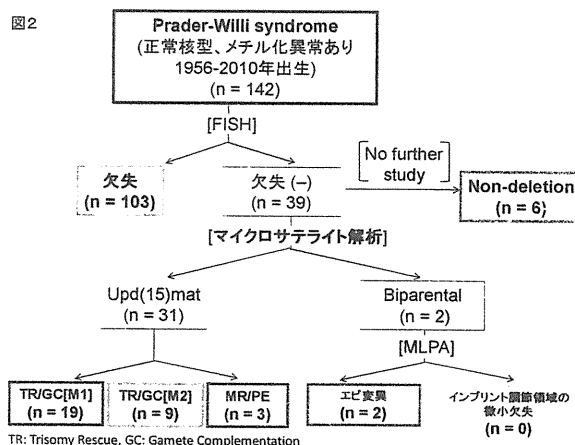
（倫理面への配慮）

本研究の遂行にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守し、検体の収集を含めた研究計画については、国立成育医療研究センター、および各検体の収集施設において予め倫理委員会の承認を得ている。検体は、書面によるインフォームドコンセントを取得後に収集している。

C. 研究結果

・生殖補助医療とPWS

欠失が103例、TR/GC[M1]が19例、TR/GC[M2]が9例、MR/PEが3例、エピ変異が2例において同定された。6例では、FISHのみを行い、欠失は認められなかった（non-deletion）（図2）。



解析対象患者142名中、6名のICSI、1名のIVF、1名のAID、6名のCOSによる出生児が含まれていた（表1）。このうち、欠失が5例、TR/GC[M1]が5例、TR/GC[M2]が3例、エピ変異が1例で認められた。MR/PEは認められなかった。

表1 IVF/ICSI, AID, COSによる出生児

ART	出生年	性別	発症原因	父年齢	母年齢	
Pt1	COS	1980	M	TR/GC[M2]	43	32
Pt2	COS	1984	M	欠失	34	34
Pt3	COS	1993	F	TR/GC[M1]	28	29
Pt4	AID	1996	F	TR/GC[M2]		36
Pt5	ICSI	1998	F	TR/GC[M2]	44	42
Pt6	ICSI	1998	F	欠失	42	38
Pt7	COS	2002	M	欠失	27	26
Pt8	IVF	2004	M	TR/GC[M1]	42	41
Pt9	ICSI	2007	M	欠失	37	36
Pt10	ICSI	2007	M	TR/GC[M1]	42	39
Pt11	ICSI	2007	F	TR/GC[M1]	53	45
Pt12	ICSI	2008	M	TR/GC[M1]	40	38
Pt13	COS	2008	M	Epi変異	38	39
Pt14	COS	2010	F	欠失	40	38

COS: Controlled ovarian stimulation
AID: Artificial Insemination by Donor's sperm
IVF: In Vitro Fertilization, ICSI: Intracytoplasmic Sperm Injection

一年あたりのIVF/ICSI, AIDによる出生児数データが入手可能であった1998年-2009年に出生したPWSを抽出し、IVF/ICSIとAIDによる出生児の頻度の比較を行った。1998年-2009年に出生したIVF/ICSIおよびAIDにより出生したPWS患者頻度は、同時期に出生した一般集団のそれと比較し、PWS患者集団で有意に高頻度であった（PWS群 8/83, 9.2% VS. 一般集団 206,235/13,333,0192, 1.5%, $P=8.4 \times 10^{-10}$ 、表2）。

表2

	IVF/ICSI, AID	自然妊娠
PWS	8 (9.2%)	73

(1998-2009 年出生)		
一般集団	206,235 (1.5%)	13,330,192
(1998-2009 年出生)		

