

201128217A

間葉性異形成胎盤の臨床的・分子遺伝学的診断法の
開発を目指した基盤研究

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

平成23年度 総括・分担研究報告書

平成 24 (2012) 年 3 月

研究代表者：副 島 英 伸

佐賀大学医学部分子生命科学講座・教授

目 次

I. 総括研究報告書-----	1
間葉性異形成胎盤の臨床的・分子遺伝学的診断法の 開発を目指した基盤研究-----	2
副島英伸（佐賀大学医学部分子生命科学講座・教授）	
II. 分担研究報告書-----	8
間葉性異形成胎盤の臨床的・病理学的解析-----	9
研究分担者	
片渕 秀隆（熊本大学大学院生命科学研究部・産科婦人科学・教授）	
大場 隆（熊本大学大学院生命科学研究部・産科婦人科学・准教授）	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	13
IV. 研究成果の刊行物・別冊 -----	16

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

間葉性異形成胎盤の臨床的・分子遺伝学的診断法の開発を目指した基盤研究

研究代表者：副島英伸
佐賀大学医学部分子生命科学講座
分子遺伝学・エピジェネティクス分野 教授

研究要旨

間葉性異形成胎盤(placental mesenchymal dysplasia, PMD)は、超音波断層法にて胎盤の嚢胞状変化を呈するが、組織学的にはトロホブラストの異常増殖を認めない形態異常である。早産、胎児発育不全、胎児死亡を高率に合併するほか、奇胎妊娠と診断されると無用の人工流産を招く。本研究では、網羅的ゲノム・エピゲノム解析を行うことにより、原因遺伝子を同定し、臨床的診断と分子遺伝学的診断開発のための基盤確立を目的とした。ゲノム解析では、ゲノムワイド patUPD が PMD 発生に関与することが示唆されたが、原因とまでは断定できなかった。一方、エピゲノム解析でメチル化異常を示す有力候補遺伝子 15 個を見いだした。今後の症例解析を行うことにより原因遺伝子を同定できる可能性が高いと考えられた。

研究分担者

1. 片渕 秀隆
熊本大学大学院生命科学研究部・産科婦人科学・教授
2. 大場 隆
熊本大学大学院生命科学研究部・産科婦人科学・准教授

A. 研究目的

1. はじめに

胞状奇胎とは妊娠初期に起こる異常妊娠の一つで、栄養膜細胞の異常増殖と間質の浮腫により絨毛の水腫化を来す疾患と定義される。ほぼ全ての絨毛が嚢胞化し胎児成分のない全胞状奇胎と、正常絨毛や胎児成分を伴う部分胞状奇胎に分類され、全胞状奇胎の頻度は1000 妊娠に1 ないし2 例とされる。胞状奇胎に特異的な症状はなく、無月経に続発する不正性器出血、妊娠悪阻を正常妊娠よりも

高頻度に見る程度で、検査所見としてはヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) の異常高値と超音波断層法における子宮内腔の多数の小嚢胞 (multivesicular pattern) を特徴とする。治療は胞状奇胎組織の除去で、術後に1-2%の確率で続発する絨毛癌を早期発見するため数年にわたる hCG 値の追跡を要する。

全胞状奇胎は胎嚢を欠くため、画像診断により正常妊娠でないことを確定するのは容易である。いっぽう部分胞状奇胎では胎芽/胎児成分を認めることが多い。すなわち子宮内に胎嚢、卵黄嚢、次いで胎芽が観察され、正常妊娠として経過観察が開始されたのちに絨毛の嚢胞化が観察され、三倍体である胎児が発育を止めるに及んで部分胞状奇胎が疑われるのが一般的な臨床経過である。

妊娠中期以降も胎児が生存し、絨毛が multivesicular pattern を呈する場合には胎児共存奇胎や間葉性異形成胎盤(placental

mesenchymal dysplasia, PMD) との鑑別を要する。

胎児共存奇胎は正常な胚と全胞状奇胎の二卵性双胎であり、胎児は正常に発育するが妊娠を継続しても妊娠高血圧症候群を合併する危険が高く早産に至ることが多い。さらに約50%の症例は絨毛性疾患を続発するため、胎児共存奇胎の取り扱いには慎重な対応が求められる。画像診断、とくにMRIによって正常絨毛領域と multivesicle な絨毛の領域が明瞭に区別されることは診断の手がかりとなる。

PMD は、超音波断層法にて胎盤の嚢胞状変化を呈し、組織学的に胞状奇胎とは異なる胎盤の形態異常として知られているが未だ明確な診断基準はない。以前から経験的に「巨大な胎盤」があることがわかっていたが、その殆どは梅毒感染に関係づけられていた。1990年代に入って、「超音波断層法にて胎盤の嚢胞状変化を呈し、組織学的に胞状奇胎とは異なる胎盤の形態異常」が報告されはじめた。2007年までの内外における PMD の症例報告は約70例だが、じっさいの頻度は4,000-5,000妊娠に1例と推定されている。超音波断層法では胎児と共に肥厚した胎盤が認められ、その実質内に大小不整な嚢胞や管腔様構造を呈し、胎児共存奇胎や部分胞状奇胎との鑑別を要する。胎盤の肉眼所見も部分胞状奇胎に類似する場合があるが、水腫様の絨毛には血管がありトロホプラストの異常な増殖はない。蛇行した絨毛血管内に間葉系細胞の増生があり多発性の血栓がみられる。

PMD では、胎児発育不全(20%)、子宮内胎児死亡(30%)のリスクが高いことが知られており、NICUを有する施設での分娩管理を要することが多い。しかし適切な対応を行えば部分胞状奇胎とは異なり健児を得ることが期待できる病態である。妊娠初期に部分胞状奇胎、あるいは胎児共存奇胎と誤診されて人工流産を選択される危険をへらすためには、何よりもまず PMD という病態が存在することをひろく産婦人科の医師に啓発する必要がある。

