

II. 分担研究報告

ヌーナン症候群の遺伝子解析と診断基準作成

研究代表者 松原 洋一 東北大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

ヌーナン症候群 (Noonan syndrome) は、特異的顔貌・先天性心疾患・低身長・胸郭異常・停留精巣、精神遅滞などを示す常染色体優性遺伝性疾患である。本研究の目的は、1) わが国におけるヌーナン症候群の臨床診断と分子診断を集積し、診断基準の作成と疾患概念の再編成を行う、2) 臨床症状・分子診断を加味した診断基準と成長曲線作成を検討する、3) まだ完全に解明されていないヌーナン症候群の新規原因遺伝子を探索することにある。今年度は、まず、ヌーナン症候群と類縁疾患の原因遺伝子 10 種類について、迅速なスクリーニングを確立し全国の診断希望患者に遺伝子診断を提供した。次に、英国のヌーナン症候群診療ガイドラインを翻訳・分析し、わが国の実態に即したガイドラインを検討した。また、患者の成長評価に必要な日本人ヌーナン症候群患者における成長曲線作成について検討を行った。さらに、新規原因遺伝子を明らかにするために次世代シーケンサーによる解析を開始した。

< 研究協力者 >

青木洋子・東北大学・准教授

新堀哲也・東北大学・助教

A. 研究目的

ヌーナン症候群 (Noonan syndrome) は、特異的顔貌・先天性心疾患・低身長・鎧状胸郭・停留精巣、精神遅滞などを示す常染色体優性遺伝性疾患である。本症候群は、1968 年に Noonan によって初めて報告されて以来、長らく臨床症状のみに基づいて診断されてきた。2001 年、本症の原因遺伝子として SHP-2 蛋白をコードする PTPN11 遺伝子の異常が本症患者の約 50%に見出されることが報告された (Tartaglia, 2001)。その後、研究代表者の研究室が、ヌーナン症候群類縁疾患として知られてきたコストロ症候群の原因が癌原遺伝子 HRAS の生殖細胞系列変異によること (Aoki, Nature Genetics, 2005)、またヌーナン症候群の亜型とされてきた CFC 症候群が、KRAS, BRAF 遺伝子の変異によることを世界で初めて報告した (Niihori, Nature Genetics, 2006)。これらの発見によって、従来診断基準が曖昧であった関連症候群の分子遺伝学的な再分類が可能となった。さらにまた、ヌーナン症候群の原因遺伝子として SOS1, RAF1, SHOC2 などが新たに同定され、ヌーナン症候群そのものの遺伝的異質性が明らかにされつつある。そこで私たちは、以上の症候群を Ras/MAPK 症候群と総称することを国際的に提唱した (Aoki, Human

Mutation 2008)。

従来ヌーナン症候群は、その合併症状によって循環器科、心臓血管外科、内分泌科、泌尿器科、神経科などで臓器毎に診療が行われてきており、わが国における患者数・予後・合併症・治療（成長ホルモンを含む）などの包括的な実態は不明である。また、分子遺伝学的診断が可能となったのは最近数年であり、これまで診断された症例には異なる疾患が含まれている可能性が高い。実際、研究代表者がこれまでに遺伝子診断を提供してきたケースの中には、臨床所見の曖昧な評価のみに基づく、誤った分類・診断がなされていた例も少なくない。

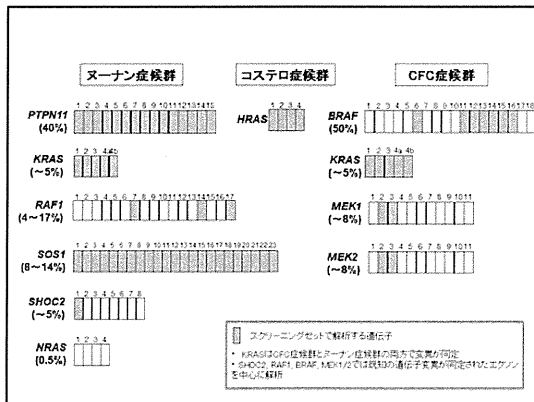
本研究の目的は、1) わが国におけるヌーナン症候群の臨床診断と分子診断を集積し、診断基準の作成と疾患概念の再編成を行う、2) 診療科を超えて患者数や合併症の実態を把握する、3) 実態調査に基づいて、ヌーナン症候群の診療ガイドラインを作成する、4) まだ完全に解明されていないヌーナン症候群の新規原因遺伝子を探索することにある。