IVF/ICSI、AID および COS により出生した PWS 患者集団内において、TR/GC[M1]の頻度は、自然妊娠群のそれと比し、有意に高頻度であった（PWS 群 5/14、36% VS. 自然妊娠群 14/128、11%、 $P=0.023$ 、表 3A）。しかし、IVF/ICSI、AID および COS 出生群の患者の母親年齢は、自然妊娠群の母親に比し、有意に高年齢であった（ART 群、中央値 38 才、範囲 26-45 才 VS. 自然妊娠群 中央値 31 才、範囲 19-48 才、 $P=0.0013$ ）。そこで、35 才以上の出生した PWS 患者集団を用いて同様の解析を行ったところ、IVF/ICSI、AID および COS 群と自然妊娠群とでは、TR/GC[M1]の頻度に有意な差を認めなかった（PWS 群 4/10、40% VS. 自然妊娠群 14/27、34%、 $P=0.50$ 、表 3B）。

表 3

A 患者全体の比較

	TR/GC[M1]	その他
不妊治療群 (1956-2010 年出生)	5 (36%)	9
自然妊娠群 (1956-2010 年出生)	14 (11%)	114

B 35 才以上の母親からの出生群における比較

	TR/GC[M1]	その他
不妊治療群 (1956-2010 年出生)	4 (40%)	6
自然妊娠群 (1956-2010 年出生)	14 (34%)	27

・PWS の誕生季節性

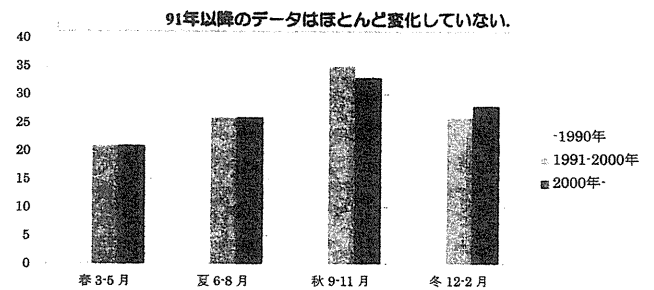
1990 年代以降に出生した微小欠失患者には誕生季節性があり、秋生まれが多く春生まれが少ないことが明らかとなった。他の群では明らかな誕生季節性を認めなかった（表 4、図 3）。

表 4

PWS 欠失群の誕生季節性の変化 (総数)

	3-5月	6-8月	9-11月	12-2月	計
-1990 年	16	13	16	7	52
1991-2000 年	21	26	35	26	108
2001 年-	21	26	33	28	108

図 3



D. 考察

・生殖補助医療と PWS

ART により出生した出生児の頻度は、PWS 患者集団で有意に高頻度であり、このことは ART およびその関連因子（不妊体質、高齢出産など）が PWS 発症に影響を及ぼす可能性を示唆する。

また、ART による PWS 患者の発症原因の多くは、第一減数分裂不分離後の trisomy rescue による upd(15)mat であり、これは高齢出産が第一減数分裂不分離後の trisomy rescue を介した upd(15)mat 発症のリスク因子であることに一致して、ART そのものより ART 関連因子である高齢出産の影響が大きいと考えられる。

・PWS の誕生季節性

この成績は、精子形成時期の環境因子の暴露が精子染色体の微小欠失の発症リスク因子であり、その環境因子に季節性がある可能性を示唆する。このような環境因子の解明は、PWS の発症予防法の開発につながる期待される。

E. 結論

不妊治療およびその関連因子は PWS 発症に影響を及ぼす可能性がある。また、不妊治療により出生した PWS 患者で第一減数分裂不分離後のトリソミーレスキューによる upd(15)mat の相対的頻度の上昇には、不妊治療そのものより、その重要な交絡因子である高齢出産の影響が大きいと考えられる。

PWS の誕生季節性に影響を及ぼす因子については、今後の検討課題である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsubara K, Murakami N, Nagai T, Ogata T. Maternal age effect on the development of

- Prader-Willi syndrome resulting from upd(15)mat through meiosis 1 errors. 2011, *J Hum Genet* 56(8):566-571
2. Miyazaki O, Nishimura G, Kagami M, Ogata T. Radiological evaluation of dysmorphic thorax of paternal uniparental disomy 14. 2011, *Pediatr Radiol*. 41:1013-1019
 3. Nakabayashi K, Trujillo AM, Tayama C, Camprubi C, Yoshida W, Lapunzina P, Sanchez A, Soejima H, Aburatani H, Nagae G, Ogata T, Hata K, Monk D. Methylation screening of reciprocal genome-wide UPDs identifies novel human-specific imprinted genes. 2011, *Hum Mol Genet* 20:3188-3197
 4. 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. 2012, *Eur J Hum Genet*. Epub ahead of print.

