

201128249A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

ヤング・シンプソン症候群の病態解明と  
医療管理指針作成に関する研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 黒澤 健司

平成 24 年 (2012) 年 3 月

# 目次

## I. 総括研究報告

ヤング・シンプソン症候群の病態解明と医療管理指針作成に関する研究—ヤング・シンプソン症候群のエクソーム解析	1
黒澤健司	

## II. 分担研究報告

マイクロアレイ CGH によるヤング・シンプソン症候群の分子細胞遺伝学的解析	9
黒澤健司	

ヤング・シンプソン症候群の医療管理リーフレットの作成	13
升野光雄	

ヤング・シンプソン症候群の病態解明と医療管理指針作成に関する研究	16
近藤達郎	

眼瞼裂狭小精神遅滞を呈する男児例の臨床像に関する研究	23
水野誠司	

ヤング・シンプソン症候群の内分泌学的特性の検討—2—（性腺機能）	26
安達昌功	

III. 資料	29
---------	----

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	43
--------------------	----

V. 研究成果に関する刊行物・別刷	45
-------------------	----

# I. 総括研究報告

## ヤング・シンプソン症候群の病態解明と医療管理指針作成に関する研究

### ヤング・シンプソン症候群のエクソーム解析

研究代表者 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** ヤング・シンプソン症候群の原因遺伝子同定を目的に2症例の exome 解析をおこない、*KAT6B* (*MYST4*) と決定した。2例のうち1症例では trio 解析により候補遺伝子を6つに絞り込むことができた。いずれの症例もエクソン18のナンセンス変異であった。*KAT6B* は histone acetyltransferase 活性を有し、*MOZ/MORF* 複合体を構成する転写活性を有するタンパクであった。こうした機能特性は、他の奇形症候群の原因遺伝子とも共通するものであり、最近注目されてきたクロマチン病の一つに位置づけられることが予想された。ほぼ同時期に海外からも同様報告が相次ぎ、こうした国際レベルで研究が展開されてゆくことは極めて意義あることと考えられた。今後の課題として、genotype-phenotype 関連、診断基準の見直し、治療も視野に入れた細胞レベルでの機能解析があげられた。

#### 研究分担者

升野光雄 川崎医療福祉大学医療福祉学部医療福祉学科教授

山内泰子 同 准教授

近藤達郎 重症心身障害児施設みさかえの園むつみの家診療部長

水野誠司 愛知県心身障害者コロニー中央病院臨床第1部長

安達昌功 神奈川県立こども医療センター内分沁代謝科部長

#### 研究協力者

眞鍋理一郎 独立行政法人理化学研究所オミックス基盤研究領域

Thierry Sengstag 同

榎本啓典 同 遺伝科

古谷憲孝 同 遺伝科

富永牧子 同 遺伝科

#### A. 研究目的

ヤング・シンプソン症候群は、1987年に顔貌異常、先天性心疾患、甲状腺機能低下症、重度精神遅滞を呈する原因不明の奇形症候群として最初に報告された (Young & Simpson, 1987)。その後、同様症例の報告が相次ぎ、15例以上の報告例が確認されているが、その診断や遺伝形式、病因に関しては現在まで明確にされていない。わが国からも報告があり (Masuno, Am J Med Genet, 1999; Kondoh, Am J Med Genet, 2000)、その病因・病態の解明が重要課題となっている。平成22年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「ヤング・シンプソン症候群の診断基準作成と実態把握に関する研究」において、我々研究グループは、それまで明らかにされていなかった同症候群の発生頻度を明らかにし、診断基準を定め、医療管理指針を提案した。その臨床像は、極めて均一であり、症候群としても明確な疾患範疇として確立できることがわかった。しかしながら、上述のように現在までその責任遺伝子は明らかにされ

ておらず、研究第2の段階として責任遺伝子の同定が最大の課題としてあげられる。マイクロアレイCGHでの先行研究では、少なくとも典型例においてゲノム微細構造異常は検出されていない。また、我々の本研究においても高密度オリゴアレイによるCGH解析をヤング・シンプソン典型症例4例に行ったが、有意な異常を検出することはできなかった。近年、こうした孤発遺伝性疾患においてエクソーム解析が極めて有用であることが確認され、解析戦略の主流になりつつある。今回我々は、典型症例2家系（1症例+trio解析1家系）でのエクソーム解析を行ったので、その概要をまとめた。

## B. 研究方法

対象は、典型例と考えられ、昨年提唱されたヤング・シンプソン症候群の診断基準を満たす2症例である。診断基準は、以下である。1) 精神遅滞：中等度から重度、2) 眼症状：眼瞼裂狭小を必須として付随する弱視・鼻涙管閉塞など、3) 骨格異常：内反足など、4) 内分泌学的異常：甲状腺機能低下症、5) 外性器異常：主に男性で停留精巣および矮小陰茎、6) 除外診断：他の奇形症候群あるいは染色体異常症を除外できる。補助項目：羊水過多、新生児期の哺乳不良、難聴、行動特性、泌尿器系異常。診断は臨床症状の組み合わせから臨床遺伝専門医でもある経験豊かな

