

201128137A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

エーラスダンロス症候群（主に血管型および新型）の
実態把握および診療指針の確立

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 古庄 知己

平成24（2012）年 5月

目 次

I. 平成23年度構成員名簿	1
II. 総括研究報告	3
エーラスダンロス症候群（主に血管型および新型）の実態把握および診療指針の確立 古庄知己（信州大学医学部附属病院遺伝子診療部）	
III. 分担研究報告	35
1. 血管型エーラスダンロス症候群の実態把握および診療指針の確立に関する研究	36
古庄知己（信州大学医学部附属病院遺伝子診療部）	
籾持 淳（獨協医科大学皮膚科）	
渡邊 淳（日本医科大学附属病院遺伝診療科，同生化学・分子生物学）	
森崎裕子（国立循環器病研究センター研究所分子生物学部）	
2. 血管型エーラスダンロス症候群の遺伝子解析に関する研究	44
籾持 淳（獨協医科大学皮膚科）	
3. 血管型エーラスダンロス症候群の新規遺伝子変異解析法による変異部位の解析	52
渡邊 淳（日本医科大学附属病院遺伝診療科，同生化学・分子生物学）	
4. エーラスダンロス症候群の診療および遺伝子解析	55
森崎裕子（国立循環器病研究センター研究所分子生物学部）	
5. 新型エーラスダンロス症候群の責任遺伝子単離に関する研究	60
三宅紀子（横浜市立大学医学研究科遺伝学）	
松本直通（横浜市立大学医学研究科遺伝学）	
6. 新型エーラスダンロス症候群の病態解明に関する研究	64
福嶋義光、鳴海洋子、古庄知己 （信州大学医学部附属病院遺伝子診療部 信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座）	
7. 新型エーラスダンロス症候群の診療指針の確立に関する研究	74
福嶋義光、鳴海洋子、古庄知己 （信州大学医学部附属病院遺伝子診療部 信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座）	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	91

I. 平成23年度構成員名簿

平成 23 年度構成員名簿

区分	氏名	所属等	職名
研究代表者	古庄 知己	信州大学医学部附属病院遺伝子診療部	講師
研究分担者	福嶋 義光	信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座	教授
	籾持 淳	獨協医科大学皮膚科	教授
	渡邊 淳	日本医科大学附属病院遺伝診療科・生化学・分子生物学	准教授
	松本 直通	横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学	教授
	森崎 裕子	国立循環器病研究センター研究所分子生物学	室長
	三宅 紀子	横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学	准教授
	鳴海 洋子	信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座	助教
研究協力者	菅原 一幸	北海道大学大学院先端生命科学研究院・生命機能科学研究部門プロテオグリカンシグナリング医療応用研究室	教授
	野村 義宏	東京農工大学農学部硬蛋白質利用研究施設	准教授
	小林 身哉	金城学院大学生活環境学部食環境栄養学科	教授
	江良 拓実	熊本大学発生医学研究所幹細胞誘導分野	教授
	林 周次郎	獨協医科大学皮膚科	助教

Ⅱ. 総括研究報告

エーラスダンロス症候群（主に血管型および新型）の実態把握および診療指針の確立

研究代表者 古庄知己 信州大学医学部附属病院遺伝子診療部

研究要旨

背景：Ehlers-Danlos 症候群（EDS）は、皮膚の過伸展性、関節弛緩など結合組織の脆弱性を特徴とする先天性疾患の総称で、6つの主病型および新病型が含まれ、推定頻度は1/5000人とされている。本研究班では、血管型 EDS および新型 EDS（EDS, Kosho Type）を中心に臨床的、基礎的研究を行ってきた。血管型 EDS は、Ⅲ型コラーゲン（COL3A1）遺伝子変異に基づき、若年性動脈破裂・解離・瘤、腸破裂、妊娠中の子宮破裂などの生命に関わる深刻な症状を呈する診療上重要な疾患である。しかしながら、そのスクリーニング方法、予防法、治療法、遺伝カウンセリングのあり方は確立しておらず、診療上の大きい問題となっている。新型 EDS（EDS, Kosho Type）は、EDS 班の活動において発見した、顔貌上の特徴、先天性多発関節拘縮、進行性の結合組織脆弱性（皮膚弛緩、関節弛緩・変形、巨大皮下血腫など）を呈する全く新しいタイプの EDS である。CHST14 遺伝子の変異に基づきデルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1（D4ST-1）の活性が低下し、その結果、デコリンに付加するグリコサミノグリカン（GAG）鎖の組成変化（デルマタン硫酸の消失）が生じ、デコリンが媒介するコラーゲン細線維の assembly 不全に至ることが、本症候群の進行性結合組織脆弱性の病態と考えられている（Kosho et al., *Am J Med Genet* 138A: 282-287, 2005 ; Kosho et al., *Am J Med Genet* 152A: 1333-1346, 2010; Miyake et al., *Hum Mutat* 31: 966-974, 2010）。ほぼ同時に、D4ST-1 の欠損が、内転母指および内反足を特徴とする新しい多発関節拘縮症“adducted thumb-clubfoot syndrome（ATCS）”（Dündar et al., *Am J Hum Genet* 85: 873-882, 2009）、および、後側彎型 EDS の亜型に分類されていた一部の患者（Musculocontractural EDS; MCEDS）（Malfait et al., *Hum Mutat* 31: 1233-1239, 2010）の原因であると報告された。我々は、新たに見出した EDSKT の2症例と既報告の EDSKT、ATCS、MCEDS 合計20症例の臨床像を包括的かつ詳細に分析し、これらが D4ST-1 欠損に基づく臨床的に同一の疾患であり、進行性結合組織脆弱性および発生異常に特徴付けられる EDS の新病型と結論付けた（Shimizu et al., *Am J Med Genet* 155A: 1949-1958, 2011）。他方、ATCS の発見グループからは、本症は「dermatan sulfate-deficient ATCS」と命名すべきであり、EDS との分類は不適切であるとの主張が展開された。その根拠は、本症においては先天性多発関節拘縮、顔貌上の特徴、口唇口蓋裂、腸・腎の異常、筋緊張低下など通常 EDS には見られない症状があること、分子病態が EDS とは異なることであった（Janecke et al., *Hum Mutat* 32: 484-485, 2011）。

血管型 EDS：平成21-22年度の本研究班の活動の一環として、国内で確定診断された36家系41人の診療実態に関する概要調査を行い、本邦初であり世界的にも大規模な部類に入る概要調査結果として報告した（遺伝カウンセリング学会雑誌 第31巻：157-161, 2010）。生化学分析または遺伝子解析に基づく確定診断例の収集を継続しており、平成23年度までに58家系66人が確定診断された。男性38人、女性28人であり、家族例30人、孤発例21人であった。初発症状の出現年齢は平均22.6歳（14-43歳）であり、呼吸器系が最も多かった。合併症の頻度は動脈系62%、呼吸器系47%、消化器系24%であった。COL3A1変異は、ミスセンス変異45%、スプライス変異45%であり、3家系において nonsense mediated mRNA decay（NMD）のためcDNAでは検出できないナンセンス変異、1塩基欠失変異が見出された。診療上最も重要な動脈合併症に関して、最近心臓選択的なβ遮断作用および血管拡張をもたらすβ刺激作用薬“celiprolol”の有用性を示す世界初のランダム化比較試験の結果が報告された（Ong et al., *Lancet* 2010; 376: 1476-84.）。本研究班において、国内確定診断例の動脈合併症の治療状況を調査した。各種降圧剤を内服している例が見られたが、celiprololが投与されていたのは2人であった。14人が侵襲的治療（血管内治療、外科的治療）を受けていた。脾動脈破裂・瘤に