2. 学会発表

1. European Human Genetics Conference 2011 (Amsterdam),
“Risk assessment of ART and its related factors in the development of Prader-Willi syndrome”
Keiko Matsubara, Nobuyuki Murakami, Satoru Sakazume, Yuji Oto, Toshiro Nagai, Tsutomu Ogata.
2. 第34回小児遺伝学会（横浜）
「ART および ART 関連因子は PWS の発症リスクとなるか？」
松原圭子、村上信行、坂爪悟、大戸祐二、緒方勤、永井敏郎
3. 61st, The American Society of Human Genetics (Montreal),
“Risk assessment of ART and its related factors in the development of Prader-Willi syndrome”
Keiko Matsubara, Nobuyuki Murakami, Satoru Sakazume, Yuji Oto, Toshiro Nagai, Tsutomu Ogata.
4. 第45回小児内分泌学会（大宮）
「ART および ART 関連因子は PWS の発症リスクとなるか？」
松原圭子、村上信行、佐藤智子、鏡雅代、永井敏郎、深見真紀、緒方勤
5. 第56回人類遺伝学会（千葉）
「ART および ART 関連因子は PWS の発症リスクとなるか？」
松原圭子、村上信行、佐藤智子、鏡雅代、永井敏郎、深見真紀、緒方勤

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

成長ホルモン治療効果および性腺機能不全における治療効果の判定

研究分担者 堀川玲子

(独)国立成育医療研究センター 内分泌・代謝科 医長

研究要旨

Prader-Willi 症候群 (PWS) の臨床的特徴のひとつに内分泌学的異常があげられる。特に、成長ホルモン (GH) 分泌低下と GH 投与の有効性ならびに性腺機能低下は広く知られている。

今年度は、第一に PWS 患者の GH 治療開始時期、および GH 治療終了後の変化について検討を行った。その結果、2 歳未満で GH 開始した群と 2 歳以降で治療開始した群間では、両群ともに GH 補充の有効性が認められ、特に 2 歳未満開始群における粗大運動発達改善効果が示唆された。また、GH 終了後 1 年後より BMI の増加、体脂肪・内臓脂肪量の増加が認められ、成人 PWS における GH の継続使用の必要性が示唆された。

第二に、PWS における性腺機能不全に関し、男性 PWS 患者に対するテストステロン補充の効果と有害事象について検討を行った。その結果、テストステロン補充により、骨塩量と筋肉量は有意に改善し、精神的効用も認められた。テストステロン補充に伴う有害事象は認められず、テストステロン補充は成人 PWS 男性に対し、積極的に行うべき治療法であると考えられる。

共同研究者

大戸祐二 獨協越谷病院

城戸康宏 獨協越谷病院

A. 研究目的

本研究の目的は、Prader-Willi 症候群 (PWS) の実態把握と、それに基づく治療指針の作成である。その必要性は、本症候群が、乳児期早期の筋緊張低下、乳児期以降の過食と高度の肥満傾向およびその結果としての糖・脂質代謝異常、中枢性（および続発性）性腺機能低下、成長障害、精神発達遅延など、生涯にわたり QOL の低下を招く難病であるにもかかわらず、現行治療法の評価、遺伝的異質性による症状や治療反応性の解析、長期予後の解明がなされていないことにある。