近年、生殖補助医療 (ART) が Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS) をはじめとするインプリンティング異常症のリスクを増大させている可能性が指摘されている。これが最近 PMD の症例報告が増加していることと関連しているのかもしれないが、2010年に熊本市で開催された第18回日本胎盤学会のワークショップにおいて、PMD の発生には ART よりもむしろ母体年齢が強く関与していることが示唆された。PMD の発症因子については今後の大規模な前向き調査で検討される必要がある。さらに同ワークショップでは、PMD の嚢胞や管腔様構造は妊娠経過と共に目立たなくなることが指摘された。妊娠中の超音波断層法スクリーニングがなく、PMD の疾患概念が普及していなかった時代には、原因不明の巨大胎盤として PMD の診断に至らなかった症例が相当数あるのではないかと推定される。

2. 研究目的

PMD は、新しい概念の疾患で、臨床診断基準も確立されておらず、発生原因も不明である。高率に早産、胎児発育不全や胎児死亡に至ることが知られているほか、奇胎妊娠と診断されると無用の人工流産を招くため、診断基準と遺伝子診断法の確立は重要である。20%がインプリンティング疾患である Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS) を合併するため、ゲノム異常のみならずエピジェネティックな異常が原因となっている可能性が高い。本研究では、系統的臨床病理学的解析および網羅的ゲノム・エピゲノム解析を行うことにより、原因遺伝子を同定し、臨床的診断と分子遺伝学的診断開発のための基盤確立を目的とした。本研究により、妊娠中の生体サンプルを用いた遺伝子診断法の開発、人工流産の回避、胎児発育のリスクを考慮した妊娠管理が可能になり、PMD 合併妊娠の出生率ならびに児の長期神経学的予後の向上が期待できる。少子化社会において重要な社会的意義をもつ研究である。

B. 研究方法

1. 症例収集と臨床像解析

2000年から2010年の間に論文あるいは学会報告された国内症例について文献検索を行い、検体供与を依頼した。12例の検体を収集した。

2. ゲノム解析

1) 11p15のSTR解析

解析可能なDNAを抽出できた12例（凍結組織4例、ホルマリン固定組織（FFPE）8例）を対象とした。このうち8例はPMD単独例で、4例はBWS合併PMDであった。BWS合併例は児の末梢血DNAも解析した。BWSの責任領域である11番染色体短腕（11p15）のShort tandem repeat（STR）マーカー（*D11S1997*, *D11S2362*, *HUMTH01*, *D11S1984*）を用いて父性片親性ダイソミー（patUPD）の有無を解析した。

2) 全ゲノムSNP解析

凍結組織3例のDNAを用いてAffymetrix社SNPアレイ6.0で全ゲノムのSNP解析を行った。

3) エクソーム解析

「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業」の一般研究班長崎大学吉浦教授との共同研究で、凍結組織4例の解析に着手した。

4. エピゲノム解析

1) *CDKN1C*のメチル化解析

BWSの原因遺伝子の一つである*CDKN1C*のプロモーターのメチル化解析をCOBRA法にて行った。

2) MIAMI法

凍結組織4例のDNAを用いた。群馬大学生体調節研究所畑田教授の協力の下、正常胎盤5例をコントロールとして、16,000個の遺伝子プロモーターをカバーする約58,000のプロープについて、そのメチル化状態を解析した。

3) HumanMethylation450 BeadChip

同じく凍結組織4例を用いた。東京大学先端科学技術研究センター油谷教授の協力の下、正常胎盤3例をコントロールとして、RefSeq

に登録されている遺伝子の99%をカバーする約45万個のCpG部位のメチル化を定量的に解析した。

（倫理面への配慮）

本研究は、佐賀大学医学部倫理委員会、佐賀大学医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会、熊本大学大学院生命科学研究部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会の承認を受けて実施した。

C. 研究結果

1. ゲノム解析

1) 11p15のSTR解析

解析に用いた症例は12例で、11例から肉眼的・組織学的に正常部とPMD部を区別してDNAを抽出した。1例は両組織が混在しており区別不能であった。12例全例において、胎盤（正常部、PMD部）あるいは児の末梢血でpatUPDモザイクを認めた。4例では、正常部（あるいは児の末梢血）はpatUPDモザイクであったが、PMD部は両親性アレルを1コピーずつ持つbiparentalであった。逆に、2例では正常部でbiparental、PMD部でpatUPDモザイクを示した。正常部とPMD部ともにpatUPDモザイク示した3例では、2例でPMD部のモザイク率のほうが高く、1例で正常部のモザイク率のほうが高かった。別の1例では、末梢血でbiparentalだったが、胎盤のPMD部でpatUPD、正常部でmatUPDを示した。この症例の胎盤での結果の相違については、FFPE由来DNAであることに起因する可能性がある。

2) 全ゲノムSNP解析

凍結組織からDNAを抽出できた3例（PMD-001, PMD-002, bwsh21-022）をSNPアレイ6.0で解析した。2例（PMD-001, PMD-002）の正常胎盤でゲノムワイドpatUPD（全染色体がpatUPD）のモザイクを示し、PMD部においては3例とも全染色体領域でbiparentalを示した。bwsh21-022の末梢血では11番短腕と長腕の一部がpatUPDであったが、PMD部位ではbiparentalであった。

bwsh21-002 の末梢血でもゲノムワイド patUPD モザイクを認めた。

3) エクソーム解析

現在解析中である。

2. エピゲノム解析

1) *CDKN1C* のメチル化解析

CDKN1C の免疫染色において絨毛間質細胞で陰性（細胞性栄養膜細胞層では陽性）を呈したため（研究分担報告書参照）、絨毛間質細胞での発現が遺伝子プロモーターの異常メチル化では抑制されている可能性が考えられた。そこで7例について *CDKN1C* のプロモーターのメチル化を解析したが、明らかなメチル化異常は認めなかった。