Dysmorphologyの専門家（臨床遺伝専門医）、あるいは小児神経専門医によってなされた。2例とも400k高密度オリゴプローブによるマイクロアレイCGHで変異がないことを確認している。また、既知の奇形症候群は臨床的に否定されている。症例2では父母のexome解析を同時に行うtrio解析の方法を採用した。この理由は、本症候群の診断に関して、Ohdo症候群、

Say/Barber/Biesecker/Young-Simpson症候群、など診断そのものに関して海外でも混乱があるため、解析症例が増えると遺伝的均一性が低下して、海

外で行われている4症例以上のexome解析のような共通責任遺伝子をつめることが却って難しくなることを懸念したからである。また、参照すべき日本人の全exomeにおける多型情報が乏しいことも、大きな理由に挙げられる。

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。

全exome解析に関する方法の概略を図1および図2にまとめた。解析ターゲット領域であるエクソン領域の濃縮は、SureSelect Human All Exon 50MB Kit (Agilent)を用いた（ライブラリー作成は委託）。解析では精度をより高めるためにIllumina GAIIxに加え、HiSeq200での再検証も行った。得られたシーケンス情報のアラインメントはBurrows-Wheeler Aligner (BWA)を用い、さらに解析としてSamtools Pipeup、Picard tools、BedTools package、Broad InstituteのGenome Analysis Toolkit (GATK)、snpEff、IGV

(Integrative Genomics View)を用いた。参照ゲノム情報は、hg19とし、dbSNP135を用いた。Coverageは少なくとも20以上と設定して解析を進めた。最終的に得られた変異（trio解析では、Mendelian violationsと表現される）は、再度Sanger法によるシーケンス解析により検証を行った（以上の解析は委託）。

## （倫理面への配慮）

エクソーム解析は、こども医療センター倫理審査において、研究課題「ヤングシンプソン症候群の病因解明」研究として平成22年7月26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

解析結果を表にまとめた。症例1単独解析では、約4900の変異を検出し、dbSNP135にない変異

が 234、機能障害が予想されるヘテロの変異が遺伝子単位で 163 か所に狭めることが可能であった。一方、trio 解析ではメンデル遺伝をしない（つまり de novo）変異は、総数で 55 に一気に狭めることが可能で、dbSNP135 にない変異が遺伝子単位で 6 つに絞り込むことが可能であった。両症例に共通する遺伝子は MYST4 および APOB の 2 つに絞り込まれたが、予想される機能から MYST4 と推定し、それぞれの症例において Sanger 法によるシーケンスを行い、変異を確定した。その結果、症例 1、2 それぞれに、エクソン 18 のナンセンス変異を（症例 1 : c.5389C>T p.R1797X ; 症例 2 : c.5302C>T p.Q1768X）を検出した。両親にない de novo 変異であり、しかもいずれも遺伝子産物の機能障害が著しいナンセンス変異であること、MYST4 は種間で保存され、histone acetyltransferase ドメインを有し、他の奇形症候群責任遺伝子（Kabuki 症候群の MLL2、Rusbinstein-Taybi 症候群の CREBBP、など）とも共通することから、これらの変異が疾患特異的であり、MYST4 をヤング・シンプソン症候群の責任遺伝子と決定した。

#### D. 考察

現在まで病因不明のヤング・シンプソン症候群において、責任遺伝子同定を目指して trio1 家系 +1 症例で exome 解析を行い、原因遺伝子を MYST4 と決定した。それぞれの症例でタンパクの著しい機能障害が予想されるナンセンス変異をエクソン 18 に認めた。MYST4 は、HGNC の記載法では KAT6B とされている。10q22.2 にマップされ、MOZ/MORF 複合体の一部をなし、histone acetyltransferase を有する。KAT6B は、RUNX-2 依存性の転写活性に必要で、脳の発生に重要な働きを示す。CREBBP (Rubinstein-Taybi 症候群責任遺伝子) への転座により急性骨髄性白血病が発症することが示されている。また、マウスにおける ortholog である *Myst4* のホモ接合変異

は、小眼球や頭蓋顔面の奇形と中枢神経系の異常が指摘され、*querkopf* マウスとして報告されている (Thomas et al., 2000)。こうした機能を有する KAT6B がヤング・シンプソン症候群責任遺伝子として同定されたことは、同様の histone acetyltransferase 活性を有するタンパクと奇形症候群発症の関連性が示唆される。現在まで、Rubinstein-Taybi 症候群 (CREBBP)、Kabuki 症候群 (MLL2)、Sotos 症候群 (NSD1) などが具体例としてあげられる。

今回得られた知見の第 2 として、症例数が極めて限られた疾患においては、exome 解析において trio 解析が極めて有力な手段であることがわかった。家系 2 だけで、候補遺伝子を 6 つに絞り込むことが可能であり、こうした極めてまれな奇形症候群解析では有用であった。