対する結紮術、腸管膜動脈破裂に対する手術は問題なく行われていたが、大動脈瘤に対する人工血管置換術ではトラブルがあった。頸動脈海綿静脈洞ろうに対する血管内治療では十分な効果は得られなかったが、大動脈分枝の塞栓術、大動脈や腸骨動脈のステント術は比較的安全で有効である可能性が考えられた。また、我々が開発した、末梢血由来ゲノム DNA を用いた *COL3A1* 遺伝子変異スクリーニング法である高解像度融解曲線分析 (high resolution melting curve analysis; hrMCA) 法 (*Banyar et al., Biochem Biophys Res Commun 405:368-372, 2011*) により、新たな家系において、新規スプライス変異を同定することができた。以上から、本症候群の診療指針を次のように提案する：hrMCA 法を含めた解析法を駆使して早期生化学または遺伝子診断をした後、血管病変スクリーニングを行い、celiprolol 投与による動脈合併症の予防を行う。ハイリスク動脈病変に対しては、血管内治療の可能性を探り、血管内治療では対応できない進行性病変に対しては、慎重に手術を行う。

新型 EDS (EDS, Kosho Type)：皮膚・関節の過伸展性、各種組織の脆弱性という EDS の中核症状を持つことから、多発関節拘縮症というカテゴリーより、臨床的に EDS とのカテゴリーの方が妥当と考えられた。病因論的にも、進行性の結合組織脆弱性に関しては、「D4ST1 欠損→デコリンに付加するグリコサミノグリカンの組成変化 (デルマタン硫酸の消失) →デコリンが媒介するコラーゲン細線維の assembly 不全」といったコラーゲンの生合成異常と位置づけられ、EDS との分類が妥当と考えられた。以上から、「D4ST-1-deficient EDS (DD-EDS)」との疾患名を提案した (*Kosho et al., Hum Mutat 32: 1507-1509, 2011*)。確定診断例は、これまでに論文報告された症例および自験例を含め 24 家系 34 人となり (うち本邦患者は 16 家系 18 人)、臨床データの集積から、本症候群の診療指針を次のように提案する：新生児期、特徴的顔貌と骨格症状から疑い *CHST14* 遺伝子解析により確定診断する。乳幼児期、内反足などに対する整形外科治療や運動発達遅滞に対する理学療法などを考慮する。その後、眼科、耳鼻科、泌尿器科、循環器科を含めた包括的な健康管理を行うとともに、巨大皮下血腫に対する DDAVP 点鼻療法などの外傷予防対策を行う (*Shimizu et al., Am J Med Genet 155A: 1949-1958, 2011; Kosho et al., Hum Mutat 32: 1507-1509, 2011; 古庄知己, 信州医学誌 59: 305-319, 2011*)。重度進行性の脊椎変形に対する手術を行う場合には、巨大皮下血腫の予防を含めた入念な準備が必要である。また、巨大皮下血腫後には広範性皮膚壊死を呈する危険性があり、この場合には、人工真皮、自家培養皮膚線維芽細胞、自家分層網状皮膚、自家培養表皮シート移植療法など様々な形成外科的治療を駆使する必要がある。さらなる病態解明につながる基礎的検討を行い、患者尿中の DS が消失していること、デコリン染色が患者と健康人では有意な違いがあることを世界で初めて明らかにした。さらに、将来の根治療法の開発へ向けた疾患モデルの構築のため、iPS 細胞を樹立し、ノックアウトマウスの作製に着手した。

研究分担者

福嶋義光 (信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座・教授)
簗持淳 (獨協医科大学皮膚科・教授)
渡邊淳 (日本医科大学附属病院遺伝診療科・生化学・分子生物学・准教授)
松本直通 (横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学・教授)
森崎裕子 (国立循環器病研究センター研究所分子生物学部・室長)
三宅紀子 (横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学・准教授)
鳴海 洋子 (信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座・助教)

A. 研究目的

Ehlers-Danlos 症候群 (EDS) は、皮膚の過伸展性、関節弛緩など結合組織の脆弱性を持つ先天性疾患の総称であり、古典型 (Classical type)、関節過動型 (Hypermobility type)、血管型 (Vascular type)、後側彎型 (Kyphoscoliosis type)、多発関節弛緩型 (Arthrochalasia type)、皮膚脆弱型 (Dermatosparaxis type) の 6 つの主病型に分類されている。いずれも、コラーゲン分子そのもの、または修飾酵素の遺伝子変異により生じる。最近、大病型に属さない新たな病型が、その生化学的、遺伝学的基盤とともに相次いで発見されている (表 1)。全病型を合わせた推定頻度は約 1/5000 人とされている。

血管型 EDS は、型コラーゲン (*COL3A1*) 遺伝子変異に基づき、若年性動脈破裂・解離・瘤、腸

破裂、妊娠中の子宮破裂などの生命に関わる深刻な症状を呈する常染色体優性遺伝疾患であるが、合併症のスクリーニング方法、予防法、治療法、遺伝カウンセリングのあり方を含めた包括的診療指針は確立していない。平成 21-22 年度本研究班 (EDS 班) 活動において、本邦初の確定診断例の実態調査を行った。36 家系 41 人が確認され、診断時年齢は平均 28.6 歳、初発症状が生じた平均年齢は 21.9 歳であった。合併症の頻度は動脈系 63%、呼吸器系 51%、消化器系 24%であった。33 家系において遺伝子変異が検出された (ミスセンス変異 55%、スプライス変異 45%) (古庄ら. *遺伝カウンセリング学会雑誌* 31: 157-161, 2010; Shimaoka et al., *Br J Dermatol* 163:704-710, 2010)。最近、血管拡張作用を有する β 遮断薬 celiprolol が本症の動脈合併症に対して予防効果を持つとのランダム化比較試験の結果が欧州のグループから報告され (Ong et al., *Lancet* 376: 1476-1484, 2010)、本症は正確な診断に基づき積極的予防対策をとるべき疾患へとシフトする重大な局面を迎えており、症例の蓄積に基づく診療指針の確立が急務である。

本症患者の 2/3 はトリプルヘリックス領域にみられる 3 アミノ酸ごとに繰り返すグリシンが置換するミスセンス変異、残りはスプライシング変異とされている。従来 *COL3A1* 遺伝子解析は培養皮膚線維芽細胞から抽出した mRNA を用いて行われたが、線維芽細胞からの解析は皮膚生検、培養技術が必要となるという患者への負担や技術的な困難さ、さらに、nonsense mediated mRNA decay (NMD) を来すナンセンス変異、欠失変異を検出できないという問題点も指摘されている。平成 21-22 年度 EDS 班活動において、高解像度融解曲線分析 (high resolution melting curve analysis; hrMCA) 法に基づく、末梢血由来ゲノム DNA を用いた *COL3A1* 遺伝子変異スクリーニングを開発した。本法では、従来法で同定できたグリシン変異とスプライシング変異のみならず、従来法では同定できない NMD を来すナンセンス変異、欠失変異も同定できた (Banyar et al., *Biochem Biophys Res Commun* 405:368-372, 2011)。

新型 EDS (EDS, Kosho Type) は、EDS 班の活動において発見した、顔貌上の特徴、先天性多発関節拘縮、進行性の結合組織脆弱性 (皮膚弛緩、関節弛緩・変形、巨大皮下血腫など) を呈する全く