2) MIAMI 法

patUPD 部位の DNA を用いるとインプリンティング領域のメチル化にバイアスがかかることになる。これを防ぐために4例（PMD-001, PMD-002, PMD-003, bwsh21-022）の biparental な DNA を用いた。正常胎盤5例（正常コントロール）とのメチル化状態を比較したところ、PMD4例すべてで高メチル化を示す遺伝子を1個、いずれか3例で高メチル化を示す遺伝子を7個、いずれか2例で高メチル化を示す遺伝子を20個、いずれか1例で高メチル化を示す遺伝子を208個、同定した。低メチル化を示す遺伝子は見いだせなかった。

3) HumanMethylation450 BeadChip

MIAMI 法と同様に biparental な4例の DNA を用いた。正常コントロールとして正常胎盤を3例用いた。PMD メチル化差異スコア100以上の高メチル化を示す遺伝子を13個、低メチル化を示す遺伝子を21個同定した。このうち、高メチル化遺伝子3個、低メチル化遺伝子4個については、一定の DNA 領域内で連続的に CpG 部位のメチル化が変化しており有力な候補遺伝子と考えられた。

D. 考察

1. ゲノム解析

ホルマリン固定組織由来の DNA は品質が悪

く再現性に乏しいという問題があるが、解析可能であった全例のいずれかの組織で patUPD を認めた。しかし、PMD 部で必ずしも patUPD を認めるわけではなく、PMD 部で biparental、正常部で patUPD を示す症例が存在した。SNP アレイ解析を行った症例ではゲノムワイド patUPD モザイクを見出したが、ゲノムワイド patUPD モザイクは PMD 部でなく正常部あるいは末梢血で認められた。胞状奇胎は雄核発生で生じることから、組織学的所見や超音波所見に類似点のある PMD でもゲノムワイド patUPD モザイク（雄核発生細胞のモザイク）がその発生に関与することが疑われる。具体的には、インプリンティングの異常や父由来劣性遺伝子の変異のホモ接合などである。しかしながら、必ずしも PMD 部位でゲノムワイド patUPD モザイクが認められるわけではないことから、PMD 発生との関連を断定するには至らない。現在、エクソーム解析を開始しており、遺伝子変異の同定を期待している。

2. エピゲノム解析

ゲノムワイド patUPD モザイクが PMD の原因と断定できないことから、biparental な PMD 症例4例の DNA を用いて異なる二つの方法でエピゲノム解析を行った。その結果、MIAMI 法で4例中3例以上で高メチル化を示す遺伝子を8個同定した。さらに、HumanMethylation450 BeadChip では、高メチル化遺伝子3個、低メチル化遺伝子4個を同定した。これらの遺伝子は、お互いに重複していなかったが、解析原理やプローブ設定部位の違いが原因と考えられる。しかしながら、エピゲノム解析で同定したこれら計15個の遺伝子は、再現性をもってメチル化異常を認めることを確認しており、有力な候補遺伝子である。残りの症例および今後収集する症例で、これら候補遺伝子のメチル化異常を解析することにより原因遺伝子を同定できる可能性は高いと考えられる。

原因遺伝子を同定できれば、妊娠中の生体サンプルを用いた遺伝子診断法の開発が可能

となり、疾患概念も周知できる。その結果、人工流産の回避、胎児発育のリスクを考慮した妊娠管理が可能になり、ひいては PMD 合併妊娠の出生率ならびに児の長期神経学的予後の向上が期待できる。

E. 結論

ゲノム解析では、ゲノムワイド patUPD が PMD 発生に関与することが示唆されたが、原因とは断定できなかった。しかし、エピゲノム解析でメチル化異常を示す有力候補遺伝子を見いだしたため、今後の症例解析を行うことにより原因遺伝子を同定できる可能性が高いと考えられた。さらに、現在進行中のエクソーム解析の結果をあわせることにより、これまで全く原因不明であった PMD 原因遺伝子を世界で初めて同定することが期待できる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Higashimoto K, Nakabayashi K, Yatsuki H, Yoshinaga H, Jozaki K, Okada J, Watanabe Y, Aoki A, Shiozaki A, Saito S, Koide K, Mukai T, Hata K, Soejima H. Aberrant methylation of H19-DMR acquired after implantation was dissimilar in soma versus placenta of patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Am J Med Genet Part A*, in press
- 2) Aoki A, Shiozaki A, Sameshima A, Higashimoto K, Soejima H, Saito S. Beckwith-Wiedemann Syndrome with Placental Chorangioma due to H19-DMR Hypermethylation: A Case Report. *J Obstet Gynaecol Res*, 37(12):1872-1876, 2011
- 3) Sato S, Yoshida W, Soejima H, Nakabayashi K, Hata K. Methylation dynamics of IG-DMR and Gtl2-DMR during murine embryonic and placental development. *Genomics*, 2011, 98(2):120-127.