今回の解析の途中で、海外からヤング・シンプソン症候群の原因遺伝子が KAT6B であることが報告された (Clayton-Smith et al., 2011)。さらにそれに引き続いて、外性器・膝蓋骨症候群の責任遺伝子でもあることが報告された (Campeau et al., 2012; Simpson et al., 2012)。いずれも exome 解析を用いるやり方で、基本的には我々と同一であった。疾患概念の確立から取り組んできた我々の研究グループとしては残念ではあるものの、こうした国際レベルで研究が展開されてゆくことは極めて意義あることと受け止める必要がある。

今後の課題としては、蓄積された症例による解析を進めて、genotype-phenotype 関連を明らかにすること、また、それによって診断基準を再度見直してよりの確な診断基準を作成すること、治療も視野に入れながら、細胞レベルでの機能解析を進めること、などがあげられる。

#### E. 結論

ヤング・シンプソン症候群の原因遺伝子同定を目的に 2 症例の exome 解析をおこない、KAT6B (MYST4) と決定した。2 例のうち 1 症例では trio

解析により候補遺伝子を6つに絞り込むことができた。いずれの症例もエクソン18のナンセンス変異であった。KAT6Bはhistone acetyltransferase活性を有し、MOZ/MORF複合体を構成する転写活性を有するタンパクであった。こうした機能特性は、他の奇形症候群の原因遺伝子とも共通するものであり、最近注目されてきたクロマチン病の一つに位置づけられることが予想された。ほぼ同時期に海外からも同様報告が相次いだ。今後の課題として、genotype-phenotype関連、診断基準の見直し、治療も視野に入れた細胞レベルでの機能解析があげられた。

## F. 健康危険情報

なし。

## 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)

Masuno M, Watanabe A, Naing BT, Shimada T, Fujimoto W, Ninomiya S, Ueda Y, Kadota K, Kotaka T, Kondo E, Yamanouchi Y, Ouchi K, Kuroki Y. Ehlers-Danlos syndrome, vascular type: A novel missense mutation in the *COL3A1* gene. *Congenit Anom (Kyoto)*, 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：次世代シーケンシング 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

升野光雄. 応用編 1. 遺伝カウンセリングのポイント 7) 多因子遺伝：口唇裂・口蓋裂. 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, p317-321, 2011.

升野光雄, 山内泰子. 資料編 1. 三次遺伝カウンセリング施設一覧. 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, p350-351, 2011.

升野光雄, 山内泰子. 資料編 2. 臨床遺伝専門医の所属先一覧 (二次・三次遺伝カウンセリング

- 施設). 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, p352-356, 2011.
- 升野光雄, 黒木良和. 資料編 18. 関連書籍. 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, p407-410, 2011.
- Kondoh T\* (18 人中 1 番目\* 責任著者), 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 Psychiat in Med* 2011;41:71-89.
- 近藤達郎 ダウン症者にまつわる現状について. 長崎県小児科医会 2011;27: 53-67.
- 森淳子, 近藤達郎 汎発性黒子症. 症候群ハンドブック (中山書店; 東京). p681, 2011.
- 近藤達郎 ダウン症候群患者の QOL 向上のための塩酸ドネペジル療法. *Jpn J Rehabil Med* 2011;48: 307-313.
- 近藤達郎, バンビの会編. ダウン症者・家族が幸せに暮らすために. 晃洋書房, 京都, 2011 年 7 月 30 日.
- Kinoshita F, Kondoh T, (他 7 名) Miller syndrome with novel dihydroorotate dehydrogenase gene mutations. *Pediatr Int.* 2011;53:587-91.
- 近藤達郎 染色体検査結果の評価. A. 染色体異常の種類. 遺伝子分析科学. 日本臨床検査同学院, 遺伝子分析科学認定士制度委員会編集. 宇宙堂八木書店, 東京, 2011 年 10 月 10 日, pp188-197.
- Naiki M, Mizuno S (10 人中 2 番目), Wakamatsu N. MBTPS2 mutation causes BRESEK/BRESHECK syndrome. *Am J Med Genet A.* 2011 Nov 21. [Epub ahead of print]
- Niihori T, Mizuno S, (24 人中 6 番目), Matsubara Y. HRAS mutants identified in Costello syndrome patients can induce cellular senescence: possible implications for the pathogenesis of Costello syndrome. *J Hum Genet.* 2011;56:707-15.
- Mizuno S, (7 人中 1 番目), Wakamatsu N. Clinical and genomic characterization of siblings with a distal duplication of chromosome 9q (9q34.1-qter). *Am J Med Genet A*, 2011;155:224-2280.
- Liang JS, Mizuno S, (18 人中 9 番目), Yamamoto T. CDKL5 alterations lead to early epileptic encephalopathy in both genders. *Epilepsia* 2011;52:1835-42.
- 曾根田明子, 室谷浩二, 朝倉由美, 安達昌功, 小田洋一郎 乳児特発性高カルシウム血症と考えられる一例. *小児科臨床* 2011;64:471-477.
- 曾根田明子, 安達昌功, 室谷浩二, 朝倉由美, 住吉好雄, 春木英一, 山上祐次 神奈川県における先天性中枢性甲状腺機能低下症の疫学的調査 第一報 日本マス・スクリーニング学会誌 2011;21:23-28.