B. 研究方法

1) 遺伝子解析

遺伝子解析が必要と考えられる検体について、類縁疾患を含めた既知の病因遺伝子 (PTPN11, RAF-1, SOS1, SHOC2, KRAS, HRAS, BRAF, MEK1, MEK2) の遺伝子解析を行った。

(図1)



まず、図1に示した遺伝子の各エクソンをシーケンスし、変異が同定されない場合にはさらにその他のエクソンについても検索を行った。これらの遺伝子の解析に際しては、ハイ・スループットな解析が行えるように技術的改良を加えた。また、マイクロアレイを用いた遺伝子コピー数多型/変異 (CNV) の解析を合わせて実施した。

遺伝子変異が同定された患者の主治医に結果を報告する際には、臨床症状の再確認を行い分子診断との照合を行った。家族歴を詳細に聴取し、遺伝子変異が上の世代から遺伝したものなのか、患者だけに起こった新生突然変異であるのかどうかを検討した。さらに家族の希望があれば家族の検索を行うこととした。

2) 臨床症状・分子診断を加味した診断基準と成長曲線作成の検討

全国調査で得られた詳細な臨床症状と分子診断を集計し、疫学的な立場からの検討と評価も行い統計学的に解析した。このデータをもとに、わが国におけるヌーナン症候群の診断・診療ガイドラインの検討を行う。

3) 英国のヌーナン症候群診療ガイドラインの翻訳と分析

2010年に英国のヌーナン症候群診療ガイドライン作成研究班によって作成されたガイドラインを入手し、翻訳を行う。

4) 新規遺伝子の同定

研究代表らのもとには、これまで既知の遺伝子変異が陰性であるヌーナン症候群およびその類縁疾患と考えられる症例が60例以上集積している。これらに対し、次世代シーケンサーを用いた網羅的な病因遺伝子探索を行う。

5) 医療機関・患者への情報提供 (ホームページの設立)

ヌーナン症候群における医療機関への支援と患者への情報提供を行うために、ホームペ

ージを作成し、情報を公開する。

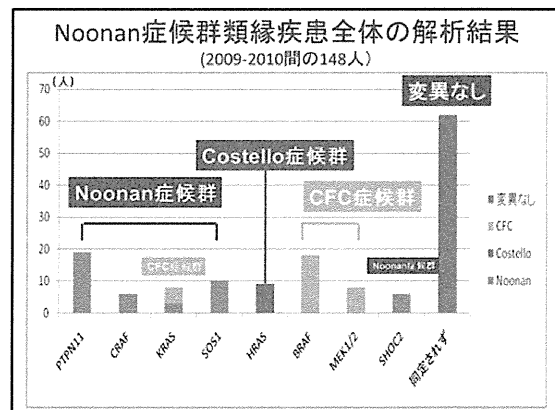
本研究は「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」「疫学研究に関する倫理指針」に従って実施した。

C. 研究結果

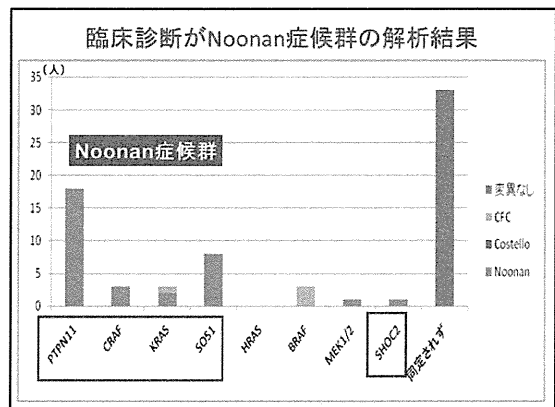
1) 診療支援と遺伝子診断

ヌーナン症候群類縁疾患全体の遺伝子診断結果を図2に、臨床診断がヌーナン症候群とされた症例の遺伝子診断結果を図3に示す。

(図2)



(図3)



臨床的にヌーナン症候群とされた症例では、PTPN11 遺伝子変異が最も多く同定され、次いで SOS1 遺伝子変異の頻度が高かった。しかしながら、変異が同定されない症例が多数存在した。