- 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. Methylation screening of reciprocal genome-wide UPDs identifies novel human specific imprinted genes. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(16):3188-3197.
 - 5) Nagae G, Isagawa T, Shiraki N, Fujita T, Yamamoto S, Tsutsumi S, Nonaka A, Yoshiba S, Matsusaka K, Midorikawa Y, Ishikawa S, Soejima H, Fukayama M, Suemori H, Nakatsuji N, Kume S, Aburatani H. Tissue-specific demethylation in CpG-poor promoters during cellular differentiation. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(14):2710-2721.
 - 6) 副島英伸. ベックウィズ・ヴィーデマン症候群 第 XIV 章 先天異常・奇形 症候群ハンドブック. 井村裕夫総編集, 福井次矢・辻省次編集. 中山書店. 東京. P679, 2011
 - 7) 副島英伸. シルバー・ラッセル症候群 第 XIV 章 先天異常・奇形 症候群ハンドブック. 井村裕夫総編集, 福井次矢・辻省次編集. 中山書店. 東京. P685, 2011
- ##### 2. 学会発表
- 1) Tayama C, Trujillo AM, Lapunzina P, Ogata T, Soejima H, Hata K, Monk D, Nakabayashi K. Methylation screening of reciprocal genome-wide UPDs identifies novel human specific imprinted genes. 第 34 回日本分子生物学会年会 2011.12.13-16. 横浜
 - 2) Higashimoto K, Miyazaki H, Yada Y, Komori T, Matsuda M, Koseki Y, Nakayama M, Soejima H, Handa H, Koseki H, Hirose S, Nishioka K. Role of Histone H3 Lys36 methylation by Ash1l triggers a regulatory cascade of the chromatin reprogramming that counteracts Polycomb silencing. 第 34 回日

- 本分子生物学会年会 2011.12.13-16. 横浜
- 3) Soejima H, Nakabayashi K, Yatsuki H, Jozaki K, Hata K, Higashimoto K. Aberrant methylation of H19-DMR acquired after implantation was dissimilar in soma versus placenta of patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. 第34回日本分子生物学会年会 2011.12.13-16. 横浜
 - 4) Soejima H. Clinical features and genome/epigenome analyses of Japanese patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. The 9th Korean PWS Symposium. 2011.9.27. Seoul, Korea
 - 5) 岡島 翠、大場 隆、片渕秀隆、東元 健、副島英伸. 本邦における間葉性異形成胎盤の臨床像. 第18回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会 2010.10.1. 佐賀
 - 6) Soejima H, Nakabayashi K, Yatsuki H, Jozaki K, Hata K, Higashimoto K. Acquisition of aberrant hypermethylation after implantation induces discordant hypermethylation at H19-DMR between bodies and placentas in Beckwith-Wiedemann syndrome patients. Idibell Cancer Conferences on Imprinting and Beyond; “Mono-allelic expression in Health and Disease”, 2011.9.21-23, Barcelona, Spain
 - 7) 岡田純一郎、東元 健、八木ひとみ、芳野信、副島英伸、渡邊順子. $p57^{KIP2}$ (KIP2) の遺伝子変異を認めた Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS) の一例. 第34回日本小児遺伝学会学術集会 2011.8.11. 横浜
 - 8) 三好潤也、岡島 翠、松尾勇児、坂口 勲、大場 隆、片渕秀隆、東元 健、副島英伸. Beckwith-Wiedemann 症候群に間葉性異形成胎盤を合併し、両者のインプリンティング異常に乖離を呈した1例. 第19回日本胎盤学会学術集会. 2011.9.30-10.1. 東京
 - 9) 副島英伸、城崎幸介、八木ひとみ、前田寿幸、大塚泰史、東元 健. 本邦 Beckwith-Wiedemann 症候群の臨床像とゲノム・エピゲノム解析. 遺伝医学合同学術集会 2011. 2011.6.16-19. 京都
 - 10) 三好潤也、坂口 勲、大場 隆、片渕秀隆、副島英伸、東元 健. Beckwith-Wiedemann 症候群に間葉性異形成胎盤を合併し、両者のインプリンティング異常に乖離を呈した1例. 遺伝医学合同学術集会 2011. 2011.6.16-19. 京都
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得：なし
 2. 実用新案登録：なし
 3. その他：なし

II. 分担研究報告書

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

間葉性異形成胎盤の臨床的・病理学的解析

研究分担者：片淵秀隆
熊本大学大学院医学薬学研究部産婦人科学 教授

研究分担者：大場 隆
熊本大学大学院医学薬学研究部産婦人科学 准教授

研究要旨

間葉性異形成胎盤(placental mesenchymal dysplasia, PMD)は、超音波断層法にて胎盤の嚢胞状変化を呈するが、組織学的にはトロホブラストの異常増殖を認めない形態異常である。早産、胎児発育不全、胎児死亡を高率に合併するほか、奇胎妊娠と診断されると無用の人工流産を招く。本研究では、系統的臨床病理学的解析および網羅的ゲノム・エピゲノム解析を行うことにより、原因遺伝子を同定し、臨床的診断と分子遺伝学的診断開発のための基盤確立を目的とした。収集した 24 例の系統的臨床病理学的解析から、臨床的特徴を明らかにした。特に、女兒に多く、早産、胎児発育不全、胎児死亡、Beckwith-Wiedemann 症候群との関連が強いこと、胎盤胎児重量比が PMD の指標になる可能性があることがわかった。

A. 研究目的

間葉性異形成胎盤(placental mesenchymal dysplasia, PMD)は、1991年にMoscoso et al.により初めて報告された胎盤の構築異常で、発生頻度は0.02%のまれである。絨毛の水腫化と血管の拡張を特徴とし、妊娠中期に胞状奇胎に酷似した超音波像を呈し、部分胞状奇胎・胎児共存奇胎との鑑別が困難である。組織学的には胞状奇胎と異なりトロホブラストの異常増殖を認めない母体合併症はないが、IUGR、IUFDのほか20%の児にBeckwith-Wiedemann症候群(BWS)が発症すると報告されている。本研究では、系統的臨床病理学的解析および網羅的ゲノム・エピゲノム解析を行うことにより、臨床的診断と分子遺伝学的診断開発のための基盤確立を目的とした。

