

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.

## 2. 学会発表

Eriko Nishi, Seiji Mizuno, Toshiyuki Yamamoto  
A novel mutation in GPC3 in a patient with Simpson-Golabi-Behmel syndrome (SGBS)  
61st annual meeting of American Society of Human Genetics Montreal 2011.10.11

## 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

### 3. その他

なし

## EEC 症候群のフォローアップガイドラインの作成

研究分担者 大阪府立母子保健総合医療センター 遺伝診療科 岡本伸彦

### 研究要旨

EEC 症候群は裂手裂足(Ectrodactyly)・外胚葉異形成(Ectodermal dysplasia)・口唇口蓋裂(Cleft lip/palate)を主症状とする先天異常症候群である。常染色体優性遺伝疾患であるが、突然変異による孤発例もある。原因遺伝子として *TP63* 遺伝子が知られている。*p63* 遺伝子変異が同定されない例も多い。合併症は多彩であり、年齢とともに問題点も変化する。EEC 症候群のフォローアップガイドラインを作成した。

### A. 研究目的

EEC 症候群は裂手裂足(Ectrodactyly)・外胚葉異形成(Ectodermal dysplasia)・口唇口蓋裂(Cleft lip/palate)を主症状とする先天異常症候群である。常染色体優性遺伝による遺伝性疾患であるが、突然変異例もある。原因遺伝子として *TP63* 遺伝子が知られている。*TP63* 遺伝子変異が同定されない例も多く、他にも複数の原因遺伝子が予想されている。

Rudigerらが最初に3主徴の合併に着目して記載した。ただし、それ以前にも類似例の報告はあった。正確な症例数は不明であるが、本邦でも多数の報告がある。整形外科、口腔外科、皮膚科、眼科など多くの診療科が関与する。3主徴がすべて揃うとはかからず、家族内でも所見に幅がみられる。EEC 症候群はアポトーシス不全による先天異常症と捉えることができる。裂手・裂足は、胎児期の指趾の間のアポトーシスの異常によって生じる。

#### EEC 症候群の診断に重要な症状

四肢: カニばさみ様手の変形(裂手)・合指

- ① 典型例は、II指(中央指列)の欠損およびその欠損部に一致した深いV字型の指間陥凹がみられる。
- ② 重症例では、II指だけではなく、II・III指あるいはII・III・IV指の欠損もみられる。
- ③ 深い裂隙だけではなくカニ足状の斜め指変形をきたすこともある。

親指や小指(母趾・小趾)が比較的保たれているのが特徴である。片側の症例、裂手のみの症例、裂足のみの症例も報告されており、四肢奇形だけでも多様性がある。

顔面: 口唇(片側・両側)裂、口蓋裂

#### 外胚葉異形成

- ① 眼: 虹彩の色素が薄い、鼻涙管閉塞、眼瞼炎、涙嚢炎
- ② 皮膚および皮膚付属器: 疎毛、色白の薄い皮膚、角化症
- ③ 歯牙: 小歯・無歯

その他 難聴、泌尿生殖器系の異常、鎖肛、後鼻孔閉鎖などを合併することもある。

EEC 症候群は多彩な合併症があり、複数の診療科による治療が必要である。総合的なフォローアップも重要である。EEC 症候群のフォローアップガイドラインを作成した。

### B. 研究方法

過去の診療経験や文献から EEC 症候群の診療に必要な情報を整理し、フォローアップガイドラインを作成した。

### C. 研究結果

EEC 症候群は指趾欠損(裂手・裂足)、外胚葉形成不全、唇顎口蓋裂が3主徴である。その他にも粘膜症状や泌尿器系の症状を呈することがあり、多角的な精査治療が必要である。精神運動発達には問題はない。主要症状毎のフォローアップの要点をまとめる。

1) 指趾欠損(裂手・裂足)について。指は第3指が欠損する例が最も多く、カニばさみ様変形を呈する。多合指症の例もある。生後早い段階で整形外科や形成外科での診断を受ける必要がある。この領域の専門医を受診することが望ましい。形態的・機能的な改善が治療目標である。巧緻作業を可能とするための、機能訓練が必要である。

2) 外胚葉異形成に基づく皮膚所見として、皮膚が薄い、軽度の角化亢進、発汗減少などを認める。毛髪・眉毛・睫毛は薄く、疎である。毛髪の色も薄い。爪低形成の例もある。皮膚科での診療が必要である。皮膚保湿剤などの適切な処置、感染に対する抗生剤投与を行う。

3) 鼻涙管の閉鎖や涙丘欠損のため、涙液が鼻腔に流れにくい。眼脂が多く、眼が潤んだ状態になり、角膜・結膜・眼瞼・涙嚢の慢性的炎症が日常生活上の問題となる。抗生剤投与など早期から眼科診療が必要である。角膜が損傷すると視力にも影響する。

4) 口唇口蓋裂は両側性口唇列の例が多い。適切な時期に口唇口蓋裂の手術を実施する。形態的な修復、口腔機能、構音機能の改善が目標である。術後は口腔機能の評価、言語訓練を実施する。歯科治療・矯正が必要な例もある。減歯、円錐歯、エナメル質形成不全などの歯科異常も多い。

5) 慢性鼻炎の例がある。粘膜が乾燥しやすく、感染を反復しやすいため、局所的あるいは全身に抗生剤を投与する。伝音性難聴、後鼻孔閉鎖などの例もある。

6) 水腎症、水尿管症、腎低形成、膀胱尿管逆流症など泌尿器系異常も合併率が高い。泌尿生殖器異常の一部は、ウォルフ管やミューラー管の退縮異常で説明できる。

#### D. 考察

EEC 症候群のフォローアップガイドラインを作成した。EEC 症候群は3主徴のそろった典型例から、部分的な症状の例まで幅広い。ひとつの症状から発展的にEEC 症候群の診断にいくつく可能性もある。新生児期から各科の連携のもとにきめ細かく対応していく必要がある。

#### E. 結論

日本における EEC 症候群のフォローアップの要点を整理した。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

Waga C, Okamoto N, Ondo Y, Fukumura-Kato R, Goto YI, Kohsaka S, Uchino S. Novel variants of the SHANK3 gene in Japanese autistic patients with severe delayed speech development. *Psychiatr Genet.* 2011;21:208-11.