## 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兒例. 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一

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

飛騨美希、山内泰子、牧優子、升野光雄、黒木良和. 患者およびその家族に対する遺伝性疾患のガイドブック作成について. 第 35 回日本遺伝カウンセリング学会 (2011 年 6 月 18 日、京都) 市川真臣、升野光雄、山内泰子、黒木良和. 日本における遺伝カウンセリングの包括的な情報資源の構築. 第 35 回日本遺伝カウンセリング学会 (2011 年 6 月 18 日、京都)

山内泰子、千代豪昭、澤田甚一、野正佳余、狭間敬憲、升野光雄、黒木良和、戸田達史. 地域における遺伝性神経難病を対象とした遺伝カウンセリングの取組み-相談担当者チームに加わった認定遺伝カウンセラー. 第 35 回日本遺伝カウンセリング学会 (2011 年 6 月 18 日、京都)

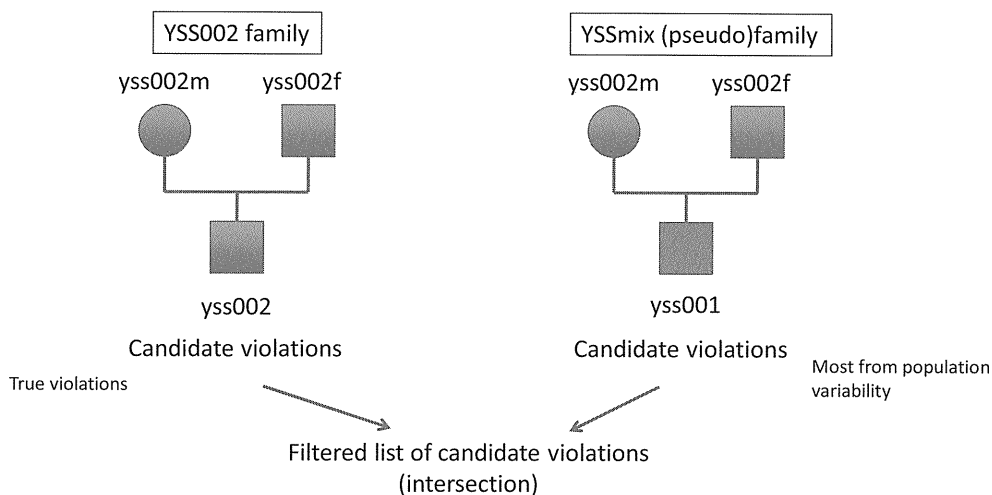
升野光雄、渡邊 淳、Naing BT、島田 隆、藤本亘、二宮伸介、上田恭典、近藤英生、山内泰子、尾内一信、黒木良和. COL3A1 遺伝子新規ミスセンス変異による血管型 Ehlers-Danlos 症候群の 1 例. 日本人類遺伝学会第 56 回大会 (2011 年 11 月 10 日、千葉)

山内泰子、山村真弘、永井 敦、杉原 尚、濃野勉、升野光雄. 地域の大学病院における遺伝医療に関する意識とニーズ-遺伝医療体制の整備を目的とした事前調査-. 日本人類遺伝学会第 56 回大会 (2011 年 11 月 10 日、千葉)

