

[ V ]

平成23年度第1回班会議  
プログラム・抄録

座長：石河 晃（東邦大大森・皮膚科）

**15:20 脳回転状皮膚のみを呈した肥厚性皮膚骨膜炎不全型の1例**

○石河 晃<sup>1)</sup>、大塚 篤司<sup>2)</sup>、栢島健治<sup>2)</sup>、開山麻美<sup>3)</sup>、新関寛徳<sup>3)</sup>、奥山虎之<sup>4)</sup>、佐々木貴史<sup>5)</sup>、工藤純<sup>6)</sup>

1) 東邦大学医療センター大森病院皮膚科

2) 京都大学大学院医学研究科皮膚科学

3) 国立成育医療研究センター皮膚科

4) 同、臨床検査部

5) 慶應義塾大学医学部共同利用研究室生命情報学部門、皮膚科/総合医科学研究センター、

6) 慶應義塾大学医学部共同利用研究室生命情報学部門、遺伝子医学研究室

**15:30 晩発性不全型のPDP女性例**

○関 敦仁（国立成育医療整形外科）、新関寛徳（同、皮膚科）、開山麻美、奥山虎之（同、臨床検査部）、大塚 篤司、栢島健治（京都大学皮膚科）、竹下美紀（東北厚生年金リウマチ科）

**15:40 肥厚性皮膚骨膜炎と考えられる1症例**

○小崎慶介<sup>1)2)</sup>、芳賀信彦<sup>1)</sup>、滝川一晴<sup>1)</sup>、西村玄<sup>3)</sup>

1) 東京大学医学部整形外科、2) 東京都立北療育医療センター整形外科、3) 東京都立小児総合医療センター放射線科

**15:50 肥厚性皮膚骨膜炎における血清、尿中PGE2の測定**

○大塚篤司、土居博美、宮地良樹、栢島健治  
京都大学医学部皮膚科学講座

**16:05-16:15 休憩**

座長：新関寛徳（国立成育医療研究センター皮膚科）

**16:15 総合討論：肥厚性皮膚骨膜炎の genotype-phenotype correlation**

参加者全員による討論

**16:50 報告書作成についてと閉会の辞**

**17:00~ 閉会**

## 演題抄録

### ①肥厚性皮膚骨膜炎患者全国調査集計結果（1）臨床症状に関する解析

○新関寛徳<sup>1</sup>、関敦仁<sup>2</sup>、石河晃<sup>3</sup>、桑原理充<sup>4</sup>、大塚篤司<sup>5</sup>、椛島健治<sup>5</sup>、十字琢夫<sup>6</sup>、野崎誠<sup>1</sup>

国立成育医療・皮膚科<sup>1</sup>、同・整形外科<sup>2</sup>、東邦大大森・皮膚科<sup>3</sup>、奈良医大・皮膚科・形成外科<sup>4</sup>、<sup>5</sup>京都大・皮膚科、国立相模原病院・整形外科<sup>6</sup>

肥厚性皮膚骨膜炎患者受療状況、患者調査を実施した。返答があった43例のうち、同一複数科の重複8例、2次性との鑑別が困難、頭部脳回転様皮膚単独例2例を除く32例について統計的解析を行った。先の文献調査で発見された病型と臨床所見との関連は独立性の検定では検出されず、油性光沢・脂漏、関節症状の頻度は完全型、不全型で差がなかった。しかし、クラスター分析により臨床症状を分類したところ、脳回転状皮膚の有無と関節症状で4群、ざ瘡・多汗症で2群に分類され、文献検索での結果と矛盾しなかった。

### ②肥厚性皮膚骨膜炎患者全国調査集計結果（2）治療に関する解析

○新関寛徳<sup>1</sup>、関敦仁<sup>2</sup>、石河晃<sup>3</sup>、桑原理充<sup>4</sup>、大塚篤司<sup>5</sup>、椛島健治<sup>5</sup>、十字琢夫<sup>6</sup>、野崎誠<sup>1</sup>

国立成育医療・皮膚科<sup>1</sup>、同・整形外科<sup>2</sup>、東邦大大森・皮膚科<sup>3</sup>、奈良医大・皮膚科・形成外科<sup>4</sup>、<sup>5</sup>京都大・皮膚科、国立相模原病院・整形外科<sup>6</sup>

肥厚性皮膚骨膜炎患者受療状況、患者調査のうち、解析可能な32例について統計的解析を行った。病型別に治療の種類との関連を、独立性の検定（クロス集計表）で検討したところ、唯一、形成外科的手術（除皺術）において頻度差が有意であった（全例完全型）。治療効果では、病型間で差があるものはなかった。