新しいタイプの EDS である (Kosho et al., *Am J Med Genet* 138A: 282-287, 2005; Kosho et al., *Am J Med Genet* 152A: 1333-1346, 2010)。ホモ接合性マッピング、ハプロタイプ解析で候補領域を 6.3Mb まで狭め、この領域に存在する遺伝子 *CHST14* が本疾患の責任遺伝子であることを突き止めた。*CHST14* は、デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 (D4ST-1) をコードする遺伝子であり、発症機構として「D4ST-1 欠損→デコリンに付加するグリコサミノグリカン (GAG) 鎖の組成変化 (デルマタン硫酸[DS]が消失し、コンドロイチン硫酸[CS]に置換する) →デコリンが媒介するコラーゲン細線維の assembly 不全」という病態を示した (Miyake et al., *Hum Mutat* 31: 966-974, 2010)。ほぼ同時に、D4ST-1 の欠損が、内転母指および内反足の特徴とする新しい多発関節拘縮症“adducted thumb-clubfoot syndrome (ATCS)” (Dündar et al., *Am J Hum Genet* 85: 873-882, 2009)、および、後側彎型 EDS の亜型に分類されていた一部の患者 (Musculocontractural EDS; MCEDS) (Malfait et al., *Hum Mutat* 31: 1233-1239, 2010) の原因であると報告された。そして、ATCS の発見グループからは、本症は「dermatan sulfate-deficient ATCS」と命名すべきであり、EDS との分類は不適切であるとの主張が展開された。その根拠は、本症においては先天性多発関節拘縮、顔貌上の特徴、口唇口蓋裂、腸・腎の異常、筋緊張低下など通常 EDS には見られない症状があること、分子病態が EDS とは異なることであった (Janecke et al., *Hum Mutat* 32: 484-485, 2011)。

平成 21-22 年度 EDS 班の活動において、新たに見出した EDSKT の 2 症例と既報告の EDSKT、ATCS、MCEDS 合計 20 症例の臨床像を包括的かつ詳細に分析し、これらが D4ST-1 欠損に基づく臨床的に同一の疾患であり、進行性結合組織脆弱性 (皮膚過伸展・脆弱性、全身関節弛緩・慢性脱臼・変形、巨大皮下血腫など) および発生異常 (顔貌の特徴、先天性多発関節拘縮など) に特徴付けられる EDS の新病型と結論付けた (Shimizu et al., *Am J Med Genet* 155A: 1949-1958, 2011)。

平成 23 年度 EDS 班の目的は以下のとおりである。

(1) 血管型 EDS :

- ① 生化学分析および遺伝子解析に基づく患者収集を継続し、確定診断例における診療実態の概要をまとめる。

- ② 動脈合併症に関する二次調査に基づき診療指針を提案する。
- ③ 非侵襲的で精度の高いゲノム DNA ベースの遺伝子解析法を開発する。

(2) 新型 EDS :

- ① 遺伝子解析に基づく患者収集を継続し、臨床データの集積による疾患概念および自然歴を確立し、診療指針を提案する。
- ② 将来の根治療法に向けて、疾患モデルの作製を含めて、さらに詳細かつ包括的に病態を解明する。

B. 研究方法

①血管型 EDS の実態調査に基づく診療指針の構築及び非侵襲的で高精度の遺伝子解析法の開発

<患者収集> 現在日本において本症の確定診断のための生化学分析・遺伝子解析を行っている施設は、獨協医科大学皮膚科（籾持淳教授、研究分担者）、日本医科大学遺伝診療科・生化学・分子生物学（渡邊淳准教授、研究分担者）、国立循環器病研究センター研究所分子生物学部（森崎裕子室長、研究分担者）のみである。生化学分析は、患者皮膚の生検により得られた皮膚線維芽細胞をトリチウム放射性プロリンと共に培養し、産生されたコラーゲンを回収して電気泳動で分離後、フィルムに感光して I 型、III 型コラーゲンを解析した。遺伝子解析は、培養皮膚線維芽細胞由来の mRNA を用いて COL3A1 の RT-PCR およびダイレクトシーケンスを行った。

<実態調査>

- ① 確定診断例の概要調査: これら 3 施設がこれまで確定診断した全症例の抽出を行い、信州大学医学部附属病院遺伝子診療部（古庄知己、研究代表者）において分析した。
- ② 動脈合併症の治療状況に関する調査: 確定診断例の担当医に対し、心臓血管病変の治療状況に関する調査票を送付し、信州大学医学部附属病院遺伝子診療部（古庄知己、研究代表者）において集計、分析した。

<新たな遺伝子解析法の開発>

より非侵襲的かつ効率的な遺伝子解析法を追求するため、日本医科大学遺伝診療科・生化学・分子生物学（渡邊淳准教授、研究分担者）を中心に、hrMCA 法による検討を行った。症例は 35 歳男性、腸骨動脈破裂、難治性気胸の既往あり。父が 33 歳時に、兄が 15 歳時に突然死している。臨床的には、血管型 EDS、Marfan 症候群（類縁疾患）など結合組織脆弱性疾患が疑われた。末梢血由来ゲノム DNA から hmMCA 解析を、培養皮膚線維芽細胞由来 mRNA から RT-PCR およびダイレクトシーケンスを行った。

②新型 EDS の診療指針の構築及び病態解明のための基礎的検討

<CHST14 遺伝子解析に基づく患者収集>

臨床症状から疑われる患者から、適切なインフォームドコンセントを取得後、末梢血を採取、DNA を抽出した。CHST14 遺伝子のタンパク質翻訳領域とエクソンイントロン境界領域をカバーするよう PCR プライマーを設計し、PCR-ダイレクトシーケンスを行った。解析は、横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学（松本直通教授、三宅紀子准教授、研究分担者）において行われた。

<診療指針の構築>

信州大学医学部附属病院遺伝子診療部（古庄知己、研究代表者）を中心に、これまでに ATCS、EDSKT、および MCEDS として論文報告されてきた 14 家系 22 人、in press の 3 家系 4 人、および未発表 7 家系 8 人を合わせた 24 家系 34 人（うち 16 家系 18 人が本邦で発見された）の合併症、治療状況を論文または自験例では診療録をもとに調査し、診療指針の作成を目指した。

この間、EDSKT の 1 症例が進行性後側彎症の手術を行った。周術期における巨大皮下血腫の予防と治療において、DDAVP（デスマプレッシン）点鼻療法が実施され、その有用性を検討した。また同一症例が交通外傷後に下肢の巨大皮下血腫を呈し、それに伴う重症広範性皮膚壊死に陥った。これに対し、人工真皮・自家培養皮膚線維芽細胞・自家分層網状皮膚および自家培養表皮シート移植療法（ジェイスTM）による治療を試み、その有用性を検討した。

<病態解明のための基礎的検討>

生化学分析

新規患者培養皮膚線維芽細胞における conditioned medium 中の CS/DS 分析を、コンドロイチナーゼ AC、B による消化および陰イオン交換 HPLC により行った。またデコリン GAG 鎖における CS/DS 分析を、抗ヒト・デコリン抗体（マウスモノクローナル抗体）を用いた western blotting により行った。さらに、5 人の患者由来の尿の CS/DS 分析を、コンドロイチナーゼ ABC、AC、B による消化および陰イオン交換 HPLC により行った。これらの検討は、研究協力者の菅原一幸教授（北海道大学大学院先端生命科学研究所・生命機能科学研究部門プロテオグリカンシグナリング医療応用研究室）の研究室において、主として水本秀二博士研究員が実施した。

病理学的分析

研究協力者の小林身哉教授（金城学院大学生生活環境学部食環境栄養学科）の研究室、野村義宏准教授（北海道大学大学院先端生命科学研究所・生命機能科学研究部門プロテオグリカンシグナリング医療応用研究室）の研究室、藤田芳和先生（名古屋大学大学院医学研究科教育研究機器センター）、および中山淳教授（信州大学大学院医学系研究科分子病理学分野）の研究室において実施された。

光顕分析：3 患者と 1 健康人由来の皮膚組織を用いて、AZAN 染色による観察を行った。

電顕分析（Cupromeronic blue 染色）：1 患者と別型の EDS 患者の皮膚組織を用いて、Cupromeronic blue 染色によるコラーゲン GAG 鎖の観察を行った。

抗デコリン抗体を用いた免疫組織化学分析：4 患者と 1 健康人の皮膚組織を用いて、抗ヒト・デコリン抗体（マウスモノクローナル抗体）による免疫組織学的観察を行った。1 患者の皮膚組織を用いて、同抗体による免疫電顕観察を行った。