H. 知的財産権の出願・登録状況

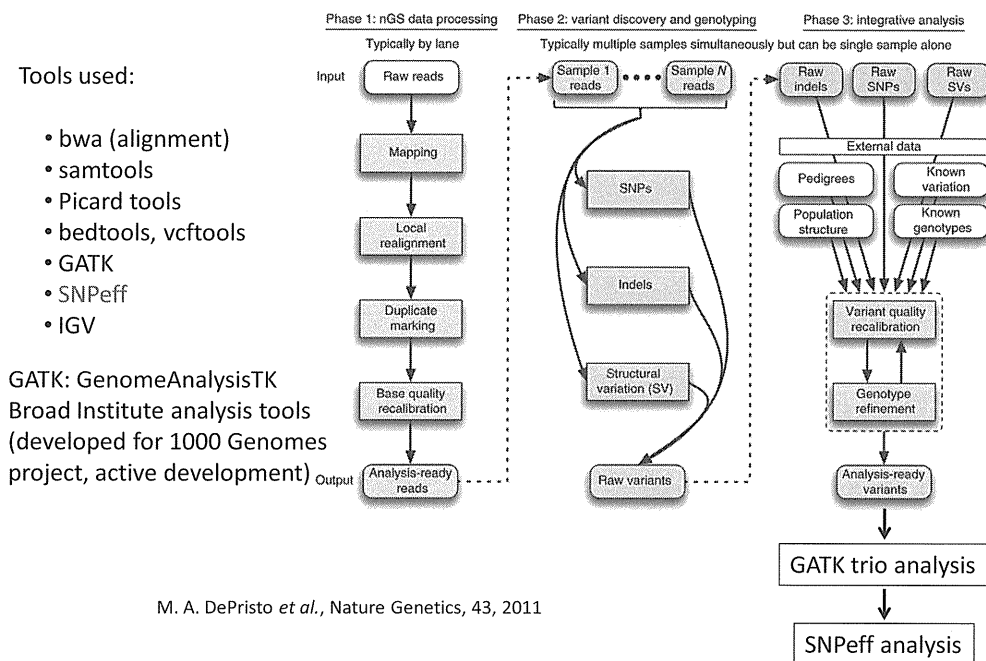
なし。

- Identify Mendelian violations which may be associated to Young-Simpson Syndrome
  - Using trio-based approach



【图 1】 Thierry Sengstag 氏原图

## Analytical framework (from raw reads to variations)



【图 2】 Thierry Sengstag 氏原图

Table 2 Number of candidate SNPs and genes identified based on different filtering strategies

RIKEN internal Project ID	Sequencer			Mendelian violations									Both in yys001/yys00 2	Both in HiSeq and GAIIX
				All	QC passed	All	Protein coding region & splicing acceptor/don or site	Not in dbSNP13 5	Predicted damaging	Heterozygous	# genes	Gene name		
LS815	GAIIX	yss001	patient	384,495	149,452	4,902	4,881	234	170	163	160		*pseudo-family analy	
		yss002	patient	359,052	162,615									
		yss002f	healthy father of yss002	326,419	157,429	55	52	8	6	6	6	6		2 (1: MYST4)
		yss002m	healthy mother of yss002	345,267	163,925									
LS981	HiSeq2000	yss001	patient	169,883	92,792	5,025	5,003	226	162	159	160		*pseudo-family analy	
		yss002	patient	343,065	182,458									
		yss002f	healthy father of yss002	314,364	176,044	38	37	7	6	6	6	6		2 (1: MYST4)
		yss002m	healthy mother of yss002	333,527	183,636									

"Predicted damaging" is including non-synonymous/stop gained/stop lost/start gained/damaged splicing site

## II. 分担研究報告

## マイクロアレイ CGH によるヤング・シンプソン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** マイクロアレイ CGH によるヤング・シンプソン症候群の分子細胞遺伝学的解析を行った。4 例の典型症例に 400k のオリゴアレイで解析を行い、正常多型としての CNV は複数検出したが、臨床的意義のある CNV は検出しなかった。また疑い症例 1 例において 3p25.3-p26.1 に 2.10Mb の欠失を認めた（60k での解析）。現在まで、細胞遺伝学的解析により 3p25-p26、3q22-q23（FOXL2 領域）などにヤング・シンプソン症候群責任遺伝子の存在が推定されているが、それを支持するデータは以後見当たらず、今回の解析でも典型症例 4 例では同領域に有意なゲノムコピー数変化は認められなかった。全エクソーム解析も視野に入れつつ、症例蓄積と明確な診断基準の確立が重要と考えられた。

### 共同研究者

升野光雄（川崎医療福祉大学医療福祉学部）  
近藤達郎（みさかえの園むつみの家）  
水野誠司（愛知県心身障害者コロニー中央病院）  
荒木まりこ（高知大学医学部小児思春期医学）  
榎本啓典（神奈川県立こども医療センター遺伝科）  
古谷憲孝（同）  
富永牧子（同）

### A. 研究目的

ヤング・シンプソン症候群は、1987 年に顔貌異常、先天性心疾患、甲状腺機能低下症、重度精神遅滞を呈する原因不明の奇形症候群として最初に報告された（Young & Simpson, 1987）。その後、同様症例の報告が相次ぎ、15 例以上の報告例が確認されているが、その診断や遺伝形式、病因に関しては現在まで明確にされていない。わが国からも報告があり（Masuno, Am J Med Genet, 1999; Kondoh, Am J Med Genet, 2000）、その病因・病態の解明が重要課題となっている。明確な診断基準がないために、病因遺伝子や病態は勿論、正確

な発生頻度も明らかにされていない。平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「ヤング・シンプソン症候群の診断基準作成と実態把握に関する研究」において、我々研究グループは、それまで明らかにされていなかった同症候群の発生頻度を明らかにし、診断基準を定め、医療管理指針の概要をまとめた。そこからわかったことは、ほとんどの例が孤発発生で、症状は極めて均一であり、症候群としても明確な疾患範疇として確立できるということであった。しかしながら、上述のように現在までその責任遺伝子は明らかにされておらず、研究第 2 の段階として責任遺伝子の同定が最大の課題としてあげられる。今回我々は、高密度オリゴアレイによる CGH 解析をヤング・シンプソン典型症例 4 例に行い、病因解析について検討した。また、疑い 1 症例に対して同様にアレイ CGH 解析（60k）を行い、3p25.3-p26.1 に 2.10Mb の欠失を認めたのでまとめた。