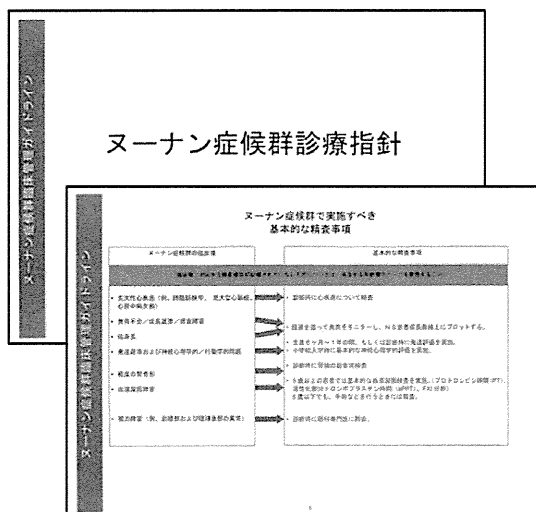
2) 臨床症状・分子診断を加味した診断基準の検討

ヌーナン症候群の原因遺伝子にはこれまでに PTPN11 (40%)、KRAS (~5%)、RAF-1 (4~17%)、SOS1 (8~14%)、NRAS (0.5%) が同定されてきた。遺伝子変異陽性のヌーナン症候

群の臨床症状を明らかにするために、当研究室での症例と論文で出版されている例計 315 例についてその臨床症状を検討した。それぞれの遺伝子陽性数の内訳は PTPN11 が 172 人、SOS1 が 73 人、RAF1 が 52 人、KRAS が 18 人であった。4 つの遺伝子変異が陽性なヌーナン症候群において、母数が 70 人以上得られており頻度が高い症状は、相対的大頭症 (71%)、眼間開離 (80%)、眼裂斜下 (78%)、眼瞼下垂 (71%)、耳介低位 (87%)、体重増加不良 (69%)、短頸 (71%)、胸郭異常 (64%)、肺動脈狭窄 (63%) であった。他に頻度が高い症状は精神発達遅延 (42%)、内眼角贅皮 (57%)、翼状頸 (45%)、カールした毛髪 (40%)、停留精巣 (54%)、凝固異常 (36%) であった。心臓異常は遺伝子変異が陽性のヌーナン症候群全体の中で最も頻度が高いものは肺動脈狭窄であり、他の症状は肥大型心筋症、心房中隔欠損、心室中隔欠損がそれぞれ 21%, 29%, 10% であった。しかしながら、RAF1 遺伝子変異を持つヌーナン症候群では肥大型心筋症の合併が 70% あることに留意する必要がある。診断基準の制定にはこれらの要素を加味する必要があると考えられた。

また、ヌーナン症候群成長曲線の作成: 疾患特異的成長曲線は、当該疾患を有する患者の健康状態の評価や治療効果を判定する上で極めて有用である。本年度、ヌーナン症候群患者を診察する機会が多い小児内分泌医、小児遺伝医、小児循環器医からなる研究者が集い、本邦ヌーナン症候群患者の成長曲線作成を行うことを確認した。これに伴い、各施設の患者数の把握と共に、患者選択基準や成長曲線作製法について勉強会を持ち、理解を深めた。ヌーナン症候群患者の成長を評価するためには、日本人患者のデータを集積し患者成長曲線を新たに作成する必要があると考えられた。

3) 英国のヌーナン症候群診療ガイドラインの翻訳と分析 (図 4)



全 30 ページの邦訳ガイドラインを作成した (図 4)。わが国の医療事情に合わせた注釈を添付したうえで、印刷物を関連学会で無料配布する予定である。

4) 遺伝子診断体制の整備と新規原因遺伝子検索

現時点でヌーナン症候群とその類縁疾患の原因遺伝子は PTPN11, HRAS, KRAS, BRAF, MEK1, MEK2, SOS1, RAF1, SHOC2, NRAS の 10 種類存在する。これらの遺伝子検索で変異が同定されない症例について、次世代シーケンサーによるエクソーム解析を開始した。解析機器としては、SOLiD4 および Genome Analyzer IIx の 2 機種を用いた。これまでに候補遺伝子群が同定され、順次その解析が進行中である。

5) 医療機関・患者への情報提供

この研究班の目的・疾患概要・研究班の構成と業績などを公開するために研究班ホームページを開設、公開している。私たちは既に RAS/MAPK 症候群の概念や遺伝子変異のデータベースを掲載した RAS/MAPK syndrome homepage (英語版) を開設していたが、それを整備し、研究班ホームページにリンクした。また RAS/MAPK syndrome 日本語版を作成し、その中で患者・家族への情報ページを作成した。今後患者向けに研究班の成果を含めた情報を発信していく予定である。