Sasaki K, Okamoto N, Kosaki K, Yorifuji T, Shimokawa O, Mishima H, Yoshiura KI, Harada N. Maternal uniparental isodisomy and heterodisomy on chromosome 6 encompassing a CUL7 gene mutation causing 3M syndrome. *Clin Genet.* 2010 Nov 20. On line

Hiraki Y, Nishimura A, Hayashidani M, Terada Y, Nishimura G, Okamoto N, Nishina S, Tsurusaki Y, Doi H, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. A de novo deletion of 20q11.2-q12 in a boy presenting with abnormal hands and feet, retinal dysplasia, and intractable feeding difficulty. *Am J Med Genet A.* 2011;155:409-14.

Okamoto N, Hatsukawa Y, Shimojima K, Yamamoto T. Submicroscopic deletion in 7q31 encompassing CADPS2 and TSPAN12 in a child with autism spectrum disorder and PHPV. *Am J Med Genet A.* 2011;155:1568-73.

Shimizu K, Okamoto N, Miyake N, Taira K, Sato Y, Matsuda K, Akimaru N, Ohashi H, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N, Kosho T. Delineation of dermatan 4-O-sulfotransferase 1 deficient Ehlers-Danlos syndrome: Observation of two additional patients and comprehensive review of 20 reported patients. *Am J Med Genet A.* 2011;155A:1949-58

Hayashi S, Okamoto N, Chinen Y, Takanashi JI, Makita Y, Hata A, Imoto I, Inazawa J. Novel intragenic duplications and mutations of CASK in patients with mental retardation and microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia (MICPCH). Hum Genet. 2011 Jul 7. [Epub ahead of print]

Yukiko Kawazu, Noboru Inamura, Futoshi Kayatani, Nobuhiko Okamoto, Hiroko Morisaki  
Prenatal complex congenital heart disease with Loeys-Dietz syndrome  
Cardiology in the Young 2011 on line

Tsurusaki Y, Okamoto N, Suzuki Y, Doi H, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Exome sequencing of two patients in a family with atypical X-linked leukodystrophy. Clin Genet. 2011;80:161-6

Misako Naiki, Seiji Mizuno, Kenichiro Yamada, Yasukazu Yamada, Reiko Kimura, Makoto Oshiro, Nobuhiko Okamoto, Yoshio Makita, Mariko Seishima, and Nobuaki Wakamatsu  
MBTPS2 mutation causes BRESEK/BRESHECK syndrome Am J Med Genet 2011 on line

Okamoto N, Tamura D, Nishimura G, Shimojima K, Yamamoto T. Submicroscopic deletion of 12q13 including HOXC gene cluster with skeletal anomalies and global developmental delay. Am J Med Genet A. 2011;155:2997-3001.

#### H. 知的財産権の出願・登録

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

表 EEC 症候群 フォローアップガイドライン

	新生児期 乳幼児期	学童期以降
総合的 遺伝科や小児科	総合的な診察 早期診断 染色体検査、TP63 遺伝子解析 遺伝カウンセリングが必要 先天異常に対する心理的ケア必要 医療・保健・福祉の連携 社会資源の紹介 予防接種勧奨	発達評価 身体計測 染色体・遺伝子検査 感染症に注意
整形外科	指趾奇形評価 治療 機能訓練	指趾奇形評価 治療 機能訓練 奇形に対する心理的ケア
皮膚科	薄い皮膚、角化亢進、発汗減少 毛髪・眉毛・睫毛は薄く、疎 爪低形成	薄い皮膚、角化亢進、発汗減少 毛髪・眉毛・睫毛は薄く、疎 爪低形成 疎な頭髪にカツラ使用検討
歯科 口腔外科	口唇口蓋裂治療	口唇口蓋裂治療 矯正歯科 歯の不足に対して義歯作成
耳鼻咽喉科	鼻炎 中耳炎 上気道感染治療 聴力検査	鼻炎 中耳炎 上気道感染治療 聴力検査
眼科	鼻涙管閉鎖・狭窄内反症、 結膜炎 涙囊炎 角膜損傷に注意する	鼻涙管閉鎖・狭窄 内反症、結膜炎 涙囊炎 治療 角膜損傷に注意する
腎泌尿器系	水腎症、水尿管症、腎低形成、膀胱 尿管逆流症 尿路感染症 エコーや造影検査による評価	水腎症、水尿管症、腎低形成、膀胱尿管 逆流症 尿路感染症 エコーや造影検査による評価

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

EEC 症候群鑑別疾患としての裂手裂足症候群の分子細胞遺伝学的解析

研究分担者 黒澤健司

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立こども医療センター遺伝科部長

研究要旨

EEC 症候群鑑別としての裂手裂足奇形 (SHFM) の診断にマイクロアレイ CGH 解析を行い、10q24 領域に約 460kb のゲノム重複を認めた。この重複領域はこれまで我々の研究グループが明らかにした重複 (Kano H, Kurosawa K, et al., 2005) とほぼ一致し、海外のグループからもごく最近提唱されている領域であった。マイクロアレイ CGH は裂手裂足奇形の病因解析、および鑑別診断技術として重要である。今後、EEC 症候群の鑑別としてのマイクロアレイ CGH 解析の活用も重要と考えられた。