### B. 研究方法

対象は、昨年までの本研究班主要医療機関から紹介のあったヤング・シンプソン症候群 4 症例である。昨年まとめられた診断基準にしたがって診断がなされた。すなわち、1) 精神遅滞：中等度から重度、2) 眼症状：眼瞼裂狭小を必須として付随する弱視・鼻涙管閉塞など、3) 骨格異常：内反足など、4) 内分泌学的異常：甲状腺機能低下症、5) 外性器異常：主に男性で停留精巣および矮小陰茎、6) 除外診断：他の奇形症候群あるいは染色体異常症を除外できる。補助項目：羊水過多、新生児期の哺乳不良、難聴、行動特性、泌尿器系異常。診断は臨床症状の組み合わせから臨床遺伝専門医でもある経験豊かな

Dysmorphology の専門家（臨床遺伝専門医）、あるいは小児神経専門医によってなされた。4 例とも染色体検査など遺伝学的検査がなされて染色体異常症を含めた既知の奇形症候群は臨床的に否定されている。

追加症例として新たに疑い症例 1 例に対しても同様にアレイ解析をおこなった。

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 2x400k 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 < 0.25 を採用した。比較対照 DNA は、Promega 社製 Female および Male 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。

（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, D. 研究結果と考察

今回の解析では典型 4 症例いずれにも臨床的意義のある CNV は検出されなかったが、これでゲノム構造異常の可能性がなくなったわけではない。理由の一つは、今回の解析プラットフォームが 400K であり、ゲノムコピー数変化検出条件から約 20kb 以下の CNV は検出が困難であることがあげられる。今後、さらに高密度アレイを用いた解析が必要かもしれない。疑い 1 症例においては、3p25.3-p26.1 に 2.10Mb の微細欠失を確認した。これまでヤング・シンプソン症候群において同領域の微細欠失が報告されている (Brabcati et al., Clin Genet 009;76:210-213.)。ただし、同領域の微細欠失に関する報告は、散見されており

(Gunnarsson & Bruun, Am J Med Genet Part A 2010;152A:3110-3114; Shuib et al., Am J Med Genet Part A 2009;149A:2099-2105.)、眼瞼下垂や精神遅滞などヤング・シンプソン症候群と共通する臨床症状が記載あるものの、眼瞼裂狭小や特徴的行動特性の記載に乏しく、現時点でこの領域が明確なヤング・シンプソン症候群責任領域とは決定しがたい。

ごく最近になり、こうした孤発例の奇形症候群の病因解析として全エクソーム解析の有用性が注目されている。特に孤発例におけるトリオ（父、母、罹患者）エクソーム解析も現実性が高まっている。アレイ CGH 解析と合わせて今後の課題と言える。しかし、そこでも重要なのがやはり正確な臨床診断であり、今後の症例の蓄積と診断基準の確立が益々重要となる。

## E. 結論

マイクロアレイ CGH を用いて、典型例 4 症例および疑い 1 症例のヤング・シンプソン症候群症例の解析を行い、典型症例 4 例では臨床的意義のあるゲノムコピー数変化は検出されなかった。疑い 1 症例では、これまで報告されてきた 3p25-26 領域の微細欠失を検出した。ただし、ヤング・シンプソン症候群典型例との臨床像の比較再検討が必要で、現時点で 3p25-p26 領域が責任領域と決定しがたい。し全エクソーム解析を視野に入れつつ、症例蓄積と明確な診断基準の確立が重要と考えられた。

## 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兒例. 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

なし。



## ヤング・シンプソン症候群の医療管理リーフレットの作成

研究分担者 升野 光雄

川崎医療福祉大学 医療福祉学部 医療福祉学科 教授

**研究要旨** ヤング・シンプソン症候群は、眼瞼裂狭小、甲状腺機能低下症、停留精巣、内反足、中等度から重度の精神遅滞を特徴とする先天奇形症候群である。本症候群のように多くの診療科の受診を要する希少疾患の医療管理には専門医療機関とかかりつけ医の連携が不可欠である。専門医療機関の総合的な窓口として、臨床遺伝専門医のように先天異常をもつ子供の診療に精通した医師が主治医となることが望ましい。ヤング・シンプソン症候群について患者家族とかかりつけ医の疾患の理解を促し、専門医療機関の主治医とかかりつけ医の連携を図ることで日常診療が円滑に進められるよう、自然歴に基づいた医療管理の概要をまとめたリーフレット（A4 横両面印刷 3 つ折り）を作成した。