B. 研究方法

1. 症例収集と臨床像解析

2000年から2010年の間に国内で経験され、論文あるいは学会報告された症例について論文検索を行った。検索された症例について、各医療機関に情報提供を依頼し、その臨床像を検討した。

2. 免疫組織化学的解析

2009年から2011年の間に当施設及び不妊クリニックで生殖補助医療を受けた後に自然流産した50例と収集したPMD症例について、その絨毛を11p15に存在するインプリント遺伝子であるCDKN1Cを対象として免疫組織化学的に検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、佐賀大学医学部倫理委員会、佐賀

大学医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会、熊本大学大学院生命科学研究部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会の承認を受けて実施した。

C. 研究結果

1. 症例収集と臨床像解析

収集できた症例数は24例で、年あたりのPMD症例報告数は2008年以降増加していた(2008年3例、2009年5例、2010年8例)。出生時の母体年齢の中央値は31歳(24歳~42歳)、年齢層では25歳から29歳が最も多かった。

母体の年齢との関係：35歳以上の高齢出産はPMD症例の26%で、2008年の本邦における高齢出産の比率21%(母子保健の主なる統計、2009)よりわずかに高い値であったが有意差は見られなかった($p=0.365$)。

妊娠周期：PMD24症例中、初産婦は8例、経産婦は15例、1例は不明であった。妊娠周期について記載があったのは24例中17例で、うち15例は自然周期、2例(8.3%)は不妊治療による妊娠であった。不妊治療はいずれも人工授精(AIH)による妊娠であり、体外受精・胚移植周期の妊娠例はなかった。

妊娠経過：24症例中で妊娠初期から中期にかけて超音波断層法検査などで胎状奇胎様の画像所見が見られた症例は19例で、それぞれ10週から28週に所見がみられていた。5例は胎状奇胎様所見がなかった。妊娠合併症としては、分娩に至った23例中、切迫早産が7例であった。妊娠高血圧症候群は3例に認められ、いずれもBWSの症例であった。分娩様式は、全24症例中、8例が経陰分娩で、15例は帝王切開術、1例が人工流産であった。62.5%の症例で帝王切開が施行されており、このうち9例(60%)は緊急帝王切開術による分娩であった。緊急帝王切開術の適応としては、NRFSが5例と最多であった。

生化学的指標：24症例中、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)が測定されていたのは17例であった。このうち、3例(17%)が異常高

値を示していたが、2例は経過観察により速やかに減少していた。1例は経過観察されていなかった。 α フェトプロテイン(AFP)は、24症例中7例で測定されていたが、すべての症例で基準値より高値となっていた。

児の転帰：分娩に至った23症例中、女兒は21例(91.3%)であった。児の出生体重について検討すると、標準体重の $m-1.5SD$ を下回るsmall for date(SFD)児は23例中9例(39.1%)であり明らかに高頻度であった、児はすべてBeckwith-Wiedemann症候群(BWS)を合併しない症例で、BWSを除くとSFDの頻度は16症例中9例(56.3%)となった。出生体重が4000gを超える巨大児は1例のみで、BWSの症例であった。子宮内胎児死亡(intrauterine fetal death, IUFD)は23例中3例(13%)と高頻度であり、すべてBWSを合併していない症例であった。37週未満の早産は23例中18例(78.2%)にみられ、2008年の早産率(母子保健の主なる統計、2009)5.76%に比して高率であった。出生体重2500g以下の低出生体重児は23症例中19例(82.6%)であった。2008年の低出生体重児(同)9.58%と比して、非常に高い率となった。また、出生体重1500g以下の極低出生体重児(1500g以下)は9例(39.1%)であった。BWS合併例は23例中7例(30.4%)であり、巨大児は1例のみで、7例中6例は女兒であった。BWS合併症例では優位差をもって、SFDが少なかった($p=0.0188$)。早産率($p=0.490$)、低出生体重児($p=0.510$)、帝王切開術の有無($p=0.524$)では優位差はみられなかった。したがって、PMD単独症例では、妊娠週数に関わらず、児は低出生体重児となると考えられる。また、BWS合併症例では、AGAやHFDとなる傾向があると考えられる。23例中14例の児で染色体分析が施行され、13例は46,XXであった。男児であった1例は46,XX/46,XYのモザイクであった。

胎盤重量：胎盤重量は分娩に至った23例中1例を除いた22例で測定されていた。胎盤重

量が 1000g を超えていたのは、22 例中 10 例 (45.5%) であり、各週数における胎盤重量 (目で見える胎盤病理 中山雅弘著 医学書院) の平均値 + 2SD 以上であったのは 17 例 (77.3%) であった。在胎週数と胎盤重量の関係では重量と臨床像に明らかな差は認められなかった。出生時体重と胎盤重量で比較すると、児体重における胎盤重量 (目で見える胎盤病理 中山雅弘著 医学書院) の平均値 + 2SD 以上であったのは 19 例 (86.4%) であり、週数との比較より強い相関がみられた。

出生体重と胎盤胎児重量比：子宮内胎児発育不全 (IUGR) の有無にかかわらず、胎盤胎児重量比は高い傾向がみられた。96% (22/23 例) の症例で胎児胎盤重量比が平均値 + 1.5SD を超えていた

2. 免疫組織化学的解析

2009 年～2010 年に当施設で治療後に流産した 5 例と 2010 年～2011 年に不妊クリニックで治療後の流産した 45 例の 50 例について、11p15 に存在する父性インプリンティング遺伝子の CDKN1C を標的にした免疫組織化学的検討を行った。症例の平均年齢は 37.0 歳で全て自然流産であった。