本分担研究では、治療指針の作成と (エビ) 遺伝子型—表現型解析を行った。

B. 研究方法

成長ホルモンに関する検討

・Prader-Willi 症候群での成長ホルモン開始時期の検討；

GH 使用中の PWS 患者 26 名を、GH 使用開始時期により 2 群に分け (2 歳未満開始群 n=13、2 歳以降開始群 n=13)、GH 開始 1 年後の身長 SDS、insulin-like growth factor-1 (IGF-1)、body mass index (BMI)、体脂肪率 (%fat)、除脂肪筋量 (LBM)、骨密度 (BMD) について比較検討した。

・Prader-Willi 症候群で成長ホルモン治療を中止した後起こる早期の変化について；

PWS14 名 (GH 治療中止時年齢 14.0 歳～17.85 歳、

欠失群 10 名、UPD 4 名) において、GH 治療中止後の BMI-SDS、脂肪分布解析 (内臓脂肪量、皮下脂肪量) について検討を行なった。

性ホルモン補充に関する検討

思春期以後の男性 PWS 患者 22 名。テストステロン投与は、対象に 4 週に 1 回、エンルモン・デポー 125mg を筋肉内投与した。テストステロン補充療法の効果は投与前および投与後 24 ヶ月で以下の基準で判定した、(1) 身体的変化：投与前後での体毛の増加、色素沈着、勃起機能、射精の有無、精子形成の有無について、(2) 体組成変化：BMI (body mass index)、DEXA 法を用いて %Fat, BMD, lean body mass の測定を行った。また、有害事象の検討として、The Modified Overt Aggression Scale (以下 MOAS) を用いて攻撃性や行動異常の増悪に関して検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究に当たって、患者もしくは家族から研究の内容、臨床データの使用について同意を得た。臨床データより、個人情報特定することはできない。また、本研究の遂行にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針を遵守し、検体の収集を含めた研究計画については、国立成育医療研究センター、および各検体の収集施設において予め倫理委員会の承認を得ている。検体は、書面によるインフォームド・コンセントを取得後に収集している。

C. 研究結果

成長ホルモンに関する検討

・Prader-Willi 症候群での成長ホルモン開始時期の検討；

GH使用中のPWS患者26名を、GH使用開始時期により2群に分け（2歳未満開始群 n=13、2歳以降開始群 n=13）、GH開始1年後の身長 SDS、insulin-like growth factor-1 (IGF-1)、body mass index (BMI)、体脂肪率(%fat)、除脂肪筋量(LBM)、骨密度(BMD)について比較検討した。GH開始時期に関わらず、全てのパラメーターにおいて有意な改善を認めたものの、2群間における有意差は認められなかった。しかし体組成、骨密度を乳幼児期から改善させることで、糖尿病、骨粗鬆症などの予防に好影響を及ぼす可能性が示唆された。また2歳未満開始群では粗大運動発達が遅く、筋力低下が著しい症例が多く含まれていたが、GH治療開始後にキャッチアップした可能性があり、今後粗大運動発達改善効果に関する検討も必要と思われた。

・Prader-Willi 症候群で成長ホルモン治療を中止した後に起こる早期の変化について；

GH治療中止前6ヶ月と治療中止後6ヶ月でのBMI-SDSの差の推移 (BMI-SDS Δ 0.5、BMI-SDS Δ -0.5) はそれぞれ 0.13 \pm 0.42、-0.03 \pm 0.24 と p=0.288 で有意差は認められなかったが、GH治療中止前1年と治療中止後1年でのBMI-SDSの差の推移 (BMI-SDS Δ 1、BMI-SDS Δ -1) は、0.33 \pm 0.45、-0.05 \pm 0.37 (p=0.038) と有意差が認められた。GH治療中止前1年6ヶ月と治療中止後1年6ヶ月でのBMI-SDSの差の推移 (BMI-SDS Δ 1.5 と BMI-SDS Δ -1.5) は 0.40 \pm 0.38、-0.11 \pm 0.48 (p=0.012)、GH治療中止前2年と治療中止後2年 (BMI-SDS Δ 2 と BMI-SDS Δ -2) では、0.77 \pm 0.62、-0.14 \pm 0.46 (p=0.001) と明らかな有意差を認めた。