最後に、調査票で不明・無回答が多かった項目について供覧し、今後の質問形式について討論したい。

### ③次世代シーケンサーを用いた肥厚性皮膚骨膜炎の新規原因遺伝子の同定

○佐々木 貴史<sup>1,2</sup>、清水厚志<sup>1,3</sup>、塩濱愛子<sup>4</sup>、大塚篤司<sup>5</sup>、椛島健治<sup>5</sup>、石河 晃<sup>6</sup>、関 敦仁<sup>7</sup>、新関寛徳<sup>8</sup>、工藤 純<sup>1,4</sup>

慶應義塾大学医学部<sup>1</sup> 共同利用研究室生命情報学部門、<sup>2</sup>皮膚科/総合医科学研究センター、<sup>3</sup>分子生物学教室、<sup>4</sup>遺伝子医学研究室、<sup>5</sup>京都大学医学部皮膚科、<sup>6</sup>東邦大学医療センター大森病院皮膚科、<sup>7</sup>国立成育医療研究センター整形外科、<sup>8</sup>国立成育医療研究センター皮膚科

当班で収集した肥厚性皮膚骨膜炎患者のうち不完全型患者4人と1人の両親を対象として、次世代 DNA シーケンサーで全エクソン領域を解読する「エクソーム解析」を行ない、新規原因遺伝子の探索を行なった。その結果、4人中3人がプロスタグランディントランスポーター (PGT) 遺伝子 *SLCO2A1* (solute carrier organic anion transporter family, member 2A1) に計5種類(ナンセンス変異、イントロン7のスプライドナーサイト変異、4アミノ酸欠失、2種類のミスセンス変異)の突然変異をコンパウンドヘテロ接合で有していることを発見し、新規の原因遺伝子と判定した。さらに1症例について *SLCO2A1* 遺伝子の変異解析を行ったところ、上記のスプライドナーサイト変異をホモで有していた。この患者の皮膚から抽出した mRNA を用いて RT-PCR を行ったところ、エクソン7が mRNA から除かれていた。このスプライドナーサイト変異は、計8個の疾患変異アレルのうち4アレル(50%)を占めており、日本人患者における主要な変異と考えられる。

### ④Wnt 病としての肥厚性皮膚骨膜炎症例検討と病態分子生理の解明

○吉田剛、永野修、佐谷秀行

慶應義塾大学先端医科学研究センター遺伝子制御部門

新関寛徳(国立成育医療、皮膚科)、石河晃(東邦大、皮膚科)、宮川俊一(市立川崎、皮膚科)、桑原理充(奈良医大、皮膚科・形成外科)、大塚篤司(京大、皮膚科)、椛島健治(京大、皮膚科)、坂部純一(浜松医大、皮膚科)

肥厚性皮膚骨膜炎(以下 PDP)完全型4例、不全型2例に対して酸化ストレス抵抗性獲得に重要な分子である CD44v8-10(以下 CD44v)および Wnt シグナルの下流分子である  $\beta$ -カテニンの抗体を用いて免疫組織化学染色を施行し、Wnt シグナル活性に関して定量解析した。その結果、PDP 病変では定量化解析によって完全型では不全型と比較し Wnt シグナル活性が高かった。

また、ヒト不死化ケラチノサイト細胞に対する酸化ストレス実験では確かに Wnt シグナルは活性化したが、CD44v の発現増強は認められなかった。PDP 病変では酸化ストレス抵抗性に寄与する CD44v を発現している細胞が選択的に増加していることから、病態の本質は adaptive response to oxidative stress であると推察される。

## ⑤脳回転状皮膚のみを呈した肥厚性皮膚骨膜炎不全型の1例

○石河 晃<sup>1)</sup>、大塚 篤司<sup>2)</sup>、椛島健治<sup>2)</sup>、開山麻美<sup>3)</sup>、新関寛徳<sup>3)</sup>、奥山虎之<sup>4)</sup>、佐々木貴史<sup>5)</sup>、

工藤純<sup>6)</sup>

1) 東邦大学医療センター大森病院皮膚科

2) 京都大学医学部皮膚科

3) 国立成育医療研究センター皮膚科

4) 同、臨床検査部

5) 慶應義塾大学医学部共同利用研究室生命情報学部門、皮膚科/総合医科学研究センター、

6) 慶應義塾大学医学部共同利用研究室生命情報学部門、遺伝子医学研究室

52歳、男性。17歳から後頭部全体に脳回状のしわが出現。19歳から頭部および全身に痛みと硬直感が生じるようになった。ここ2～3年は左頭部の痛み、全身多発性の痛みや硬直感が増強している。