不妊クリニックでの 2010 年 1 月～2011 年 10 月の IVF-ET による妊娠は 334 例であり、流産率は 13.4% と自然妊娠での流産率と変わらなかった。50 例の全てにおいて、CDKN1C の免疫組織化学的検討では異常は認められなかった。

一方、PMD では絨毛内間質や血管を構築する細胞におけるインプリント遺伝子 CDKN1C の遺伝子産物の発現消失が報告されている。実際、我々の免疫染色でも、基本的に絨毛の間質細胞で陰性、細胞性栄養膜細胞層で陽性像を呈した。PMD 胎盤では、同一胎盤内に正常部、病変 (嚢胞状) 部が存在すること、肉眼的に正常でも組織的には PMD の特徴が認められることがわかった。免疫染色で正常胎盤パターンとなるのは肉眼的に正常に見える部位であり、このような症例 (3 例) は、36 週以降の分娩であった。免疫染色で正常パターン

が認められる症例と他の症例で臨床経過の明らかな差は認められなかった。

D. 考察

PMD の疾患概念が周知されるに伴い、国内での報告例は増加傾向にあると推定された。診断は主として臨床経過と通常の病理組織学的所見から行われていた。今回の検討では、高度生殖補助医療 (ART) や高齢妊娠が PMD のリスク因子であるとはいえなかった。これまでの報告と同様に、PMD は女兒に多く、早産、IUGR や IUFD との強い関連がみられた。BWS の合併頻度はこれまでの報告と同頻度であったが、全症例が早産に至っており、児が巨大児となることは少なかった。多くの症例で胎盤は大きい傾向がみられたが、胎盤重量が 1000g を超えた症例は半数以下であった。そもそも巨大胎盤の明確な定義はなく、今後前方視的に症例を収集する上で一定の基準を決める必要がある。胎児重量比は 96% で平均値 + 1.5SD を超えており、PMD を疑うよい指標となりえることが考えられた。また胎盤重量が $m+1.5SD$ 以内の症例も 22% 存在した。体外受精・胚移植 (IVF-ET) 後に流産した 50 症例について CDKN1C の免疫組織学的検討を行ったが、全ての症例で CDKN1C のインプリンティング異常は見られなかった。症例数を増やし、その他のインプリント遺伝子に対しても検討を行う必要があると考えられる。また、PMD の CDKN1C の免疫染色では、従来 of 所見に矛盾しない結果を得たが、絨毛間質細胞での発現陰性の原因として遺伝子プロモーターの異常メチル化の可能性は低いと考えられた (総括研究報告書参照)。今後は、過去の報告で関連が示唆されている IGF2 や VEGF-D に加え新規原因遺伝子が同定できればその分子の免疫組織化学染色を行う。

E. 結論

PMD 症例 24 例の系統的臨床病理学的解析から、臨床的特徴を明らかにした。特に、女兒

に多く、早産、SFD、IUFD、BWS との関連が強いこと、胎盤胎児重量比が PMD の指標になる可能性があることがわかった。一方で、胞状奇胎様の画像所見が認められない症例が 21% 存在することから、診断基準および遺伝子診断の重要性が明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Motohara T, Masuko S, Ishimoto T, Yae T, Onishi N, Muraguchi T, Hirao A, Matsuzaki Y, Tashiro H, Katabuchi H, Saya H, Nagano O. Transient depletion of p53 followed by transduction of c-Myc and K-Ras converts ovarian stem-like cells into tumor-initiating cells. *Carcinogenesis* 2011, 32: 1597-1606.
- 2) Miyoshi J, Ohba T, Fukunaga M, Katabuchi H. Clinical features of early-stage nonhydropic mole for diagnosis of persistent trophoblastic disease. *Obstetrics and Gynecology* 2011, 118:847-853.
- 3) 片渕秀隆. 絨毛性疾患, 今日の治療指針 2011, 山口 徹, 北原光夫, 福井次矢総編集 医学書院、東京、2011、pp.1105-1107,
- 4) 大場 隆, 三好潤也, 片渕秀隆. 絨毛性疾患の病態・病因論・胞状奇胎・侵入奇胎. *臨床婦人科産科* 2011, 65:207-213

2. 学会発表

- 1) 岡島 翠、大場 隆、片渕秀隆、東元 健、副島英伸. 本邦における間葉性異形成胎盤の臨床像. 第 18 回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会 2010.10.1. 佐賀
- 2) 三好潤也、岡島 翠、松尾勇児、坂口 勲、大場 隆、片渕秀隆、東元 健、副島英伸. Beckwith-Wiedemann 症候群に間葉性異形成胎盤を合併し、両者のインプリンティング異常に乖離を呈した 1 例. 第 19 回日本胎盤学会学術集会. 2011.9.30-10.1. 東京

- 3) 三好潤也、坂口 勲、大場 隆、片渕秀隆、副島英伸、東元 健. Beckwith-Wiedemann 症候群に間葉性異形成胎盤を合併し、両者のインプリンティング異常に乖離を呈した 1 例. 遺伝医学合同学術集会 2011. 2011.6.16-19. 京都
- 4) 三好潤也、坂口 勲、内野貴久子、本田律生、田代浩徳、大場 隆、片渕秀隆. 妊娠早期に部分胞状奇胎が疑われた症例の転帰に関する検討. 第 63 回日本産科婦人科学会学術講演会 2011.8.29-31. 大阪