D. 考察

私たちが集積した臨床診断および遺伝子診断データから、ヌーナン症候群類縁疾患では臨床症状のみの組み合わせでは診断が困難な例も多く、遺伝子診断の需要はますます高まると考えられる。私達はこれまでに遺伝子診断スクリーニング法を改良しながら 400 人以上のヌーナン症候群類縁疾患患者に遺伝子診断を提供してきたが、より迅速に遺伝子解析できるようなシステムの整備が重要と考えられる。今後、臨床的な遺伝子検査法としての次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子変異解析法を開発していく予定である。

今回、日本人患者における臨床症状をまとめるとともに、英国のヌーナン症候群診療ガイドラインの翻訳をおこなった。過去には、van der Burgt (Am J Med Genet. 53 (2) :187-91, 1994) や Duncan (Am J Med Genet. 10(1) :37-50, 1981) の臨床診断基準なども報告されている。今後は、これらを総合的に検討し、わが国の医療事情に即した診断ガイドラインの作成をおこなう予定である。

E. 結論

本研究において、類縁疾患を含むヌーナン症候群の遺伝子検査システムが整備された。日本における全国調査を基にした診断基準と、英国の診断ガイドラインをさらに検討し、診断ガイドラインの翻訳を行った。今後さらに、新規原因遺伝子検索を継続する予定である。

F. 健康危険情報研究発表 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Niihori T, Aoki Y, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Kawame H, Inazawa J, Ohura T, Arai H, Nabatame S, Kikuchi K, Kuroki Y, Miura M, Tanaka T, Ohtake A, Omori I, Ihara K, Mabe H, Watanabe K, Niihori S, Okano E, Numabe H, 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 Oct;56(10):707-15
- 2) Narisawa A, Komatsuzaki S, Kikuchi A, Niihori T, Aoki Y, Fujiwara K, Tanemura M, Hata A, Suzuki Y, Relton CL, Stanier P, Grinham J, Leung KY, Partridge D, Robinson A, Stone V, Gustavsson P, Copp AJ, Greene NDE, Tominaga T, Matsubara Y, Kure S. Mutations in genes encoding the glycine cleavage system predispose to neural tube defects. *Hum Mol Genet* (in press)
- 3) Miyatake S, Miyake N, Touho H, Nishimura-Tadaki A, Kondo Y, Okada I, Tsurusaki Y, Doi H, Sakai H, Saito H, M.D., Yamamoto T, Higurashi M, Kawahara N, Kawachi H, Nagasaka K, Okamoto N, Mori T, Koyano S, Kuroiwa Y, Taguri M, Morita S, Matsubara Y, Kure S, Matsumoto N. Homozygous c.14576G>A variant in RNF213 is the strong predictor for early-onset and severe form of Moyamoya disease. *Neurology* (in press)
- 4) Kamada F, Aoki Y, Narisawa A, Abe Y, Komatsuzaki S, Kikuchi A, Kanno J, Niihori T, Ono M, Ishii N, Owada Y, Fujimura M, Mashimo Y, Suzuki Y, Hata A, Tsuchiya S, Tominaga T, Matsubara Y, Kure S. A genome-wide association study identifies RNF213 as the first Moyamoya disease gene. *J Hum Genet* 2011;56:34-40.
- 5) Auerbach AD, Burn J, Cassiman JJ, Claustres M, Cotton RG, Cutting G, den Dunnen JT, El-Ruby M, Vargas AF, Greenblatt MS, Macrae F, Matsubara Y, Rimoin DL, Vihinen M, Van Broeckhoven C. Mutation (variation) databases and registries: a rationale for coordination of efforts. *Nature Rev Genet*. 12(12):881, 2011.
- 6) Wakabayashi Y, Yamazaki K, Narumi Y,