A. 研究目的

EEC 症候群は、裂手・裂足、外胚葉異形成 (毛髪、爪、歯牙、皮膚、涙腺の症状)、口唇口蓋裂、などの症状を特徴とする先天奇形症候群で、常染色体優性遺伝病に分類される。発生頻度は極めて稀で、一般集団での頻度は明らかにされていない。責任遺伝子は *TP63* で、臨床的に診断基準を満たした例では 95% 以上で変異が検出される。しかし、実際には家系内での症状は必ずしも均一ではなく、個体差が認められる。さらに、裂手・裂足などの臨床症状が共通しながら、異なった臨床症状の組み合わせによる LMS (Limb-mammary syndrome)、AEC (Ankyloblepharon, ectrodactyly, and cleft lip/palate syndrome)、ADULT 症候群 (Acro-dermato-ungual-lacrimal-tooth)、Rapp-Hodgkin 症候群、SHFM4 (Split-hand/foot malformation 4) 症候群などが鑑別に挙げられる。これらは、いずれも EEC 症候群と同じく *TP63* を責任遺伝子としている。このように *TP63* の変異を原因とする一連の裂手・裂足奇形でもその鑑別は極めて難しい。一方で、さらに大きく分類した場合、裂手・裂足奇形自体が遺

伝的異質性に富み、その診断に苦慮することが少なくない。今回我々は、EEC 症候群の鑑別診断として重要な裂手・裂足奇形 (SHFM) において、マイクロアレイ CGH による解析を行い、10q24.3 に微細なゲノム重複を認めた症例を経験したので、過去の自験例 (Kano H, Kurosawa K, et al., 2005) と合わせて報告する。

B. 研究方法

解析対象は、裂手裂足を主訴とする女性で、女性の両親に手足の奇形は認められなかった。末梢血液リンパ球を用いた通常の染色体分析は、標準的方法によった。マイクロアレイ CGH は、Agilent 社製マイクロアレイシステムを用い、アレイは SurePrint G3 Human CGH Microarray kit 8x60K を用いた。解析手順は、Agilent 社による標準プロトコールに準じて進めた。得られたデータの解析は Agilent Genomic Workbench ソフトウェアを用いた。データは DLR spread 値 < 0.30 を採用した。比較対照 DNA は、Promega 社製 Female genomic DNA を用いた。解析したゲノム DNA は、QIAamp DNA Blood Mini kit を用いて自動抽出機で末梢血液から抽出した。アレイ CGH で検

出されたゲノムコピー数異常は、ISCN2009に準じて記載した。参照ゲノムマップとしてUCSC Genome Browser on Human Feb. 2009 (hg19) Assemblyを用いた。既に報告を行った症例2ではBAC cloneを用いた間期核 FISH によって重複を検討した。使用した BAC clone probe の位置と重複領域の関係は図1に示した。

(倫理面への配慮)

マイクロアレイ CGH による解析は、こども医療センター倫理審査において、研究課題「原因不明多発奇形精神遅滞症候群のゲノムワイドな病因解析」として平成 22 年 7 月 22 日に承認を得たものである。検査前に十分な説明を行い、文書により同意のもとで解析を行った。解析にあたっては、全ての個人情報情報を潜在化した。

### C. 研究結果

1 か所の臨床的意義あるゲノムコピー数変化と、4 か所の臨床的意義のないゲノムコピー数変化を認めた。臨床的意義のある変化は、10q24.31-q24.32 の 462kb にわたる重複で、arr

10q24.31q24.32(102,987,428-103,449,332)x3 であった(図2)。既に報告された自験症例 2 (Kano H, Kurosawa K, et al., 2005) とその重複領域を比較した(図3)。重複はほぼ一致し、さらにごく最近報告された Dimitrov ら(2010)の報告とも一致していた。

### D. 考察

EEC 症候群は、裂手裂足奇形を特徴とするが、鑑別として裂手裂足奇形をきたす疾患があげられる。裂手裂足奇形(SHFM)は遺伝的異質性が高く、その鑑別は臨床診断のみでは困難である。SHFM1 は、難聴を特徴とし、7q21.2-q21.3 の微細な欠失を原因とする(Saito H, Kurosawa K, et al., 2009)。SHFM3 は今回提示した non-syndromic な例が含まれる。SHFM4 は TP63 を原因とし、EEC 症候群の同一遺伝子疾患に位置づけられる。SHFM5 は存在が推定(2q31)されているが、責任遺伝子

についてはまだ明確にされていない。したがって、裂手裂足奇形の診断においてはマイクロアレイ CGH の応用は極めて重要である。マイクロアレイ CGH の普及により、多くの診断未定の多発奇形・精神遅滞の原因解明が進みつつあるが、裂手裂足奇形についても同様と考えられる。今回、臨床的に non-syndromic と考えられた裂手裂足奇形症例においてマイクロアレイ CGH による解析を行い、従来報告のあった 10q24 領域にほぼ一致したゲノム微細構造異常を検出した。これまでは、パルスフィールドゲル電気泳動や間期核 FISH など熟練をある程度要する方法によって診断が可能であったが、マイクロアレイ CGH はより正確にゲノムの構造異常を検出することができた。今後、EEC 症候群の鑑別としてのマイクロアレイ CGH 解析の活用も重要と考えられた。

### E. 結論

EEC 症候群鑑別としての裂手裂足奇形(SHFM)の診断にマイクロアレイ CGH 解析を行い、10q24 領域に約 460kb のゲノム重複を認めた。この重複領域はこれまで我々の研究グループが明らかにした重複とほぼ一致し、海外のグループからもごく最近提唱されている領域であった。マイクロアレイ CGH の臨床応用として注目される例と考えられた。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

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. Cong Anom 2012 (in press)

Kurosawa K, Masuno M, Kuroki Y. Trends in occurrence of twin births in Japan. Am J Med Genet Part A 2012;158A:75-77.