発現解析：4 患者と 2 健康人由来の培養皮膚線維芽細胞を用いて、マイクロアレイ（Illumina Human HT-12 ver.4）による発現解析を行った。

iPS 細胞の樹立：患者 1 人（P281L/Y293C）の皮膚片を採取、皮膚線維芽細胞を樹立した後、研究協力者の江良拓実教授（熊本大学発生医学研究所幹細胞誘導分野）の研究室において、*OCT3/4*、*SOX2*、*KLF4*、*c-MYC* を搭載したセンダイウイルス

スを用いた方法を用いた。

ノックアウトマウスの作製：研究分担者の三宅紀子准教授（横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学）、研究協力者の菅原一幸教授、野村義宏准教授、水本秀二博士研究員とともに計画を進めてきた。*CHST14* のノックアウトマウスは、既に作成され（*Tang et al., Nat Biotech 28: 749-755, 2010*）、米国の非営利的マウス供給センター（Mutant Mouse Regional Resource Centers；MMRRC）（<http://www.mmrrc.org/>）を通じて研究者に実費で提供されていた。MMRRC に依頼し、凍結精子を入手することとした。

倫理面への配慮

< 遺伝子解析研究としての配慮 >

(1) 血管型 EDS の確定診断としての生化学分析および遺伝子解析、そして、(2) 新型 EDS の遺伝子解析および病態解析を含む。研究代表者は、平成 19 年～22 年には「新型エーラスダンロス症候群の遺伝子解析（受付番号 214）」として、平成 22 年以降は「D4ST1 欠損症（エーラスダンロス症候群，古庄型）の遺伝子解析（受付番号 304）」として信州大学医学部医倫理委員会の承認を得ている。また、遺伝子解析を実施する共同研究施設においても、倫理委員会の承認を得ている。新たに遺伝子解析を行う患者・家族に対しては、研究代表者・分担者またはそのガイダンスを受けた患者主治医により、患者・家族に十分な説明を行い、同意を得ることを原則とした。また、診療施設から臨床情報を収集する際には、個人情報保護に留意した。

< 臨床研究としての配慮 >

臨床研究に関する倫理指針（厚生労働省）などを遵守する必要があり、研究代表者は、平成 21 年、「血管型エーラスダンロス症候群の実態把握および治療指針の確立（受付番号 1350）」との課題名で、信州大学医学部医倫理委員会の承認を得た。診療施設から臨床情報を収集する際には、個人情報の保護に留意した。

< 診療研究としての配慮 >

新型 EDS における巨大皮下血腫への治療としての DDAVP 点鼻薬は輸入製品であり、「重症出血症状を呈するエーラスダンロス症候群に対する

DDAVP 点鼻療法（受付番号 1186）」として信州大学医学部医倫理委員会の承認を得た。また、同症における重症広範性皮膚壊死に対する人工真皮・自家培養皮膚線維芽細胞・自家分層網状皮膚および自家培養表皮シート移植療法は世界初の試みであり（自家培養表皮シートは保険外使用）、「エーラスダンロス症候群（古庄型）患者における重症広範性皮膚壊死に対する人工真皮・自家培養皮膚線維芽細胞・自家分層網状皮膚および自家培養表皮シート移植療法（受付番号 1751）」として同倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

①血管型 EDS の実態調査に基づく診療指針の構築及び非侵襲的で高精度の遺伝子解析法の開発

<実態調査>

確定診断例の概要調査：生化学分析または遺伝子解析により確定診断されたのは、58 家系 66 人であった。男性 38 人、女性 28 人であり、家族例 30 人、孤発例 21 人、不明 15 人であった。家族検索で 3 人が見出されていた（54 歳、易出血性と骨格異常を呈する；59 歳、60 歳、無症状）。初発症状の出現年齢は平均 22.6 歳（14-43 歳）であり、呼吸器系が最も多かった。合併症の頻度は動脈系 62%、呼吸器系 47%、消化器系 24%であった。COL3A1 変異は、ミスセンス変異 45%、スプライス変異 45%であり、3 家系において nonsense mediated mRNA decay (NMD) のため cDNA では検出できないナンセンス変異、1 塩基欠失変異が見出された。

動脈合併症の治療状況に関する調査：情報を入手しえた 28 人中、13 人が β 遮断薬、α 遮断薬、Ca 遮断薬、AT 受容体遮断薬 (ARB)、利尿剤といった内科的降圧療法を受けていた。このうち Celiprolol が投与されていたのは 2 人のみであった。

侵襲的治療（血管内治療、外科的治療）を受けていたのは 14 人であった。

1	左腎動脈瘤破裂に対する塞栓術、腎梗塞 (42 歳)
女性	
2	S 状結腸間膜動脈破裂、手術、軽快 (31 歳)
男性	

	横行結腸間膜動脈破裂、手術、軽快 (33 歳)
	横行結腸動脈破裂、血管内治療、軽快 (37 歳)
3	左尺骨動脈瘤、手術、不明 (25 歳)
男性	右尺骨動脈仮性動脈瘤、手術、不明 (29 歳)
4	胸部大動脈解離、ステント、軽快 (32 歳)
女性	
5	左頸動脈海綿静脈洞ろう、塞栓術、軽快 (41 歳)
女性	
6	脾動脈断裂、脾動脈結紮・脾摘、軽快 (26 歳)
男性	
7	急性大動脈解離 (Stanford A)、人工血管置換術、進行 (21 歳)
男性	胸腹部大動脈解離、人工血管置換術、肺出血により左肺全摘 (23 歳)
8	腹部急性大動脈瘤、ステント・左総腸骨動脈閉塞術・右大腿動脈—左大腿動脈バイパス術、良好 (20 歳)
男性	
9	脾動脈瘤、外科的結紮術、軽快 (41 歳)
男性	
10	右頸動脈海綿静脈洞ろう、血管造影時に攣縮、軽快 (27 歳)
女性	
11	左頸動脈海綿静脈洞ろう、バルーン閉塞術・コイル閉塞術、不十分 (26 歳)
女性	左頸動脈海綿静脈洞ろう、内頸動脈結紮術、軽快 (26 歳)
12	腸閉塞術後の内腸骨動脈破裂、塞栓術、軽快 (28 歳)
男性	
13	左外腸骨動脈解離・偽腔拡張、カバード・ステント、軽快 (38 歳)
男性	
14	肝腎動脈瘤の進行、両側肝動脈塞栓・左腎

男性	動脈塞栓、軽快 (25 歳)
----	----------------

<新たな遺伝子解析法の検討>

末梢血由来ゲノム DNA を用いた hmMCA 解析により、COL3A1 の intron 15 の 3'側-10 において既知の SNP には報告がない塩基置換がヘテロ接合体で検出された。培養皮膚線維芽細胞由来 total RNA を用いた RT-PCR シーケンス法で exon 16 の前に 9 塩基挿入がヘテロ接合体で検出された。新たに生じたタンパクは、3 アミノ酸挿入の in-frame であるが、コラーゲン 3 量体ができないため病的変異と考えられた。

②新型 EDS の疾患概念の確立と診療指針の構築及び病態解明のための基礎的検討

<CHST14 遺伝子解析に基づく患者収集>

現在までに 17 家系の遺伝子解析を終了している。症状の典型的な 13 家系においてはホモ接合性変異または複合ヘテロ接合性変異が同定された。他方、症状が非典型的な 4 家系においては変異は同定されなかった。変異アレルの出現頻度を以下に示す。

c.2_10delTGTTCCCCC	p.Met1? :	2 (alleles)
c.145delG	p.Val49* :	2
c.205A>T	p.Lys69* :	1
c.485G>A	p.Trp162* :	1
c.626C>T	p.Phe209Ser :	3
c.842C>T	p.Pro281Leu :	13
c.866G>C	p.Cys289Ser :	1
c.878A>G	p.Tyr293Cys :	3

<疾患概念の確立>

本症は、皮膚・関節の過伸展性、各種組織の脆弱性という EDS の中核症状を持つことから、多発関節拘縮症というカテゴリーより、臨床的に EDS とのカテゴリーの方が妥当と考えられた。病因論的にも、進行性の結合組織脆弱性に関しては、「D4ST1 欠損→デコリンに付加するグリコサミ