- Fuseya S, Horigome M, Wakui K, Fukushima Y, Matsubara Y, Aoki Y, Kosho T. Implantable cardioverter defibrillator for progressive hypertrophic cardiomyopathy in a patient with LEOPARD syndrome and a novel PTPN11 mutation Gln510His. *Am J Med Genet A*. 155A(10):2529-33, 2011
- 7) Adachi M, Abe Y, Aoki Y, Matsubara Y. Epilepsy in RAS/MAPK syndrome: Two cases of cardio-facio-cutaneous syndrome with epileptic encephalopathy and a literature review. *Seizure*. Jan;21(1):55-6, 2012
- 8) Ohashi H, Suzumori K, Chisaka Y, Sonta S, Kobayashi T, Aoki Y, Matsubara Y, Sone M, Shaffer LG. Implications of prenatal diagnosis of the fetus with both interstitial deletion and a small marker ring originating from chromosome 5. *Am J Med Genet A*. 155A(1):192-6, 2011
- 9) Watanabe Y, Yano S, Niihori T, Aoki Y, Matsubara Y, Yoshino M, Matsuishi T. A familial case of LEOPARD syndrome associated with a high-functioning autism spectrum disorder. *Brain Dev*. 33(7):576-9, 2011
- 10) Tamaki Y, Arai T, Sugimura H, Sasaki T, Honda M, Muroi Y, Matsubara Y, Kanno S, Ishikawa M, Hirasawa N, Hiratsuka M. Association between Cancer Risk and Drug-metabolizing Enzyme Gene (CYP2A6, CYP2A13, CYP4B1, SULT1A1, GSTM1, and GSTT1) Polymorphisms in Cases of Lung Cancer in Japan. *Drug Metab Pharmacokinet*. 26(5):516-22, 2011
- 11) Honda M, Muroi Y, Tamaki Y, Saigusa D, Suzuki N, Tomioka Y, Matsubara Y, Oda A, Hirasawa N, Hiratsuka M. Functional characterization of CYP2B6 allelic variants in demethylation of antimalarial artemether. *Drug Metab Dispos*. 39(10):1860-5, 2011
- 12) Tamaki Y, Honda M, Muroi Y, Arai T, Sugimura H, Matsubara Y, Kanno S, Ishikawa M, Hirasawa N, Hiratsuka M. Novel Single Nucleotide Polymorphism of the CYP2A13 Gene in Japanese Individuals. *Drug Metab Pharmacokinet*. 26(5):544-7, 2011

2. 学会発表

- 1) Saito Y, Aoki T, Niihori T, Abe Y, Kure S, Ohashi K, Kurosawa N, Okamoto N, Kawame H, Mizuno S, Ogata T, Kuriyama S, Matsubara Y. Genetic testing of Ras/MAPK pathway syndromes at Tohoku University. 12th International Congress of Human Genetics, October 11-15, Montreal, Canada.

H. 知的所有権の取得状況 なし

ヌーナン症候群における成長障害の遺伝子型—表現型解析と治療ガイドラインの作成

研究分担者 緒方勤
浜松医科大学 小児科 教授

研究要旨

ヌーナン症候群は、低身長、思春期遅発、心奇形、特徴的外表奇形（眼間乖離、翼状頸、外反肘など）などを呈する疾患であり、胎児水腫、白血病（特に juvenile myelomonocytic leukemia, JMML）、固形腫瘍もときに出現する。本年度では、このヌーナン症候群の成長障害について、PTPN11 遺伝子変異との関連、疾患特異的成長曲線作成の準備、海外の成長ホルモン治療の現状と安全性について解析した。その結果、以下の成果が得られた。(1) 本邦患者 45 例の臨床的および分子遺伝学的解析により、PTPN11 変異の有無および変異部位、心疾患の有無が、身長にはほとんど影響しないことが判明した。(2) 各患者の健康状態の把握や治療効果（特に成長ホルモン）の判定を可能とする疾患特異的成長曲線作成の準備が進展した。(3) 海外の成長ホルモン治療の現状と安全性の解析により、ヌーナン症候群における成長ホルモン効果が、現在わが国において成長ホルモン適応となっている疾患に匹敵することが判明し、また、留意点も明らかとなった。これらの成果は、わが国におけるヌーナン症候群の成長障害の評価と治療法の適応に貢献すると期待される。

A. 研究目的

ヌーナン症候群は、1000-2500 名人に 1 人の頻度で発症する先天疾患であり、成長障害、思春期遅発、心奇形、特徴的外表奇形（眼間乖離、翼状頸、外反肘など）を中核症状とする。また、知能低下、難聴、出血性素因、男児外生殖器形成障もしばしば認められ、胎児水腫や白血病（特に juvenile myelomonocytic leukemia, JMML）、固形腫瘍もときに出現する。

これらの症状の中で、現在治療対象となりうるものは成長障害である。ヌーナン症候群患者の約半数が $-2SD$ 以下の低身長を呈することが判明している。そして、米国、スイス、韓国では成長ホルモン治療がなされているが、本邦では、まだ成長ホルモンの適応は認められていない。この大きな理由の一つとして、本邦ではヌーナン症候群の疾患特異的成長曲線がなく、成長障害の評価や治療効果の繁栄が正確に行えないことが挙げられる。