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. *Eur J Pediatr* 2012;171:301-305.
- 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. *Pediatr Radiol* 2011 Jun 29. [Epub ahead of print]
- 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). *Cong Anom* (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 p58-9, 2011.7 大阪
- 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 p76-9, 2011.7 大阪
- 黒澤健司 予想外の結果が得られた場合：次世代シーケンス 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 p345-7, 2011.7 大阪
- 2.学会発表
- 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 2011.5.26-27. 横浜
- 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* 2011. 2011.5.28-31. Amsterdam RAI, The Netherlands.
- 富永牧子、榎本啓典、石川亜貴、古谷憲孝、吉橋博史、黒澤健司 全サブテロメア MLPA 法による多発奇形/精神遅滞 (MCA/MR)の変異スクリーニング 第114回日本小児科学会 2011.8.12-14. 東京
- 黒澤健司、榎本啓典、古谷憲孝、石川亜貴、富永牧子、和田敬仁、升野光雄、黒木良和 先天異常モニタリング調査および遺伝外来受診例による先天奇形症候群発生頻度の推定 第114回日本小児科学会 2011.8.12-14. 東京
- 島貴史、榎本啓典、古谷憲孝、黒澤健司、竹内麻希、関藍 先天代謝異常症を明らかにした、横紋筋融解症を繰り返した染色体複雑構造異常の1例 第114回日本小児科学会 2011.8.12-14. 東京
- 石川亜貴、富永牧子、榎本啓典、古谷憲孝、上田秀明、康井制洋、黒澤健司 高分解融解曲線分析法 (HRM)による Marfan 症候群原因遺伝子 FBN1 変異スクリーニング
- 黒澤健司、塩味正栄、浜之上聡、永井淳一、齋藤敏幸、榎本啓典、富永牧子、古谷憲孝、升野光雄、気賀沢寿人 del(1)(p22.3p22.1)により Diamond-Blackfan 症候群と好中球減少を呈した1女性例. 第56回日本人類遺伝学会 2011.11.9-12. 千葉
- 石川亜貴、田中藤樹、重富浩子、続晶子、黒澤健司 頭蓋骨早期癒合を呈した7番染色体短腕中間部欠失の女児例. 第56回日本人類遺伝学会 2011.11.9-12. 千葉
- 榎本啓典、菅原祐之、富永牧子、古谷憲孝、安達昌功、水野誠司、山内泰子、升野光雄、近藤達郎、土井庄三郎、水谷修紀、黒澤健司 3q22.3を含む染色体部分欠失に起因する BPES の臨床像. 第56回日本人類遺伝学会 2011.11.9-12. 千葉