リーフレットには、年齢に応じた頻度の高い症状に対して、専門医療機関における医療対応とその窓口、さらに福祉サービス窓口を示した。専門医療機関における治療歴の記載欄も設けた（リーフレット内面）。かかりつけ医による日常診療を円滑に進められるよう、治療上の注意点について、専門医療機関の主治医とかかりつけ医の双方向の記載欄を設けた。かかりつけ医の理解のために臨床診断基準も記載した（リーフレット外面）。さらに患者・家族に対応する医療・保健・教育・療育・福祉関係者の理解を促す資料としても利用可能と思われる。今後、本症候群の患者家族にリーフレットの評価を受け、より実用的なツールにする予定である。

### 共同研究者

山内泰子（川崎医療福祉大学医療福祉学科）

に基づいた医療管理の概要をまとめたリーフレットを作成し、その有用性を検証する。

### A. 研究目的

ヤング・シンプソン症候群は、眼瞼裂狭小、甲状腺機能低下症、停留精巣、内反足、中等度から重度の精神遅滞を特徴とする先天奇形症候群である。本症候群のように多くの診療科の受診を要する希少疾患の医療管理には専門医療機関とかかりつけ医の連携が不可欠である。

ヤング・シンプソン症候群について患者家族とかかりつけ医の疾患の理解を促し、専門医療機関の主治医とかかりつけ医との連携により日常診療が円滑に進められることを目的に、自然歴

### B. 研究方法

先天異常をもつ子供の診療に精通した臨床遺伝専門医等が主治医として日常診療についてかかりつけ医との連絡調整役を担える状況を想定してリーフレットを作成した。

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）「ヤング・シンプソン症候群の診断基準作成と実態把握に関する研究」班により作成された診断基準と自然歴に基づいた医療管理指針の概要を患者家族とかかりつけ医の疾患の理解の一助となるよう、A4 横両面印刷 3

つ折り形式にまとめた。

さらに、専門医療機関の主治医とかかりつけ医の連携を図るため、双方向の連絡欄を設けた。

#### (倫理面への配慮)

家族の理解しやすいように平易な表現に努めたが、誤解を招かないために専門用語も使用した。

#### C, D. 研究結果と考察

ヤング・シンプソン症候群医療管理リーフレットの内容として、患者家族とかかりつけ医の双方の疾患理解を促すよう、年齢に応じた頻度の高い症状に対して、専門医療機関における医療対応とその窓口、さらに福祉サービス窓口を示した。専門医療機関における治療歴の記載欄も設けた(表1:リーフレット内面)。

かかりつけ医による日常診療を円滑に進められるよう、治療上の注意点について、専門医療機関の主治医とかかりつけ医の双方向の連絡欄を設けた。かかりつけ医の理解のために臨床診断基準も記載した(表2:リーフレット外面)。

今後、本症候群の患者家族にリーフレットの評価を受け、より実用的なツールに仕上げていく予定である。

#### E. 結論

専門医療機関とかかりつけ医との連携により日常診療が円滑に進められるよう、ヤング・シンプソン症候群の自然歴に基づいた医療管理の概要をまとめたリーフレットを作成した。

さらに患者・家族に対応する医療・保健・教育・療育・福祉関係者の理解を促す資料としても利用可能と思われる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Masuno M, Watanabe A, Naing BT, Shimada T, Fujimoto W, Ninomiya S, Ueda Y, Kadota

K, Kotaka T, Kondo E, Yamanouchi Y, Ouchi K, Kuroki Y. Ehlers-Danlos syndrome, vascular type: A novel missense mutation in the COL3A1 gene. *Congenit Anom (Kyoto)*, in press.

Kurosawa K, Enomoto K, Tominaga M, Furuya N, Sameshima K, Iai M, Take H, Shinkai M, Ishikawa H, Yamanaka M, Matsui K, Masuno M. Spastic quadriplegia in Down syndrome with congenital duodenal stenosis/atresia. *Congenit Anom (Kyoto)*, in press.

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). *Congenit Anom (Kyoto)*, in press.

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

升野光雄. 応用編 1. 遺伝カウンセリングのポイント 7) 多因子遺伝: 口唇裂・口蓋裂. 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, p317-321, 2011.

升野光雄, 山内泰子. 資料編 1. 三次遺伝カウンセリング施設一覧. 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, p350-351, 2011.

升野光雄, 山内泰子. 資料編 2. 臨床遺伝専門医の所属先一覧(二次・三次遺伝カウンセリング施設). 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, p352-356, 2011.

升野光雄, 黒木良和. 資料編 18. 関連書籍. 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,

p407-410, 2011.

## 2. 学会発表

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.