今年5月、当院初診時、ほぼ左右対称な脳回転状の深い皺襞を頭部に認めた。バチ指なく、手足・末端の肥大なし、下顎の歯肉部の肥厚・隆起あり、後頭部に痤瘡多数あり。右肩鎖関節部の腫脹と疼痛を認める。四肢のレントゲンでは橈骨中央にわずかに骨膜性骨肥厚を認めるが頸骨には認めず。右肩関節は亜脱臼位であるが変形性関節症変化は認めず。患者の協力を得られず皮膚生検は未施行。遺伝子検索ではHPGD、SLCO2A1遺伝子に異常は発見されていない。血清および尿中のPGE2はそれぞれ597、164pg/mlと上昇を認めている。以上から、脳回転状皮膚の一症状のみではあるが肥厚性皮膚骨膜炎不全型と考えるのが妥当と思われた。

## ⑥晩発性不全型のPDP 女性例

○関 敦仁 (国立成育医療研究センター整形外科)、新関寛徳 (同、皮膚科)、開山麻美、奥山虎之 (同、臨床検査部)、大塚 篤司、椛島健治 (京都大学皮膚科)、竹下美紀 (東北厚生年金リウマチ科)

67歳女性。家族歴なし。44歳時に便秘と下肢の脱力が出現した。原因不明だが半年後には歩行可能になるまで回復した。57歳時に多関節痛とばち指が出現したが、近医での血清学的検査では陰性であった。MTXとプレドニンを処方されて内服中である。当院受診時所見では前額の皮膚肥厚なし。脳回転状頭皮なし。X線所見では、下腿と前腕の骨膜性骨肥厚を認めた。原発性か否かの判断は遺伝子検査結果を待ちたい。

## ⑦肥厚性皮膚骨膜炎と考えられる 1 症例

○小崎慶介<sup>1)2)</sup>、芳賀信彦<sup>1)</sup>、滝川一晴<sup>1)</sup>、西村玄<sup>3)</sup>

1) 東京大学医学部整形外科、2)東京都立北療育医療センター整形外科、3)東京都立小児総合医療センター放射線科

症例：20 歳男子。大学 3 年生。

現病歴：15 歳頃両膝の腫脹にて発症。17 歳頃から両手指が太くなってきた。高校 3 年まではテニス可能であったが、19 歳時には早歩きなどでも両膝痛が見られた。

2010 年 6 月当院初診。

家族歴：父親も両手指が短いようだが、膝痛などはない。

初診時現症：両膝両足関節の腫脹あり。両膝水腫あり。前額部の皮膚皺深く、油性光沢あり。

両手指は基節より遠位が短縮している。

画像所見：管状骨骨幹端部におけるモデリングの低下、管状骨骨幹部の皮質骨肥厚。

## ⑧肥厚性皮膚骨膜炎における血清、尿中 PGE2 の測定

○大塚篤司、土居博美、宮地良樹、桃島健治

京都大学医学部皮膚科学講座

53 才男性。20 歳代頃から両膝の痛みがあり。大学病院内分泌内科で精査、末端肥大症など疑われたが明らかな診断がつかず、様子観察となっていた。2011 年 3 月中頃より両膝に激痛を感じ、近医整形外科受診、MRI で滑膜肥厚を認め内分泌科に紹介。内分泌検査値に特に異常を認めず、肥厚性皮膚骨膜炎(PDP)疑いで精査加療目的に当院紹介。ばち状指あり、関節肥厚あり、脳回転状皮膚ははっきりしないがわずかに波状に発毛有り。前額部、皮膚の肥厚あり。以上より PDP と診断した。血清 PGE2: 1762 pg/ml (健常者 25-200 pg/mL)は高値であった。その他症例の血清、尿中 PGE2 の測定結果もふまえ報告する。