ノグリカンの組成変化 (デルマタン硫酸の消失) →デコリンが媒介するコラーゲン細線維の assembly 不全」といったコラーゲンの生合成異常と位置づけられ、EDS との分類が妥当と考えられた。以上から、「D4ST-1-deficient EDS (DD-EDS)」との疾患名を提案した (Kosho et al., Hum Mutat 32: 1507-1509, 2011)。

<診療指針の構築>

診断	<p>新生児期、顔貌上の特徴 (大きい大泉門、眼間開離、小さく、眼瞼裂斜下、青色強膜、短い鼻、低形成の鼻柱、低位かつ後傾した耳介、高口蓋、長い人柱、薄い上口唇、小さい口、小さく後退した下顎)、骨格症状 (内転母指、内反足を含む多発関節拘縮) で疑い、CHST14 遺伝子解析を行う。</p> <p>診断時のスクリーニングとして、先天性心疾患、眼奇形、泌尿生殖器奇形、難聴の有無を評価する。</p>
乳幼児期	<p>内反足に対する整形外科的治療 (装具、手術)、運動発達遅滞に対する理学療法を行う。</p> <p>便秘に対して緩下剤投与、浣腸を行う。</p> <p>男児では停留精巣に対する固定術を行う。</p>
定期検診	<p>整形外科：足部変形、脊椎変形。</p> <p>眼科：斜視、屈折異常、緑内障。</p> <p>耳鼻科：滲出性中耳炎、難聴。</p> <p>泌尿器科：排尿障害、膀胱拡張。</p> <p>循環器科：弁の異常 (MVP などあれば、感染性心内膜炎の予防)、上行大動脈拡張。</p>
外傷対策	<p>転倒などの外傷により、皮膚裂傷、関節脱臼を生じやすい。</p> <p>巨大皮下血腫については、DDAVP 点鼻療法 (STIMATE™) が有効。</p>
思春期以降	<p>二次性徴の観察 (女性では乳房発育不全、男性では性腺機能低下の可能性)。</p>

	(血) 気胸、憩室穿孔に対する治療。
その他	皮膚の過敏性のため、採血時のゴム駆血、上腕での血圧測定が著しい苦痛を伴うので、配慮する(幅広いゴムや徒手的駆血、手首式血圧計)。

(Shimizu et al., *Am J Med Genet* 155A: 1949-1958, 2011; Koshi et al., *Hum Mutat* 32: 1507-1509, 2011; 古庄知己, *信州医学誌* 59: 305-319, 2011)

本症患者において2症例目の脊椎手術(進行性後側彎症に対する後方固定術)を経験した。椎骨は予想以上に硬度があり、予定どおりの処置ができたが、皮膚弛緩のため動脈ラインが体位変換に伴い、抜けてしまい、巨大皮下血腫を形成した。DDAVP 点鼻で血腫の急速な増大を予防することができた。術後4か月、別な合併症に対する手術中の圧迫で脊椎のロッド部に褥瘡ができ、ロッドを1本抜去することになった。

本症患者における下肢全体にわたる広範性皮膚壊死の治療を経験した。交通外傷後に股関節脱臼を来し、その整復後、左下肢全体に皮下血腫を形成し、虚血性の壊死に至った。これに対し、まず人工真皮・自家培養皮膚線維芽細胞移植を行い、二期的に自家分層網状皮膚および自家培養表皮シート(ジェイス™)移植を行った。その後、自家分層網状皮膚を追加し、受傷から8か月で退院となった。

<病態解明のための基礎的検討>

生化学分析

新規患者培養皮膚線維芽細胞において、CS 鎖は合成されていたが、DS 鎖は合成されていなかった。デコリン上の GAG 鎖においても DS が含まれていないことが確認された。

5人全員の尿において、CS 部分の二糖組成のみ検出され、DS 部分の二糖組成は全く検出されなかった。

病理学的分析

光顕分析: 患者では、健康人に比べて、表皮が波打っている、表皮直下のコラーゲン線維密度が低い、または、コラーゲン線維束が繊細である、という所見が見られた。

電顕分析 (Cupromeronic blue 染色): 本症候群患者において、真皮表層ではコラーゲン線維は細く、粗に配列する傾向にあった。コラーゲン細線維の配列に関与するデコリンの GAG 鎖 (Cupromeronic blue で染色される) は比較的長かった。真皮深層では太いコラーゲン細線維の束が密な網工を形成しており、デコリンの GAG 鎖は短かった。

抗デコリン抗体を用いた免疫組織化学分析: 光顕では、コントロールではコラーゲン線維束に不均一ながらべったりと抗デコリン抗体により染色されたが、患者ではコラーゲン線維束に filamentous に染色された。電顕では、コラーゲン細線維表面に金コロイド粒子が検出されたが、明らかな規則性、傾向を見出すことはできなかった。

発現解析

コントロールと比較して、発現が増加傾向にある遺伝子が5個、減少傾向にある遺伝子が1個見出されたが、統計学的に優位な遺伝子発現変動、pathway としての異常は検出されなかった。

iPS 細胞の樹立

iPS 細胞の樹立に成功し、現在、各種細胞系統への分化誘導を試みている。

ノックアウトマウスの作製

MMRRC を通じて、CHST14 のノックアウトマウスの作製に用いる凍結精子を入手した。現在、専門業者に一部作業を委託しながら、ノックアウトマウスの復元のための準備を始めている。

D. 考察

①血管型 EDS の実態調査に基づく診療指針の構築及び非侵襲的で高精度の遺伝子解析法の開発

合併症の状況は平成 21-22 年度の研究結果(遺伝カウンセリング学会雑誌 第 31 巻: 157-161, 2010)と同様の傾向であった。呼吸器系合併症(気胸、喀血)が初発症状となる場合が多く、若年者の反復性気胸や喀血の鑑別診断として本症候群を想起する必要があると考えられた。興味深い結果として、家族検索で見出された成人例は、無症状 2 人(59 歳、60 歳)、内反足術後と易出血性(54 歳)と重大な合併症を呈していなかった。本症候

群において同一家族内罹患者（変異を有する者）のなかで表現型の大きな幅があることが示された。

動脈合併症の治療に関する調査において、情報を入力しえた 28 人のうち 13 人が内科的治療（降圧剤投与）を受けていた。そのうち celiprolol の投与を受けていたのは 2 人のみであり、Ong らの画期的なランダム化比較試験の認知度が低いことがうかがえた（Ong *et al.*, *Lancet* 2010; 376: 1476-84.）。他にエビデンスがない現状では、確定診断された全例において celiprolol が投与され、その上で腎梗塞などで高血圧を呈する例では ARB などの併用を考慮するという治療戦略が妥当ではないかと考えられる。

14 人が侵襲的治療（血管内治療、外科的治療）を受けていた。脾動脈破裂・瘤に対する結紮術、腸管膜動脈破裂に対する手術は問題なく行われていたが、大動脈瘤に対する人工血管置換術ではトラブルがあった。頸動脈海綿静脈洞ろうに対する血管内治療は十分な効果は得られなかったが、大動脈分枝の塞栓術、大動脈や腸骨動脈のステント術は比較的安全で有効である可能性が考えられた。