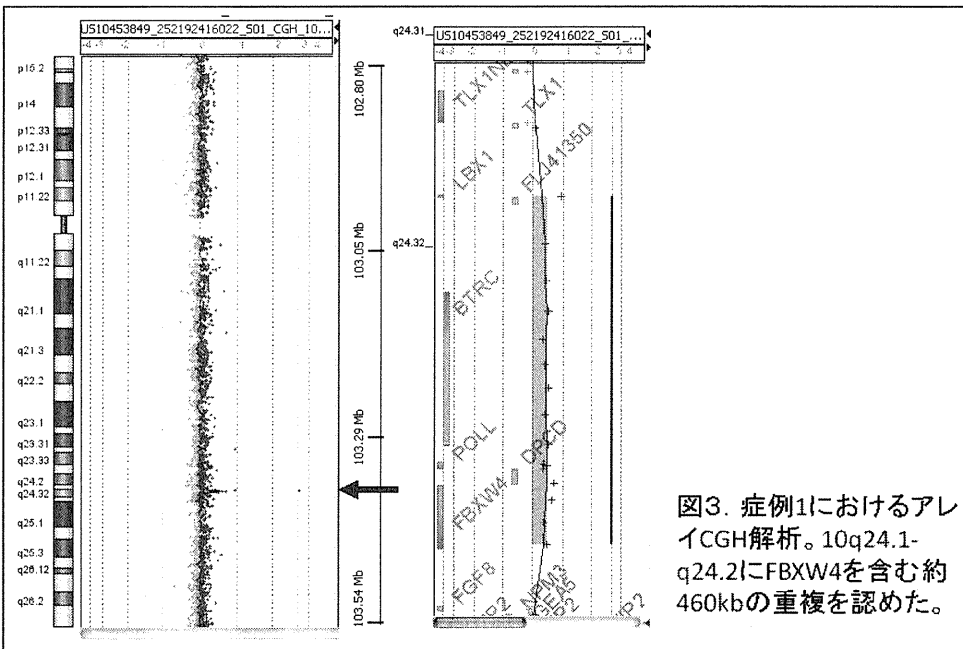
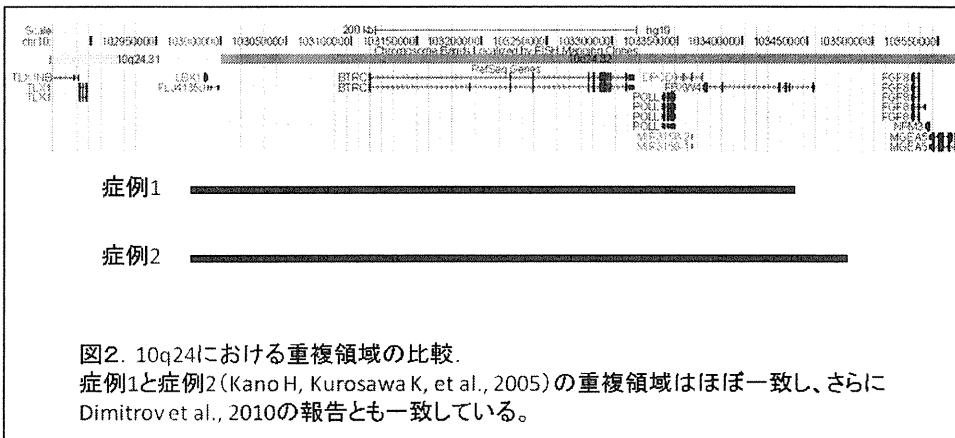
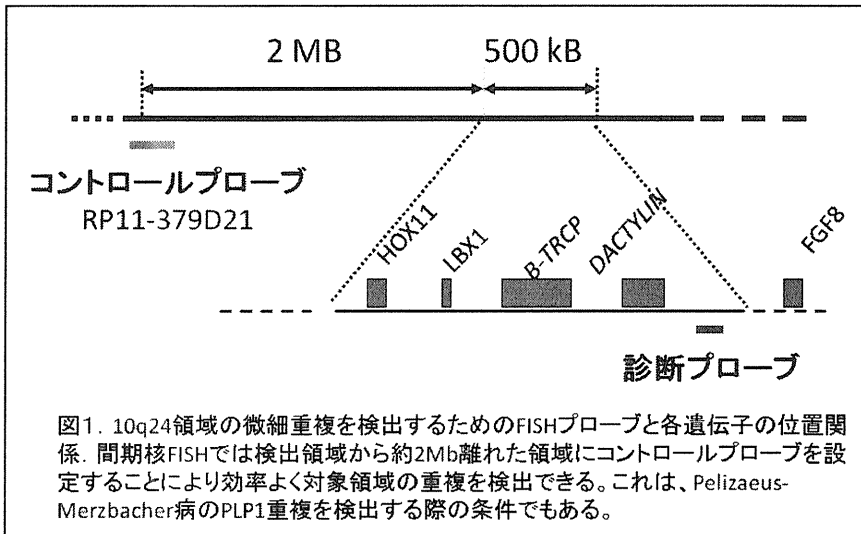


黒澤健司、富永牧子、古谷憲孝、和田敬仁、  
小坂仁、室谷浩二 新しい染色体微細構  
造異常－15q24 欠失症候群の 1 男児例。  
第 313 回日本小児科学会神奈川県地方  
会 2011.11.19. 横浜

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

#### 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
3. その他  
なし



## 研究要旨

EEC症候群は、裂手裂足(E)、外胚葉異形成(E)、口唇口蓋裂(C)を3主徴とし、四肢・頭蓋・顔面・皮膚・泌尿器など多臓器にわたる合併症を呈する。疾患の発症には、3分の2が転写調節因子p63の変異が関与するが、残りの原因は不明である。

本年度は、前年度の調査をもとに、EEC 症候群の殊なサブグループを形成する AEC 症候群について、国内の一次調査を行い、12名以上の患者を確認した。次いで、収集した詳細な臨床情報を、解析し、同意の得られた患者に対して p63 遺伝子解析を実施した。遺伝子変異陽性症例の必須症状や随伴症状を明確にし、EEC 症候群との表現型・遺伝子型関係を明らかにした。これらの情報をもとに、EEC 症候群臨床の診断基準(案)を再検討し、臨床診断基準(案)を決定した。今後、疾患の周知ならび新診断技術法を用いて診断の向上を行い、家族・一般小児科医への情報提供を通じた医療の均てん化と患者 QOL の向上が目標である。

## A. 研究目的

EEC症候群は、裂手裂足(E)、外胚葉異形成(E)、口唇口蓋裂(C)を3主徴とし、四肢・頭蓋・顔面・皮膚・泌尿器など多臓器にわたる合併症を呈する疾患である。

本疾患の原因遺伝子として転写調節因子p63遺伝子(3q27に座位)が同定されており、本疾患の約3分の2において、p63遺伝子の変異が認められている。残りの3分の1の症例にp63変異を認めず、原因は不明である。疾患の発症には、アポトーシスの亢進が示唆されているが、特定臓器のみが障害される機序は不明である。

本研究班では、全国調査を行い、疾患の有病者数・実態を把握し、診断基準を策定することを目的とする。

## B. 研究方法

本年度は、前年度の調査をもとに、EEC症候群の殊なサブグループを形成するAEC症候群について、国内の症例について調査を行い、遺伝子変異陽性症例の必須症状や随伴症状を明確にし、EEC症候群との表現型・遺伝子型関係を明らかにする。これらの情報をもとに、EEC症候群の臨床診断基準(案)を決定する。

### ①有病率・実態調査

EEC症候群の関連疾患であるAEC症候群(裂手裂足を欠くが、眼瞼裂の癒合や狭小化を認める)/Rap-Hodgkin 症候群(裂手裂足を欠くが、口唇口蓋裂および外胚葉異形成を認める)について、初年度の EEC 症候群と同じ方法で全国調査を行った。