## 総合討論：肥厚性皮膚骨膜炎の genotype-phenotype correlation

当該研究班で渉猟した症例では、これまで HPGD 変異は 1 例も発見されなかったが、このたび SLCO2A1 遺伝子変異が発見されるにいたった。前者はプロスタグランジン E2(PGE2) の分解酵素であり、後者は輸送蛋白である。したがって PGE2 代謝における 1 連のカスケードの上流と下流に位置する蛋白をコードしている遺伝子であるのでその phenotype は類似しており、区別が困難であることは想像に難くない。今回変異のみつかった症例は不全型 2 例、完全型 2 例であるが、皮膚症状も関節症状も一様でない。とくに完全型のうち 1 例では全く関節症状が発現していない。全国調査 32 例や、文献調査 39 例では、完全型では関節症状がなしか軽微な症例が多いことがわかっている。肥厚性皮膚骨膜炎の病型は SLCO2A1 遺伝子においては allelic な現象として説明可能なのか、解析した症例の遺伝子変異と臨床症状、PGE2 濃度、皮膚病理標本検討結果の照合表を配布し、総合的に討論する。以上の試みが新しい病型分類の提言に繋がることを期待したい。

「肥厚性皮膚骨膜炎における遺伝子診断と生化学的検査を踏まえた新しい

病型分類の提言と既存治療法の再評価に関する研究」班

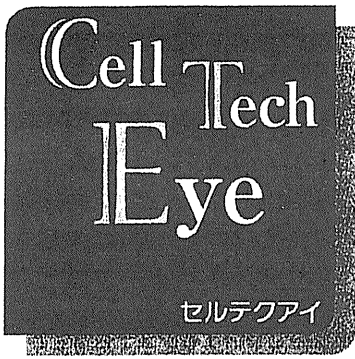
名 簿

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	新関 寛徳	国立成育医療研究センター皮膚科	医長
研究分担者	奥山 虎之	国立成育医療研究センター臨床検査部	部 長
	関 敦仁	国立成育医療研究センター整形外科	医 長
	石河 晃	東邦大学医学部皮膚科学第1講座	教 授
	工藤 純	慶應義塾大学医学部遺伝子医学研究室	教 授
	桑原 理充	奈良県立医科大学皮膚科・形成外科	講 師
	大塚 篤司	京都大学医学部皮膚科	日本学術振興会 特別研究員 (PD)
研究協力者	十字 琢夫	独立行政法人国立病院機構相模原病院 整形外科	医 長
	栳島 健治	京都大学医学部皮膚科	准教授
	佐谷 秀行	慶應義塾大学医学部先端医科学研究所 遺伝子制御研究部門	教 授
	野崎 誠	国立成育医療研究センター皮膚科	医 員



[ VI ]

研究成果の刊行物・別刷



# 次世代シーケンサーを用いた 疾患原因遺伝子の探索～倫理的な配慮も含めて～

小崎健次郎\*<sup>1</sup> 工藤純\*<sup>2</sup>  
Kenjiro Kosaki Jun Kudoh

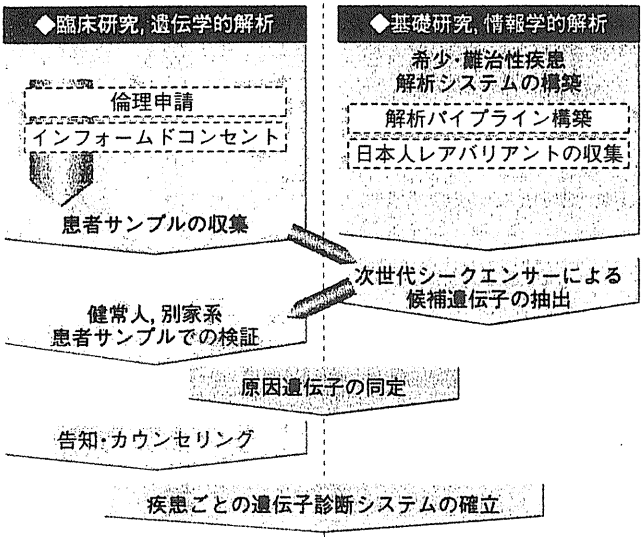
1 慶應義塾大学医学部 臨床遺伝学センター 教授 / kkosaki@z3.keio.jp  
2 慶應義塾大学医学部 共同利用研究室 遺伝子医学研究室 教授 / jkudoh@dmb.med.keio.ac.jp

原因遺伝子がまだ不明である遺伝性疾患の研究を進めるために、次世代シーケンサー (next generation sequencer ; NGS)により疾患の原因を明らかにしようとする研究が国内外で展開され、すでに成果が出始めている<sup>1),2)</sup>。我々、慶應義塾大学医学部でも疾患原因遺伝子の解明を目的としたNGSの運用体制を整えてきた(図1)。

本稿では、医学部においてNGSを用いた網羅的なゲノム解析により、疾患原因遺伝子の探索を実施する際に特に重要と思われる3つの点について、我々の経験に基づき紹介する。