GH治療中止前1年と治療中止後1年での内臓脂肪、皮下脂肪の差の推移はそれぞれ内臓脂肪 (VAT Δ 1.0、VAT Δ -1 (n=8)) が 25.40 \pm 17.38、3.50 \pm 4.64 (p=0.04) であった。また皮下脂肪 (SAT Δ 1.0、SAT Δ -1 (n=8)) においても 76.83 \pm 44.26、5.16 \pm 19.80 (P<0.01) と有意差を認めた。

GH治療中止前2年と治療中止後2年での内臓脂肪、皮下脂肪の差の推移はそれぞれ内臓脂肪 (VAT Δ 2.0、VAT Δ -2.0) が 25.40 \pm 17.38、3.50 \pm 4.64 (p=0.04) だった。また皮下脂肪 (SAT Δ 2.0、SAT Δ -2.0) が 5.16 \pm 19.80、-15.40 \pm 55.37 (P<0.01)、また皮下脂肪 (SAT Δ 2.0、SAT Δ -2.0) においても 36.20 \pm 24.77、8.40 \pm 9.73 (P<0.01) と有意差を認めた。

性ホルモン補充に関する検討

(1) 身体的変化について

体毛の増加は22名中17名(77.3%)、色素沈着の増加は22名中16名(72.7%)、勃起機能出現は22名中10名(45.5%)、射精の出現は22名中4名(18.2%)に認められた。対象中で精液を検査した3例で精子形成は認められなかった。

(2) 体組成変化について

%Fat は 47.50 \pm 2.06% から 39.75 \pm 1.60% (p=0.0020) と有意な減少を認めた。BMD および lean body mass は 0.8505 \pm 0.0426 g/cm² から 0.9035 \pm 0.0465 g/cm²

(p=0.0004)、18093.4 \pm 863.0 g から 20312.1 \pm 1027.2 g (p=0.0010) と有意な増加を認めた。大腿部・全身でも同様に比較してみたが、すべて同様に有意な改善を認めた。

(3) 行動異常および MOAS について

MOAS の検討では 4.5 \pm 2.0 点から 3.0 \pm 1.7 点 (p=0.1090) と、改善傾向を認めたが有意差はなかった。問題行動および攻撃性が増悪したために投与中止となった症例は認められなかった。

PWS 男性患者に対するテストステロン補充療法は、身体的変化・体組成の改善に有用であった。テストステロン補充療法による攻撃性の悪化はなく、テストステロン補充療法は積極的導入可能な治療法であると考えられた。

情報発信；

ホームページの設置を行い、適宜その更新を行った。

D. 考察

成長ホルモン分泌動態、性腺機能不全、PWS における様々な合併症に関する詳細なデータが得られたことは、治療指針の作成に極めて有用とであったと考えられる。

GH 使用は、低身長のみならず、体組成の改善、脂肪代謝の改善を促し、有益な治療法である。また、乳幼児期の粗大運動発達を促す作用もあることから早期に GH 使用開始すること、また、GH 中止後の内臓脂肪の蓄積が悪化することから、成人期でも GH 使用を継続する必要性が示された。

男性患者に対する男性ホルモン補充に関しては、従来想定されていた攻撃性の増悪などの有害事象はなく、むしろ体組成や QOL が改善された。したがって、男性ホルモン補充は、有益な治療法の一つであると考えられる。

情報発信：ホームページの設置を行い、適宜その更新を行った。

(<http://www.dokkyomed.ac.jp/dep-k/kshouni/PWS/index.html>)

E. 結論

PWS の GH およびテストステロン補充の有効性について検討した。

GH については、体組成改善、粗大運動発達改善作用などの有効性が示唆された一方、GH 投与終了後早期に内臓脂肪量増加をはじめとする体組成増悪が認められた。

また、テストステロン補充療法は、安全かつ有効な治療法であり、PWS 患者の QOL 改善に有効な治療法と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表