一次調査:小児遺伝学会・日本口蓋裂学からご協力いただき、本症候群を診療する機会を有する小児科医、形成外科医、口腔外科医、歯科医の学会員(計 499 名)を対象に国内症例について郵送で一次調査票を送付した(初年度)。そのうち、二次調査可能と返答した症例に対して、郵送で二次調査票を送付した。

### ②データベースの作成

回収した調査票をもとに、AEC 症候群の臨床症状のデータベースを作成した。

### ③遺伝子解析

同意の得られた患者に対して、我々が確立した遺伝子診断システム(DHPLC/シークエンシング法)を用いて、p63 遺伝子解析を実施した。

④遺伝子変異陽性症例の必須症状や随伴症状ならびに AEC 症候群との関係を明確にし、EEC 症候群の臨床診断基準(案)を決定した。

(倫理的配慮)調査にあたり、分担研究者の所属施設の倫理委員会にて、「EEC 症候群における有病率調査と実態調査研究」を申請し、承認されている。

## C. 研究結果

①EEC 症候群の殊なサブグループを形成する AEC 症候群について、小児遺伝学会・日本口蓋裂学会員(計 499名)を対象に一次調査を行った結果、会員 499 名中 328 名(回収率 66%)から回答が得られた。その結果、本症候群は12症例であることが判明した(表1)。

## ②二次調査・データベース作成

次いで、収集した詳細な臨床情報を、解析するため、二次調査を行い、12症例中4症例(回収率

33.3%)の回答が得られた。収集した情報をもとに、データベースを作成した(表2)。

③同意の得られた患者1名に対してp63遺伝子解析を実施し、遺伝子変異Phe513Serを同定した(図1)。

両親の遺伝子解析後、新規変異と診断した。未報告の遺伝子変異であるが、生物種間でアミノ酸配列が高度に保存された領域内に存在しており、疾患の原因となり得ると考える(図2)。EEC症候群はp63遺伝子のDNA結合部位の遺伝子変異によって生じ、AEC症候群はp63遺伝子のSAM(sterile alpha motif) domain内の変異で生じることが知られており、結果は矛盾していない。EEC症候群との表現型・遺伝子型関係を明らかにした。

EEC・AEC症候群の今年度の新規の検体解析数は3症例で、陽性例は2症例であった。

p63遺伝子変異陰性の症例において、鑑別診断として、Van der Woude症候群の原因遺伝子IRF6遺伝子の解析を行い、変異を同定した。その結果を国際学術論文誌に発表した(in press)。

④これら遺伝子変異陽性症例の必須症状や随伴症状・AEC症候群の関係を明確にし、再検討し、EEC症候群の臨床診断基準(案)を決定した。

### 診断基準(案)

- i) 4肢のうち1肢以上の中手列・中足列の欠損
- ii) 口唇裂・口蓋裂
- iii) 皮膚付属器ないし歯牙の異常 の3徴

## D. 考察

EEC症候群は1970年代にRiegerらが疾患の提唱を行い、世界で200症例以上の報告がある。我が国で疫学調査は行われたことが無く、有病者数・罹患率などは不明であった。

本研究班が平成22年度に行ったEEC症候群の全国推定有病者数は57であった。本疾患の乳幼児死亡率はそれほど高くないことを考慮すると、今回の全国調査で確認された患者数との乖離が推測される。原因として、症例の年齢分布の偏り、未受診例、未診断例などがあげられる。

確定診断の困難さが未診断に繋がる原因の一つであろう。EEC類縁疾患である、AEC(Ankyloblepharon・Ectodermal

dysplasia-Cleft lip and/or palate) syndromeは、眼瞼癒着、外胚葉異形成、口唇/口蓋裂を主徴とする症候群であるが、3症状全てが揃わない症例もある。外胚葉異形成、口唇/口蓋裂は、EECと共通する症状であり、EECとの鑑別が難しいとされている。

遺伝様式は常染色体優性遺伝であり、EEC症候群の原因遺伝子p63遺伝子のヘテロ変異が原因である。EEC症候群は、p63遺伝子のDNA-binding domain内の変異で生じ、AEC症候群はp63遺伝子のSAM(sterile alpha motif) domain内の変異で生じることが知られている。要に、p63遺伝子変異の部位の違いによりAEC syndromeとEEC syndromeとの異なる表現型の症候群を呈する。本研究で遺伝子解析を行ったAEC疑い症例では、眼瞼癒着を認めず、臨床的にAEC症候群・EEC症候群の鑑別に苦慮した。遺伝子解析の結果、SAM domain内に遺伝子変異を認め、AEC症候群と確定することができた。また、指趾病変と口唇瘻を有するVan der Woude症候群も、口唇瘻が80%程度しか認めない、常染色体優性遺伝であり、临床上、EEC症候群の鑑別に入れるべきであると考えられる。これらの情報をもとに、EEC症候群の臨床診断基準(案)を再検討し、臨床診断基準(案)を決定した。

EEC症候群の臨床診断基準の作成については、4肢のうち1肢以上の中手列・中足列の欠損を24症例(85.7%)に認めた。口唇裂and/or口蓋裂は全ての症例に認めたこと、遺伝子変異陽性症例を基に、臨床診断基準(案)を策定した。四肢異常を1肢とすることにより、随伴する徴候の診断への手がかかりとなることを考慮した。早期診断のためには、疾患の実態を把握し、実態に即した診断基準が求められている。