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

III. 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
副島英伸	第XIV章先天異常・奇形ベックウィズ・ヴィーデマン症候群	井村裕夫総編集, 福井次矢・辻省次編集	症候群ハンドブック	中山書店	東京	2011	679
副島英伸	第XIV章先天異常・奇形シルバー・ラッセル症候群	井村裕夫総編集, 福井次矢・辻省次編集	症候群ハンドブック	中山書店	東京	2011	685
片渕秀隆	絨毛性疾患	山口 徹, 北原光夫, 福井次矢総編集	今日の治療指針2011	医学書院	東京	2011	1105-1107

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
Higashimoto K, Nakabayashi K, Yatsuki H, Yoshinaga H, Jozaki K, Okada J, Watanabe Y, Aoki A, Shiozaki A, Saito S, Koide K, Mukai T, Hata K, Soejima H.	Aberrant methylation of H19-DMR acquired after implantation was dissimilar in soma versus placenta of patients with Beckwith-Wiedemann syndrome.	<i>Am J Med Genet A</i>			in press
Aoki A, Shiozaki A, Sameshima A, Higashimoto K, Soejima H, Saito S.	Beckwith-Wiedemann Syndrome with Placental Chorangioma due to H19-DMR Hypermethylation: A Case Report.	<i>J Obstet Gynaecol Res</i>	37(12)	1872-1876	2011
Sato S, Yoshida W, Soejima H, Nakabayashi K, Hata K.	Methylation dynamics of IG-DMR and Gtl2-DMR during murine embryonic and placental development.	<i>Genomics</i>	98(2)	120-127	2011
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.	<i>Hum Mol Genet</i>	20(16)	3188-3197	2011

Nagae G, Isagawa T, Shiraki N, Fujita T, Yamamoto S, Tsutsumi S, Nonaka A, Y oshiba S, Matsusaka K, Midorikawa Y, Is hikawa S, Soejima H, Fukayama M, Sue mori H, Nakatsuji N, Kume S, Aburatani H.	Tissue-specific demethylation in CpG-poor promoters during cellular differentiation.	<i>Hum Mol Genet</i>	20(14)	2710-2721	2011
Motohara T, Masuko S, Ishimoto T, Yae T, Onishi N, Muraguchi T, Hirao A, Matsuzaki Y, Tashiro H, Katabuchi H, Saya H, Nagano O.	Transient depletion of p53 followed by transduction of c-Myc and K-Ras converts ovarian stem-like cells into tumor-initiating cells.	<i>Carcinogenesis</i>	32(11)	1597-1606	2011
Miyoshi J, Ohba T, Fukunaga M, Katabuchi H.	Clinical features of early-stage nonhydropic mole for diagnosis of persistent trophoblastic disease.	<i>Obstetrics and Gynecology</i>	118(4)	847-853	2011
大場 隆, 三好潤也, 片瀨秀隆.	絨毛性疾患の病態・病因論・胞状奇胎・侵入奇胎.	臨床婦人科産科	65	207-213	2011

IV. 研究成果の刊行物・別冊

ベックウィズ・ヴィーデマン症候群

Beckwith-Wiedemann syndrome (BMS)

【ICD-10】 Q87.3

【OMIM】 #130650

【特記事項】 厚生労働省難治性疾患克服研究事業 研究奨励分野の対象疾患

■疫学 国内推定有病者数/200人以上

男女比/1:1

■発症に関わる遺伝子 *KVDMR1* (11p15.5), *CDKN1C* (11p15.5), *KCNQ1OT1* (11p15.5), *H19-DMR* (11p15.5), *IGF2* (11p15.5), *H19* (11p15.5)

■診断 診断基準は主症状3つ以上, または主症状2つと副症状1つ以上とされているが, 確定的な基準はない。

主症状: 腹壁欠損 (臍帯ヘルニア, 腹直筋解離, 臍ヘルニア), 巨舌, 過成長 (>97パーセンタイル), 耳垂の線状溝・耳輪後縁の小窩, 腹腔内臓器腫大, 胎児性腫瘍, 片側肥大, 副腎皮質細胞の腫大 (びまん性, 両側性), 腎奇形, 家族歴, 口蓋裂
副症状: 妊娠中の羊水過多・胎盤腫大・臍帯肥厚・早産, 新生児期低血糖, 火焰状母斑, 心肥大・心奇形・心筋症, 特徴的顔貌, 骨年齢亢進

上記の臨床診断に加え, *KVDMR1* の低メチル化あるいは *H19-DMR* の高メチル化や微小欠失, *CDKN1C* 変異, 11p15.5 父性片親性ダイソミーを検出すると確定診断できる。

■治療 低血糖については生後の血糖値モニタリング。臍ヘルニアに対しては外科的根治術。8歳くらいまでは腹部超音波検査で3か月ごとに腫瘍をスクリーニング。4歳までは定期的にαフェトプロテイン (AFP) も測定。過度の巨舌に対しては舌縮小術を, 片側肥大による下肢長の左右差 (1~2cm以上) に対しては骨端固定術を考慮する。