### ①膨大な量のNGSデータ処理

本特集号で述べられているとおり、NGSから産出される膨大な量のDNA配列データから疾患原因遺伝子を探索するためには解析システムの構築が不可欠である。そこで慶應義塾大学医学部では、本稿の筆者である臨床遺伝学専門医と生命情報学研究者が有機的に連携して解読に取り組んでいる(図1)。



■図1 NGS運用体制の例

### ②疾患原因遺伝子の同定に必要な患者の収集と多型データベースの整備

NGSによるゲノム解析では、患者の塩基配列と参照配列の比較から多数の非同義置換や小さな欠失・挿入が同定され、この中から、原因遺伝子を同定する必要がある。これらの大部分は既存の多型データベースに収載されているが、現状ではデータベースに存在しない変異が患者ごとに数百程度見つかる。最終的に原因遺伝子を同定するためには、候補として残った数百のレアバリエント<sup>注1)</sup>の中から疾患の原因となるレアバリエントを決定する必要がある。多数の患者からなる大家系を用いた遺伝学的解析により領域の絞り込みが可能な場合は、その候補領域内のレアバリエントのみに注目すればよい。また、同一疾患を有する多数の独立した患者が収集できる場合は、共通に変異がある遺伝子を同定することから比較的容易に絞り込みができるであろう。しかし、現在まで原因遺伝子が未知のまま残されている疾患の多くは患者の収集が困難な希少疾患であることから、少しでも多くの患者データを収集するためには疾患ごとのコンソーシアムを形成し、臨床症状別に確実性の高い患者を選定することが必要である。

以上のように、努力して収集しても希少疾患では患者数が限られるため、患者間の比較のみでは原因遺伝子を決定することは困難であり、そのためレアバリエントを含んだ多型データベースの充実が、希少疾患原因遺伝子の同定の鍵となる。このレアバリエントの分布には大きな民族差があるため、海外データベースの有用性には限界があり、日本人を対象とする我々は日本人レアバリエントの情報を共有しなければならない。しかし、NGS解析は従来から実施されてきた単一遺伝子あるいは少数の遺伝子を扱う研究と同様に、ゲノム指針で議論されている匿名性の確保が必須で

#### 注1 レアバリエント

集団の1%以上の頻度で観察される1塩基多型 (SNPs) に対し、1%未満の頻度で観察される変異。1,000人ゲノムプロジェクトにより多数同定された。

あり、被験者個人の情報を最大限に保護し、研究者間でレアバリエントの情報のみを集積・利用するシステムが必要である(詳細は辻教授の稿を参照)。

### ③倫理的な配慮(告知および匿名化データの公開)

大学医学部でのNGSを用いた変異解析研究を倫理委員会に申請する場合には、「被験者に対して結果をどう返すか」、「匿名化データの公開」の2点について、どのようなスタンスで研究を遂行するかが審議のポイントとなる。

特定の疾患を研究している場合には、目的の疾患とは無関係の変異情報にどう対応するか、という倫理的な問題を解決しておく必要がある。特に、晩期発症する疾患(神経変性疾患、家族性腫瘍など)に対しては、NGSの網羅的な解析の副産物として発症前診断を行うことになるとの懸念について考慮が必要である。生命倫理の原則の中の「自分たちのことは、自分たちが決める」という自己決定(Autonomy)の考え方を優先すれば、偶然知り得た疾患リスクについてもすべて知らせるという考え方もあるが、患者には「知らずにいる権利」もある。現時点では対象とした疾患に関わる変異情報以外は原則開示しないとの考え方は合意を得やすいと思

われる。また、小児については、発症前診断を行わないという原則を守ることが妥当であろう。さらに、変異が同定され患者に告知する際には、単に変異の有無だけではなく、予想される予後や対処法などの患者が理解しやすい情報を付加する必要がある。

最近市販されたパーソナルNGSは、データ産生量は少ないものの低コスト化されており、近い将来、NGSの臨床応用が急速に進展することには疑いの余地がない。例えば、海外の学会では筋疾患に関わる数十の遺伝子群をまとめて解析するシステムなどが報告されている。このようなシステムを臨床の現場で診断目的に使う際にもレアバリエントに関する情報の蓄積は必須である。レアバリエントデータベースが研究のみならず、医療を推進するうえでも必要不可欠であることについて、広く一般社会に理解を求めていかねばならない。

### 文献

- 1) Ng SB, et al: Nat Genet (2010) 42: 30-35
- 2) Ng SB, et al: Nat Genet (2010) 42: 790-793