以上から、本症候群の診療指針を下記のごとく提案する。

- ・ 若年者の動脈瘤・解離、腸管破裂にて（可能であれば、家族歴と呼吸器合併症からより若年で）本症候群を疑い、生化学分析および遺伝子解析で確定診断を行う。
- ・ 確定診断された全例において celiprolol の予防内服を考慮する。
- ・ 腎血管性高血圧などで降圧効果が得られにくい場合には、ARB などの併用を考慮する。
- ・ 内科的治療でコントロール困難な動脈病変に対しては、まず血管内治療の可能性を探る（大動脈分枝病変に対する塞栓療法や大動脈・腸骨動脈病変に対するステント療法など）。
- ・ 血管内治療にてもコントロール困難な動脈病変に対しては、慎重な準備のもと外科的治療を考慮する。

hrMCA 法を基盤とした末梢血由来ゲノム DNA を用いた COL3A1 遺伝子変異スクリーニング法の有

効性を検討してきた。これまで、本症におけるスプライス変異は 5'側に集中しており、これによりスプライス部位の消失が起こり、発症に至るというものであった。今回検出されたのは、intron の 3'側のスプラインス変異であり、これにより intron 上に新たなスプライス部位が生じるものであった。こうした変異では、mRNA からのスプライス異常の検証が必要であり、ゲノム DNA のみからの解析ではなく、ゲノム DNA および RNA 双方から解析アプローチができる体制を維持することが必要と考えられた。

②新型 EDS の疾患概念の確立と診療指針の構築及び病態解明のための基礎的検討

本症候群は、皮膚・関節の過伸展性、各種組織の脆弱性という EDS の中核症状を有することから、先天性多発関節拘縮症（arthrogryposis syndrome）ではなく、EDS との分類が妥当と考えられた。病因論的にも、進行性の結合組織脆弱性に関しては「D4ST1 欠損→デコリンに付加するグリコサミノグリカンの組成変化（デルマタン硫酸の消失）→デコリンが媒介するコラーゲン細線維の assembly 不全」といったコラーゲンの生合成異常と位置づけられ、EDS との分類が妥当と考えられた。以上から、我々は「D4ST1-deficient EDS (DD-EDS)」との疾患名を提案している（Kosho *et al.*, *Hum Mutat* 32: 1507-1509, 2011; 古庄知己, *信州医学誌* 59: 305-319, 2011）。

続々と新規症例が見出されており、比較的頻度の高い病型であると考えられる。EDS 班のこれまでの検討から、上記のように診療指針の骨格を構築することができた。また、今回、進行性後側彎症、巨大皮下血腫後の広範性皮膚壊死というきわめて深刻な合併症に対する治療経験をすることができた。脊椎固定手術それ自体は、椎骨の硬度が十分であったことから予想よりも順調に行われたが、術中の動脈ラインもれによる巨大皮下血腫や術後の褥瘡といった周辺の問題がより重大であり、注意が必要と考えられた。広範性皮膚壊死に対しては、保存的治療では罹患脚切断を避けられず、また感染による生命の危機でもあったため、準備しうる最善の治療を行った（人工真皮・自家培養皮膚線維芽細胞移植、自家分層網状皮膚および自家培養表皮シート（ジェイスTM）移植、自家分層網状皮膚）。結果として救命でき、脚切断も

回避できたので、一定の効果はあったと考えられる。今回のエピソードはあらためて、本症における巨大皮下血腫の重大さ、予防対策の重要性を示すものであった。愛護的対応をすることは言うまでもないが、DDAVP 点鼻による予防対策（輸入製剤であり、高額の患者負担を強いる）を全ての患者が受けられるようにすることが急務であると考えられた。DDAVP は、軽症の血友病 A、von Willebrand's 病において欧米で使用されており、凝固因子の放出を促すことによる止血効果が期待されているが、本症における止血効果は明らかに早期で劇的であり、異なる治療病態が推測された。例えば、動脈破裂後の血管収縮不全が大出血を来すとした場合、DDAVP による血管収縮効果が初期効果として機能している可能性が考えられた。

尿中の CS/DS 組成は、今回我々は世界に先駆けて見出した知見である。尿中 DS が消失し、CS のみ検出されたことは、全身のあらゆる臓器、細胞において D4ST1 欠損の影響が及ぼされていること、したがって、本症候群が全身性の DS 欠乏状態に基づくことを示している。このことは、DS がヒト発生および細胞外マトリックス維持にどのような役割を果たすのかを初めて示すモデル疾患とする Zhang らの提言を支持するものである (Zhang et al., *Prog Mol Biol Transl Sci* 93: 289-307, 2010)。さらに、非侵襲的なスクリーニング方法としても期待される。

本症候群の病理所見の解釈として、ATCS として本症候群の原因解明を行ったグループでは「正常」との解釈を示した (Dünder et al., *Am J Hum Genet* 85: 873-882, 2009)。我々は、光顕分析ではコラーゲン線維束が繊細に見える、電顕分析では 1 本 1 本のコラーゲン細線維の径は大小不同なく正常であるが、正常のようにパックされずにばらけて存在することを示した (Miyake et al., *Hum Mutat* 31: 966-974, 2010)。今回の光顕および電顕分析結果は、我々の分析結果の妥当性を示すものであった。また、今回、世界で初めて本症候群患者におけるデコリン GAG 鎖 (DS が消失し、全て CS に置換されている) を Cupromeronic blue 染色で直接観察することに成功した。コントロールが病型不明の EDS であったため、解釈は困難であるが、真皮表層と深層で、GAG 鎖の長さが異なることなどの所見を得た。今後患者検体と年齢、性別、採取部位をマッチさせた正常コントロールを入手し、分析を進めていく必要がある。

今回の研究において、患者由来 iPS 細胞の樹立に成功し、また、ノックアウトマウスの作製の準備段階に入ることができた。今後、iPS 細胞を本症候群患者において症状を呈する種々の細胞系裂に分化誘導させること、また、ノックアウトマウスの詳細な表現型、自然歴、病理所見を調査することにより、根治療法の評価に使用できる適切な疾患モデルを構築していくことが必要である。

E. 結論

血管型 EDS

これまでに 58 家系 66 人が生化学分析または遺伝子解析により確定診断された。合併症の状況は、平成 21-22 年度に行った本邦初の実態概要調査結果と同様、呼吸器症状を初発症状とすることが多かった。動脈合併症の治療に関しては、情報を収集しえた 28 人中、celiprolol を使用していたのはわずか 2 人であり、本治療法の本邦での認知度の低さがうかがえた。14 人が侵襲的治療を受けており、大動脈分枝に対する手術および血管内治療（塞栓術）、大動脈や腸骨動脈のステント術は問題なく実施されていた。我々が確立した、末梢血由来ゲノム DNA を用いた COL3A1 遺伝子変異スクリーニング法である hrMCA 法により、新たな家系において、新規スプライス変異を同定することができた。以上から、本症候群の診療指針としては、hrMCA 法を含めた解析法を駆使して早期生化学または遺伝子診断をした後、血管病変スクリーニングを行い、celiprolol 投与による動脈合併症の予防を行う。ハイリスク動脈病変に対しては、血管内治療の可能性を探り、血管内治療では対応できない進行性病変に対しては、慎重に手術を行う。

新型 EDS

平成 21-22 年度の活動において原因遺伝子を単離、疾患概念を確立した後、さらに症例が集積し、現在までに論文発表例および自験例を含め、24 家系 34 人となった（うち本邦患者は 16 家系 18 人）。これまでに報告された臨床的・基礎的データに基づき、「D4ST-1-deficient EDS」との疾患名を提案した。診療情報を詳細に検討し、縦断的な診療指針を作成した。新生児期、特徴的顔貌と骨格症状から疑い CHST14 遺伝子解析により確定診断する。乳幼児期、内反足などに対する整形外科治療や運動発達遅滞に対する理学療法などを考慮する。その後、眼科、耳鼻科、泌尿器科、循環器科を含め

た包括的な健康管理を行うとともに、巨大皮下血腫に対する DDAVP 点鼻療法などの外傷予防対策を行う。重度進行性の脊椎変形に対する手術を行う場合には、巨大皮下血腫の予防を含めた入念な準備が必要である。また、巨大皮下血腫後には広範性皮膚壊死を呈する危険性があり、この場合には、人工真皮、自家培養皮膚線維芽細胞、自家分層網状皮膚、自家培養表皮シート移植療法など様々な形成外科的治療を駆使する必要がある。さらなる病態解明につながる基礎的検討を行い、患者尿中の DS が消失していること、デコリン染色が患者と健康人では有意な違いがあることを世界で初めて明らかにした。さらに、将来の根治療法の開発へ向けた疾患モデルの構築のため、iPS 細胞を樹立し、ノックアウトマウスの作製に着手した。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Omori H, **Hatamochi A**, Koike M, Sato Y, **Kosho T**, Kitakado Y, Oe T, Mukai T, Hari Y, Takahashi Y, Takubo K. Sigmoid colon perforation induced by the vascular type of Ehlers-Danlos syndrome: report of a case. *Surg Today*. 2011 May;41(5):733-6.