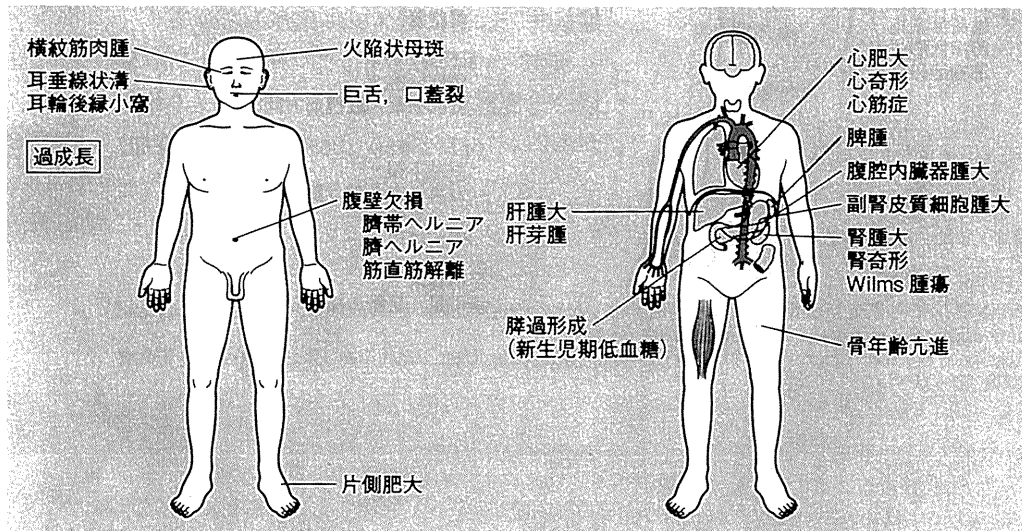
■関連語・同義語 ヴィーデマン・ベックウィズ症候群, exomphalos-macroglossia-gigantism 症候群 (EMG 症候群)

■EBM・診療ガイドライン 厚生労働省難治性疾患克服研究事業平成 21 年度研究報告書

■関連団体・学会 Beckwith-Wiedemann 症候群親の会

■解説 John Bruce Beckwith (1933 年生) と Hans-Rudolf Wiedemann (1915-2006) が, 臍ヘルニア, 巨舌, 巨軀を伴う症例を 1969 年に別々に報告した。11p15.5 のゲノムインプリンティングの異常で発症し, 約 7~11% に腫瘍を合併する。診断の項目に記載した遺伝子異常が認められる。 (副島英伸)

■所見



先天異常・奇形

【文献】 1) Weksberg R, et al: Beckwith-Wiedemann syndrome. Eur J Hum Genet 2010; 18: 8-14.

シルバー・ラッセル症候群 Silver-Russell syndrome (SRS)

【ICD-10】Q87.1

【OMIM】#180860

【特記事項】厚生労働省難治性疾患克服研究事業 研究奨励分野の対象疾患

■疫学 国内推定有病者数/160人以上（実際には非常に多いと推定される）

男女比/1:1

■発症に関わる遺伝子 *H19-DMR* (11p15.5), *IGF2* (11p15.5), *H19* (11p15.5), *CDKN1C* (11p15.5), *KCNQ1OT1* (11p15.5), 7番染色体母性ダイソミー（原因遺伝子は未同定）

■診断 子宮内発育遅延, catch-up growth を伴わない低身長, 逆三角形の顔貌（前額部突出, 小さくとがった下顎, 口角下降によるへの字様口唇）, 身体の左右非対称を主徴とする. 他に, 第5指内彎, 第2・3趾の合趾症, 性早熟, 尿道下裂, 後部尿道弁, 鼠径ヘルニアなど多様な症状を呈する. 診断基準が提案されている^{1,2)}.

■治療 発達は原則的に正常だが, 最終身長は小児期の身長に比例する. 哺乳・摂食障害傾向にあるので, 乳児期には適切な食事を心がける. SGA (small-for-gestational age) 性低身長症の1つとして, 基準を満たせば成長ホルモン治療を行う.

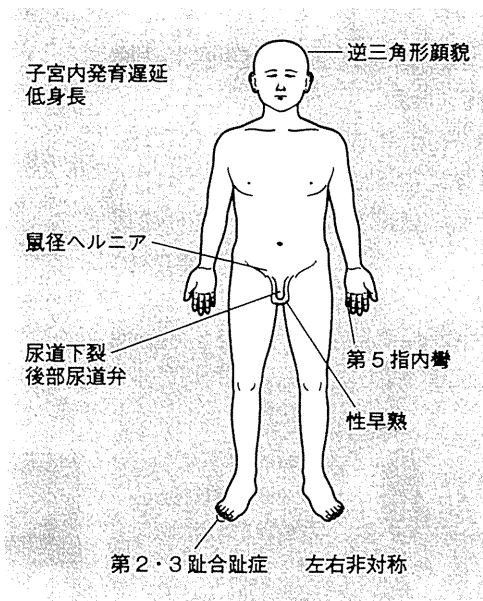
■関連語・同義語 Russell-Silver 症候群, Silver 症候群

■EBM・診療ガイドライン 厚生労働省難治性疾患克服研究事業平成21年度研究報告書, 日本小児内分泌学会・日本未熟児新生児学会「SGA 性低身長症におけるGH治療のガイドライン」「SGA 性低身長症におけるGH治療の実施上の注意」

■関連団体・学会 SRS 患児・家族の交流を目的としたウェブサイトがある.

■解説 Henry K Silver (1918-1991) が先天性片側低形成, 低出生体重, 低身長,

■所見



尿中ゴナドトロピン増加を伴う症例を1953年に, Alexander Russell (1914-2003) が, 子宮内発育遅延, 上述の特徴的顔貌, 左右非対称を伴う症例を1954年に報告した. 患児の約10%で7番染色体母性ダイソミーを, 約30%で11p15.5インプリンティング領域の*H19-DMR*の低メチル化が認められる.

過成長を示すBeckwith-Wiedemann症候群では逆に高メチル化がみられる.

また, 11p15.5インプリンティング領域の母性重複および母性ダイソミーの報告がある. (副島英伸)

先天異常・奇形

- 【文献】 1) Price SM, et al: The spectrum of Silver-Russell syndrome: a clinical and molecular genetic study and new diagnostic criteria. *J Med Genet* 1999; 36: 837-842.
2) Rossignol S, et al: Epigenetics in Silver-Russell syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008; 22: 403-414.