## E. 結論

全国調査の結果のEEC症候群の関連疾患AEC症候群が12名確認し、データベースを作成した。両疾患の原因遺伝子p63及び新規遺伝子の変異解析を実施した。これらの情報をもとに、EEC症候群の臨床診断基準(案)を再検討し、臨床診断基準(案)を決定した。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Kosaki R, Kaneko T, Torii C, Kosaki K  
Popliteal Pterygium Syndrome /Van der

Woude synd andEEC syndrome Am.J.Med Genet.(in press)

2. 学会発表

Kosaki R., Okuno N., Torii C., Kosaki K. : Hartsfield syndrome and Xq 24 microduplication European Society of Human Genetics, 2011

Kosaki K. Tanaka R, Kosaki R., Uchida C, Torii C ,Ishi T ,Sato T, Yoshihashi H :Wide phenotypic variability of Kabuki syndrome with MLL2 mutations. American Society of Human Genetics, 2011

小崎里華 小崎健次郎 黒澤健司 岡本伸彦 水野誠司 高山真一郎: EEC 症候群 (Ectrodactyly、Ectodermal dysplasia Cleft lip\_palate syndrome)の本邦実態調査 第51回日本先天異常学会学術集会 2011.7.23

藤田秀樹 鳥居千春 小崎健次郎 小崎里華:当院で経験したAEC (Ankyloblepharon-Ectodermal dysplasia-Cleft lip and/or palate) syndromeの一例 第56回日本人類遺伝学会 2011

Okuno N. Torii C. Kosaki K. Holoprosencephaly, ectrodactyly, and bilateral cleft lip-palate syndrome and Xq microduplication :A clue to understanding the genetic cause. American Society of Human Genetics, 2010

藤田秀樹 鳥居千春 緒方勤 小崎健次郎 小崎里華 :当院で経験した未診断の発達遅滞・先天性多発奇形症例のアレイCGH解析胎 第55回日本人類遺伝学会 2010

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
3. その他  
なし

表1

送付	499
返信	328
回収率	66%

AEC 症候群診察経験	12
-------------	----

(表2)

症例	性別	調 査 時				出 生 時			
		年 齢	身長(cm)	体重(kg)	頭囲(cm)	在 胎	身長(cm)	体重(kg)	頭囲(cm)
1	男	0ヶ月	-	-	-	39週6日	-	2.950	-
2	女	24歳	152.2	38.0	-	-	-	-	-
3	男	19歳	159.8	74.7	-	41週	-	2.680	-
4	男	7ヶ月	59.8	5.9	-	33週0日	40.5cm	1.860	31.3cm

症例	頭部・顔面・皮膚								
	薄い髪	巻き髪	禿頭	新生児期 皮膚潰瘍 (頭)	新生児期 皮膚潰瘍 (体幹)	皮膚紅斑	皮膚移植	薄い皮膚	色素脱失 した 皮膚
1	×	×	×	×	×	×	×	×	×
2	×	×	○	×	×	×	×	×	○
3	×	×	×	×	×	×	×	×	×
4	○	○	○	○	○	○	×	不明	×

症例	頭部・顔面・皮膚						
	色素沈着 した 皮膚	無・低汗 症	皮膚角化 症 (手掌)	皮膚角化 症 (足底)	顔面裂	爪低形成 (指)	爪低形成 (趾)
1	×	×	×	×	×	×	×
2	○	○	×	×	×	○	○
3	×	×	×	×	×	△	△
4	×	×	×	×	×	○	○

症例	口 腔 ・ 唇								
	開口障害	歯低形成	歯 欠損	う歯	口唇裂 (左)	口唇裂 (正中)	口唇裂 (右)	口蓋裂	軟口蓋裂
1	×	×	×	×	○	×	○	○	-
2	×	○	○	○	○	×	○	○	×
3	×	△	△	△	×	×	×	×	△
4	×	不明	×	×	○	×	×	○	×

症例	耳				眼				
	難聴	耳介低形成	外耳道閉鎖	繰り返す 中耳炎	鼻涙管閉塞	眼瞼閉鎖	眼瞼閉鎖 外科的処置	羞明	涙のう炎
1	×	×	×	×	×	○	○	-	×
2	○	○	×	×	×	○	○	×	×
3	○	○	×	△	△	△	×	×	×
4	○	○	○(狭窄)	×	×	×	×	×	×

症例	胸部	その他				
	副乳	発達遅滞	成長障害	胃瘻造設	敗血症	心疾患
1	×	×	×	×	×	×
2	×	×	○	×	×	×
3	△	○	×	×	×	×
4	×	○	○	×	×	×

症例	手							
	合指(左)	合指(右)	多指(左)	多指(右)	屈指(左)	屈指(右)	裂手(左)	裂手(右)
1	×	×	×	×	×	×	×	×
2	×	×	×	×	×	×	×	×
3	×	×	×	×	×	×	×	×
4	×	×	×	×	×	×	×	×

症例	足							
	合指(左)	合指(右)	多指(左)	多指(右)	屈指(左)	屈指(右)	裂足(左)	裂足(右)
1	×	×	×	×	×	×	×	×
2	○	○	×	×	×	×	×	×
3	×	×	×	×	×	×	×	×
4	×	×	×	×	×	×	×	×

症例	泌尿生殖器						
	腎奇形	尿道下裂	そけいヘルニア	小陰茎	停留精巣	腔乾燥	Wilms腫瘍
1	×	×	×	×	×	×	×
2	×	×	×	×	×	×	×
3	△	×	×	○	×	-	×
4	○	×	×	○	×	×	×