Shimizu K, Okamoto N, **Miyake N**, Taira K, Sato Y, Matsuda K, Akimaru N, Ohashi H, Wakui K, **Fukushima Y**, **Matsumoto N**, **Kosho T** (equal contribution, corresponding author). 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 Part A*. 2011 Aug;155A(8):1949-58.

Wakabayashi Y, Yamazaki K, **Narumi Y**, Fuseya S,

Horigome M, Wakui K, **Fukushima Y**, Matsubara Y, Aoki Y, **Kosho T** (corresponding author). Implantable Cardioverter Defibrillator for Progressive Hypertrophic Cardiomyopathy in a Patient with LEOPARD Syndrome and a Novel *PTPN11* Mutation Gln510His. *Am J Med Genet Part A*. 2011 Oct;155A(10):2529-33.

Kosho T (corresponding author), **Miyake N**, Mizumoto S, **Hatamochi A**, **Fukushima Y**, Yamada S, Sugahara K, **Matsumoto N**. A response to: loss of dermatan-4-sulfotransferase 1 (D4ST1/CHST14) function represents the first dermatan sulfate biosynthesis defect, "dermatan sulfate-deficient Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome". Which name is appropriate, "Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome" or "Ehlers-Danlos syndrome"? *Hum Mutat*. 2011 Dec;32(12):1507-9.

Saitsu H, Igarashi N, Kato M, Okada I, **Kosho T**, Shimokawa O, Sasaki Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, **Miyake N**, Harada N, Hayasaka K, **Matsumoto N**. De novo 5q14.3 translocation 121.5-kb upstream of MEF2C in a patient with severe intellectual disability and early-onset epileptic encephalopathy. *Am J Med Genet A*. 2011 Nov;155A(11):2879-84.

Narumi Y, Shiohara M, Wakui K, Hama A, Kojima S, Yoshikawa K, Amano Y, **Kosho T**, Fukushima Y. Myelodysplastic syndrome in a child with 15q24 deletion syndrome. *Am J Med Genet A*. 2012 Feb;158A(2):412-6.

古庄知己. デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 欠損に基づく新型エーラスダンロス症候群の発見と疾患概念の確立. 信州医学雑誌

59(5) : 305-319, 2011.

緒方健一, 工藤啓介, 土居浩一, 大地哲史, 牧野公治, 籀持淳. 短期間に大腸穿孔性腹膜炎を2回起こした血管型 Ehlers-Danlos 症候群の1例. 日本臨床外科学会雑誌 72 : 1882-1886, 2011

松尾沙緒里, 横田雅史, 國井英治, 籀持淳. 咯血と気胸を繰り返した血管型 Ehlers-Danlos 症候群 (EDS) の1例. 臨床皮膚科 65 : 403-406, 2011

森崎裕子, 吉田晶子, 森崎隆幸「稀少遺伝性循環器疾患に対する包括的医療体制」日本遺伝カウンセリング学会雑誌 2012 (in press)

古庄知己. Ehlers-Danlos 症候群の臨床・疫学. 特集「Weak connective tissue disease の肺病変」日本胸部臨床 70 巻4号 : 329-337, 2011 (4月)

古庄知己. 保因者診断とその進め方. 遺伝子医学 MOOK 別冊「遺伝カウンセリングハンドブック」(編集: 福嶋義光, 編集協力: 山内泰子, 安藤記子, 四元淳子, 河村理恵), メディカルドゥー (大阪), 70-71, 2011. 7月.

古庄知己. 検査実施の妥当性 (カンファレンスと倫理委員会). 遺伝子医学 MOOK 別冊「遺伝カウンセリングハンドブック」(編集: 福嶋義光, 編集協力: 山内泰子, 安藤記子, 四元淳子, 河村理恵), メディカルドゥー (大阪), 162-163, 2011. 7月.

古庄知己. 健康管理 (遺伝カウンセリングから地域の医療や福祉へ). 遺伝子医学 MOOK 別冊「遺伝カウンセリングハンドブック」(編集: 福嶋義光, 編集協力: 山内泰子, 安藤記子, 四元淳子, 河村理恵), メディカルドゥー

ー (大阪), 204-205, 2011. 7月.

古庄知己. 遺伝カウンセリング. 周産期医学必修知識第7版, 『周産期医学』編集委員会編, 41 巻増刊号, 971-972, 2011.

古庄知己. 18 トリソミー症候群. 今日の小児治療指針 15 版 (総編集: 大関武彦, 古川漸, 横田俊一郎, 水口雅), 医学書院 (東京), 180-181, 2012 (2月)

古庄知己. Ehlers-Danlos 症候群. 今日の小児治療指針 15 版 (総編集: 大関武彦, 古川漸, 横田俊一郎, 水口雅), 医学書院 (東京), 186, 2012 (2月)

籀持淳. Ehlers-Danlos 症候群. 皮膚疾患診療実践ガイド, 宮地良樹, 古川福実編, pp755-756 文光堂 東京 2011

籀持淳. その他の皮膚形成異常. 皮膚疾患診療実践ガイド, 宮地良樹, 古川福実編, pp757-758 文光堂 東京 2011

籀持淳. Marfan 症候群. 今日の皮膚疾患治療指針, 塩原哲夫他編, pp545 医学書院 東京 2011

籀持淳. その他の皮膚形成異常症. 今日の皮膚疾患治療指針, 塩原哲夫他編, pp546-548 医学書院 東京 2011

籀持淳. 皮膚形成異常症の遺伝相談. 今日の皮膚疾患治療指針, 塩原哲夫他編, pp981-983 医学書院 東京 2011

渡邊淳, 島田隆 : Ehlers-Danlos 症候群の基礎. 日本胸部臨床 70: 319-328, 2011

森崎裕子, 森崎隆幸「エーラスダンロス症候群」臨床雑誌内科 2012 (in press)

2. 学会発表

古庄知己¹⁾、三宅紀子²⁾、水本秀二³⁾、籠持淳⁴⁾、高橋淳⁵⁾、鳴海洋子¹⁾、福嶋義光¹⁾、菅原一幸³⁾、松本直通²⁾ . 1) 信州大学医学部附属病院遺伝子診療部 2) 横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学 3) 北海道大学大学院先端生命科学研究所・生命科学院・生命情報分子科学コース・細胞膜分子科学分野プロテオグリカンシグナリング医療応用研究室 4) 獨協医科大学皮膚科 5) 信州大学医学部運動機能学講座. デルマタン 4-O 硫酸基転移酵素欠損に基づく新型エーラスダンロス症候群. 第 3 回 日本小児科学会長野地方会 (平成 23 年 6 月 5 日 於 長野県佐久勤労者福祉センター, 佐久)

古庄知己、鳴海洋子、関島良樹、福嶋義光、水内麻子、山下浩美、玉井真理子、櫻井晃洋 (信州大学医学部附属病院遺伝子診療部)、渡邊淳 (日本医科大学付属病院 遺伝診療科・ゲノム先端医療部). 下肢の痙性で発症、広汎性発達障害を伴い急速進行性の経過をたどる重症関節型エーラスダンロス症候群. 第 35 回日本遺伝カウンセリング学会 (遺伝医学合同学術集会) (平成 23 年 6 月 16-19 於 京都大学、京都)