飛驒美希、山内泰子、牧優子、升野光雄、黒木良和. 患者およびその家族に対する遺伝性疾患のガイドブック作成について. 第35回日本遺伝カウンセリング学会 (2011年6月18日、京都)

市川真臣、升野光雄、山内泰子、黒木良和. 日本における遺伝カウンセリングの包括的な情報資源の構築. 第35回日本遺伝カウンセリング学会 (2011年6月18日、京都)

山内泰子、千代豪昭、澤田甚一、野正佳余、狭間敬憲、升野光雄、黒木良和、戸田達史. 地域における遺伝性神経難病を対象とした遺伝カウンセリングの取組み—相談担当者チームに加わった認定遺伝カウンセラー—. 第35回日本遺伝カウンセリング学会 (2011年6月18日、京都)

黒澤健司、榎本啓典、古谷憲孝、石川亜紀、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回日本小児科学会学術集会 (2011年8月12日、東京)

Ohashi I, Sasaki T, Kusaka T, Shimanouchi Y, Masuno M, Itoh S. Interstitial duplication of 1p13.3-p22.3: Report of a patient and review of the literature. 61th Annual Meeting, The American Society of Human

Genetics, October 11, 2011, Montreal, Canada

Kurosawa K, Ishikawa A, Enomoto K, Tominaga M, Furuya N, Masuno M. 19p13.3 pure duplication. 61th Annual Meeting, The American Society of Human Genetics, October 11, 2011, Montreal, Canada

Enomoto K, Sugawara Y, Furuya N, Adachi M, Mizuno S, Yamanouchi Y, Masuno M, Kondoh T, Doi S, Mizutani S, Kurosawa K. Further clinical delineation of BPES associated with microdeletions encompassing FOXL2. 61th Annual Meeting, The American Society of Human Genetics, October 14, 2011, Montreal, Canada

升野光雄、渡邊 淳、Naing BT、島田 隆、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1例. 日本人類遺伝学会第56回大会 (2011年11月10日、千葉)

山内泰子、山村真弘、永井 敦、杉原 尚、濃野 勉、升野光雄. 地域の大学病院における遺伝医療に関する意識とニーズ—遺伝医療体制の整備を目的とした事前調査—. 日本人類遺伝学会第56回大会 (2011年11月10日、千葉)

## G. 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

## ヤング・シンプソン症候群の診断基準作成と実際把握に関する研究

研究分担者 近藤達郎

重症心身障害児・者施設 みさかえの園むつみの家診療部長

### 研究要旨

ヤング・シンプソン症候群（YSS）は顔貌異常、先天性心疾患、甲状腺機能低下症、重度精神遅滞を特徴とする疾患である。昨年度は、長崎県内の小児科医を中心としたアンケート調査を行い、長崎県内では疑い例を含め YSS 症例を把握できなかった事を報告した。そのため、今年度は九州で遺伝性疾患を専門にしている小児科医を中心に、情報交換を行いやすくするために、Kyushu Dysmorphology Conference (KDC) を立ち上げ、第一回の検討会を平成 23 年 8 月 20 日に長崎大学医学部で行った。九州各県から、総勢 40 名の先生方が集まった。この会を介して、YSS 類縁疾患の Ohdo 症候群疑いの女兒例と、眼裂狭小症候群の 1 例の存在が分かった。今後、KDC を中心に九州の YSS 類縁疾患の検討を進めていきたい。

### A. 研究目的

ヤング・シンプソン症候群（YSS）は、これまでの報告から眼裂狭小などの特異顔貌、先天性心疾患、甲状腺機能低下症、重度精神遅滞を呈する疾患である。前回、長崎県内の小児科医にも同様の調査を行い該当疾患患者はいなかったことを報告した。今回、遺伝性疾患患者を専門的に診療している小児科医を中心にネットワークを作る目的で Kyushu Dysmorphology Conference (KDC) を立ちあげることを模索した。その上で、YSS の存在を KDC メンバーに周知すると共に、患者の有無を検討した。

### B. 研究方法

KDC の立ち上げ：長崎大学小児科、長崎大学原研遺伝、みさかえの園むつみの家、久留米大学小児科、国立病院機構 佐賀病院小児科をコアとして、KDC 設立に向けて検討会を重ね、平成 23 年 8 月 20 日に設立総会及び第一回検討会を行った。

### （倫理面への配慮）

KDC 会則（資料 1）をコアメンバーで案を作成し、設立総会で説明了承を得た。

### C. 研究結果

平成 23 年 8 月 20 日に第一回 KDC を長崎大学医学部で 13:30～16:00 に開催した。症例検討と伴に、設立総会を行い、会則の承諾など得た。その席で、YSS 類縁疾患についての説明、本班会議の活動状況周知を図った。その後、眼裂狭小を伴う症例が 2 例存在する事が示唆された。1 例は、現在 4 歳女兒、眼裂狭小、低身長、先天性心疾患（肺動脈弁狭窄症）などあり、Ohdo 症候群が疑われた。この症例は、当園でフォロー中の YSS 患者と共に、遺伝子検査を依頼・検討中である。もう 1 例は、現在 4 ヶ月の女兒で眼裂狭小が非常に高度であるとの報告を受けている。この患者においても遺伝子検査を行う予定にしている。

当園でフォローしている YSS 患者は 20 歳になっ