症例	家族歴			遺伝子検査(p63)		
	有無	人数	家族歴	遺伝子検査施行	異常の有無	変異
1	×	-	-	×	-	-
2	×	-	-	×	-	-
3	○	2	母、兄	×	-	-
4	×	-	-	○	有	有

症例	その他の症状
1	-
2	-
3	逆流性食道炎・胎児仮死 臍帯捲絡・多発性関節拘縮・軽度反張肘膝
4	両側水腎水尿管症→膀胱尿管新吻合術



図1

## 遺伝子検査結果

p63 遺伝子 c.1538T>C p.Phe513Ser変異

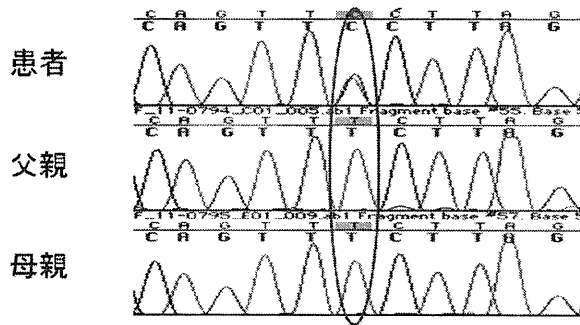
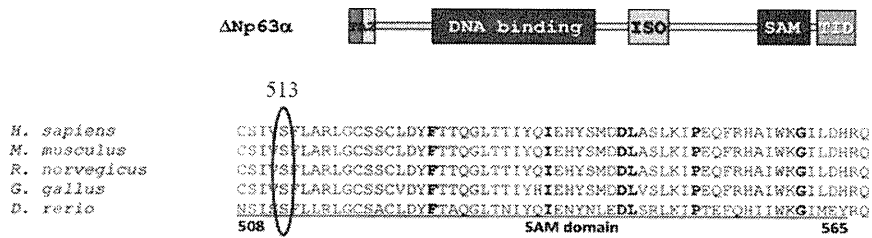


図2

p63のSAM・TI domainにおける生物種間の配列比較



Rinne et al., AJMG Volume 149A, Issue 9, 2009

# [IV]

刊行に関する一覧表

## 別紙4

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
小崎里華	CHARGE症候群	大関武彦 他	今日の小児の 治療指針	医学書院	東京	2011	184
小崎里華	VATER症候群	大関武彦 他	今日の小児の 治療指針	医学書院	東京	2011	190
水野誠司	1p36欠失症候群	大関武彦	今日の小児治 療指針第15版	医学書院	東京	2012	180
水野誠司	レックリングハウゼン 病	大関武彦	今日の小児治 療指針第15版	医学書院	東京	2012	190

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Natsuga K, Nishie W, Shinkuma S, Nakamura H, Arita K, Yoneda K, Kusaka T, Yanagihara T, <u>Kosaki R</u> , Sago H, Akiyama M, Shimizu H	A founder effect of c.1938delC in ITGB4 underlies junctional epidermolysis bullosa and its application for prenatal testing.	Exp Dermatol	20(1)	74-6	2011
Shimizu H, Migita O, <u>Kosaki R</u> , Kasahara M, Fukuda A, Sakamoto S, Shigetaka T, Uemoto S, Nakazawa A, Kakiuchi T, Arai K	Living-related liver transplantation for siblings with progressive familial intrahepatic cholestasis 2, with novel genetic findings.	Am J Transplant	11(2)	394-8	2011
<u>Kosaki R</u> , Fujita H, Ueoka K, Torii C, Kosaki K	Overgrowth of prenatal onset associated with submicroscopic 9q22.3 deletion.	Am J Med Genet A	155(4)	903-5	2011

<u>Kosaki R</u> , Fujita H, Takada H, Okada M, Torii C, Kosaki K	Monozygotic twins of Rubinstein-Taybi syndrome discordant for glaucoma.	Am J Med Genet A	155A(5)	1189-91	2011
Kondoh T, Kanno A, Itoh H, Nakashima M, Honda R, Kojima M, Noguchi M, Nakane H, Nozaki H, Sasaki H, Nagai T, <u>Kosaki R</u> , Kakee N, Okuyama T, Fukuda M, Ikeda M, Shibata Y, Moriuchi H	Donepezil significantly improves abilities in daily lives of female Down syndrome patients with severe cognitive impairment: a 24-week randomized, double-blind, placebo-controlled trial	Int J Psychiatry Med	41(1)	71-89	2011
Kosaki K, Saito H, <u>Kosaki R</u> , Torii C, Kishi K, Takahashi T	Branchial arch defects and 19p13.12 microdeletion: defining the critical region into a 0.8 M base interval.	Am J Med Genet A	155A(9)	2212-4	2011
Numabe H, Sawai H, Yamagata Z, Minato K, <u>Kosaki R</u> , Yuki K, Kosaki K	Reproductive success in patients with Hallermann-Streiff syndrome	Am J Med Genet A	155A(9)	2311-3	2011
Tsutsumi Y, <u>Kosaki R</u> , Itoh Y, Tsukamoto K, Matsuoka R, Shintani M, Nosaka S, Masaki H, Iizuka Y	Vein of Galen Aneurysmal Malformation Associated With an Endoglin Gene Mutation.	Pediatrics	128(5)	1307-10	2011
Tonoki H, Harada N, Shimokawa O, Yozozumi A, Monzaeki K, Satoh K, <u>Kosaki R</u> , Sato A, Matsumoto N, Iizuka S	Axenfeld-Rieger anomaly and Axenfeld-Rieger syndrome: Clinical, molecular-cytogenetic, and DNA array analyses of three patients with chromosomal defects at 6p25.	Am J Med Genet A	155A(12)	2925-32	2011