古庄知己¹⁾、鳴海洋子¹⁾、三宅紀子²⁾、関島良樹¹⁾、渡邊淳³⁾、松本直通²⁾、福嶋義光¹⁾. 1) 信州大学医学部附属病院 遺伝子診療部、2) 横浜市立大学大学院医学研究科 遺伝学、3) 日本医科大学付属病院 遺伝診療科・ゲノム先端医療部. 下肢の痙性で発症、発達障害を伴い急速進行性の経過をたどる重症関節型エーラスダンロス症候群. 第 34 回日本小児遺伝学会学術集会 (平成 23 年 8 月 11 日 於 パシフィコ横浜、横浜)

古庄知己¹⁾ 水内麻子¹⁾ 鳴海洋子¹⁾ 玉井真理子¹⁾

山下浩美¹⁾ 涌井敬子¹⁾ 高津亜希子²⁾ 田中恭子²⁾ 菊地範彦²⁾ 大平哲史²⁾ 岡賢二²⁾ 塩沢丹里²⁾ 金井誠³⁾ 福嶋義光¹⁾. 1) 信州大学医学部附属病院遺伝子診療部, 2) 産科婦人科学, 3) 保健学科小児・母性看護学. 出生前遺伝カウンセリングを起点とする遺伝性疾患のフォローアップ. 第 13 回遺伝性疾患に関する甲信越・北陸出生前診断研究会 (平成 23 年 10 月 1 日 於 信州大学医学部附属病院遺伝子診療部、松本)

古庄知己^{1,2)}、鳴海洋子^{1,2)}、関島良樹¹⁾、坂本明之³⁾、成田信代⁴⁾、高橋淳⁴⁾、加藤博之⁴⁾、渡邊淳⁵⁻⁷⁾、三宅紀子⁸⁾、松本直通⁸⁾、福嶋義光^{1,2)}. 1) 信州大学 医学部附属病院遺伝子診療部 2) 信州大学 医学部 遺伝医学・予防医学講座 3) 信州大学 医学部 麻酔蘇生学講座 4) 信州大学 医学部 運動機能学講座 5) 日本医科大学付属病院 遺伝診療科・ゲノム先端医療部 6) 日本医科大学 生化学・分子生物学 7) 日本医科大学大学院医学研究科 分子遺伝医学専攻 8) 横浜市立大学 大学院医学研究科 遺伝学. 下肢の痙性、発達障害を伴い急速進行性の経過をたどる重症関節型エーラスダンロス症候群. 日本人類遺伝学会第 56 回大会 (平成 23 年 11 月 9 日～12 日 於 幕張メッセ、千葉)

嶋岡弥生、林 周次郎、濱崎洋一郎、籠持淳、照井慶太: 血管型 Ehlers-Danlos 症候群の 1 例. 第 74 回日本皮膚科学会 栃木地方会, 2011, 9 壬生

渡邊淳. 遺伝子診療の現場では-遺伝情報を医療現場で適切に扱うには 今, 臨床の現場で起こりつつあること. 第 3 回遺伝医学夏期集中セミナー (平成 23 年 7 月, 於 東京大学医科学研究所)

升野光雄, 渡邊淳, 藤本 亘, 二宮伸介, 上田恭典, 近藤英生, 山内泰子, 尾内一信, 黒木良和. COL3A1 遺伝子新規ミスセンス変異による血管型 Ehlers-Danlos 症候群の一例. 日本人類遺伝学会 第56回大会 (平成23年11月, 於幕張メッセ)

Banyar Than Naing, 渡邊淳, 佐々木 元子, 坪 宏一, 小齊平 聖治, 弦間 昭彦, 島田 隆. イントロンの塩基置換から新規スプライシングを来した血管型 Ehlers-Danlos 症候群の1例. 日本人類遺伝学会 第56回大会 (平成23年11月, 於幕張メッセ)

森崎裕子, 吉田晶子, 森崎隆幸「稀少遺伝性循環器疾患に対する包括的医療体制と遺伝カウンセリング」第35回日本遺伝カウンセリング学会 (遺伝医学合同学術集会) (平成23年6月16-19日 於 京都大学、京都)

招待講演「エーラスダンロス症候群研究班」 古庄知己 遺伝性結合織病 市民公開セミナー in 東京 (平成23年11月20日 於 日本医科大学教育棟, 東京)

招待講演「過剰運動<hypermobility>症候群研究班」 渡邊淳 遺伝性結合織病 市民公開セミナー in 東京 (平成23年11月20日 於 日本医科大学教育棟, 東京)

招待講演「ロイス・ディーツ症候群研究班」 森崎裕子 遺伝性結合織病 市民公開セミナー in 東京 (平成23年11月20日 於 日本医科大学教育棟, 東京)

招待講演「エーラスダンロス症候群研究班」 古庄知己 遺伝性結合織病 市民公開セミナー in 大阪 (平成23年12月10日 於 大阪府医師協同組合 大ホール, 大阪)

招待講演「過剰運動<hypermobility>症候群研究班」 渡邊淳 遺伝性結合織病 市民公開セミナー in 大阪 (平成23年12月10日 於 大阪府医師協同組合 大ホール, 大阪)

招待講演「ロイス・ディーツ症候群研究班」 森崎裕子 遺伝性結合織病 市民公開セミナー in 大阪 (平成23年12月10日 於 大阪府医師協同組合 大ホール, 大阪)

招待講演「ジストロフィン異常症児および家族への早期介入の試み」 古庄知己. 第17回信州遺伝子診療研究会 (平成24年1月20日 於 信州大学医学部第1臨床講堂, 松本)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特願 2011-247457 才津浩智/松本直通・孔脳症および周産期脳出血の検出方法・平成23年11月11日

特願 2011-226488・才津浩智/松本直通・び慢性大脳白質形成不全症の検出方法・平成23年10月14日

特願 2011-136277・松本直通/土井宏・常染色体劣性遺伝性脊髄小脳変性症の検出方法・横浜市立大学・平成23年6月20日

表1. Ehlers-Danlos症候群の分類

	頻度/患者数	遺伝形式	原因遺伝子
大病型			
古典型 (Classical type)	1/20,000	AD	<i>COL5A1, COL5A2</i>
関節可動性亢進型 (Hypermobility type)	1/5,000~20,000	AD	大多数は不明 少数例で <i>TNXB</i>
血管型 (Vascular type)	1/50,000~250,000	AD	<i>COL3A1</i>
後側彎型 (Kyphoscoliosis type)	1/100,000	AR	<i>PLOD</i>
多発関節弛緩型 (Arthrochalasia type)	約30人	AD	<i>COL1A1*, COL1A2*</i>
皮膚脆弱型 (Dermatosparaxis type)	8人	AR	<i>ADAMTS-2</i>
その他の病型			
Brittle cornea syndrome	11人	AR	<i>ZNF469</i>
EDS-like syndrome due to tenascin-XB deficiency	10人	AR	<i>TNXB</i>
Progeroid form	3人	AR	<i>B4GALT7</i>
Cardiac valvular form	4人	AR	<i>COL1A2</i>
EDS-like spondylocheirodysplasia	8人	AR	<i>SLC39A13</i>
Kosho Type (D4ST-1-deficient EDS)	22人	AR	<i>CHST14</i>

AD:常染色体優性遺伝, AR:常染色体劣性遺伝

COL5A1: V型プロコラーゲン α 1鎖遺伝子, *COL5A2*: V型プロコラーゲン α 2鎖遺伝子, *TNXB*: テナシンX遺伝子

PLOD: リジルヒドロキシラーゼ遺伝子, *: スプライス異常によるエクソン6のスキップ

ADAMTS-2: プロコラーゲン I N-プロテイナーゼ遺伝子, *ZNF469*: コラーゲン生合成・組織化に関わる転写因子の遺伝子

B4GALT7: β 4ガラクトース転移酵素-7 (GalT- I) 遺伝子, *SLC39A13*: 亜鉛トランスポーター機能を持つタンパクの遺伝子

CHST14: デルマタン4-O-硫酸基転移酵素 (D4ST-1) 遺伝子