本年度では、このヌーナン症候群の成長障害について、PTPN11 遺伝子変異との関連、疾患特異的成長曲線作成の準備、海外の成長ホルモン治療の現状と安全性について解析した。

B. 研究方法

本邦患者 45 例の臨床的および分子遺伝学的解析：ヌーナン症候群患者において PTPN11 変異解析を行い、PTPN11 変異のパターンと成長障害の程度などのパラメーター解析を行った。

疾患特異的成長曲線作成の準備：本邦におけるヌーナン症候群特異的成長曲線の作成に向けて、小児内分泌科医師、小児遺伝科医師、小児循環器科医師による共同研究チームによる活動を開始した。

海外の成長ホルモン治療の現状と安全性の解析：ヌーナン症候群の文献解析から行った。

（倫理面への配慮）

本研究の遂行にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子

解析に関する倫理指針を遵守し、検体の収集を含めた研究計画については、国立成育医療センター、および各検体の収集施設において予め倫理委員会の承認を得ている。検体は、書面によるインフォームド・コンセントを取得後に収集している。

C. 研究結果

本邦患者 45 例の臨床的および分子遺伝学的解析

- 性差：低身長を主訴として受信した患者は男児 25 名中 15 名、女児 20 名中 6 名で、有意に男児において高頻度であった ($P=0.04$)。残る患者は、乳児期の心雑音を契機として同定されていた。
- PTPN11 変異陽性例 18 例と陰性例 27 例の比較：変異陽性例 18 名と陰性例 27 名のデータは表 1 に示すとおりである。年齢、性比、目標身長、生下時身長・体重、現在の身長・体重、低身長の頻度、など、すべて項目において有意差は認められなかった。また、心疾患の有無は、身長に明らかな影響を与えていなかった。

表 1. ヌーナン症候群における PTPN11 変異の有無による身長パラメーターの比較

Clinical features in Noonan syndrome patients with and without PTPN11 mutations	Mutation (+)	Mutation (-)	P value
Patient number	18	27	...
Age in year (median [range])	12.7 [0.1–29.5]	16.2 [0.1–34.5]	0.26
Sex ratio (male:female)	8:10	17:10	0.09
<Growth pattern>			
Target height (TH) (SDS)	-0.4 ± 0.9 (n=14)	-0.2 ± 0.7 (n=17)	0.52
Birth length (SDS)	-0.6 ± 2.2 (n=10)	-0.6 ± 1.4 (n=21)	0.95
Birth weight (SDS)	-0.2 ± 0.3 (n=14)	-0.6 ± 0.4 (n=23)	0.16
Childhood height (CH) (SDS)	-2.6 ± 1.1 (n=14)	-2.1 ± 1.6 (n=23)	0.28
Cardiovascular lesion (+)	-2.8 ± 1.1 (n=12)	-1.9 ± 1.6 (n=15)	0.11
CH-SDS minus TH-SDS	-2.3 ± 1.2 (n=11)	-2.1 ± 2.0 (n=16)	0.75
Cardiovascular lesion (+)	-2.2 ± 1.3 (n=9)	-2.1 ± 2.0 (n=10)	0.93
Childhood SS (<-2 SD)	10/14	12/23	0.21
r between CH-SDS and TH-SDS	0.14 (n=11)	-0.40 (n=15)	...

- PTPN11 変異陽性例の有無による男女の比較：変異陽性例では、すべての項目において男女差は認められなかったが、変異陰性例では低身長の重

症度と頻度共に、男児において女児よりも有意に大きかった（表2）。

表2. PTPN11 変異陽性例の有無による男女間の身長指標の比較

	Mutation (+)		Mutation (-)	
	Male	Female	Male	Female
Target height (TH) (SDS)	-0.1±0.8 (n=5)	-0.6±1.0 (n=9)	±0.0±0.6 (n=8)	-0.5±0.8 (n=9)
Birth length (SDS)	-1.1±3.4 (n=4)	-0.2±1.2 (n=6)	-0.7±1.3 (n=13)	-0.4±1.4 (n=8)
Birth weight (SDS)	-0.8±0.7 (n=5)	-0.1±1.3 (n=6)	-0.8±0.4 (n=14)	-0.3±0.7 (n=9)
Childhood height (CH) (SDS)	-2.7±1.4 (n=7)	-2.6±0.9 (n=7)	-2.3±1.5 (n=16)	-1.1±1.4 (n=7)
Cardiovascular lesion (+)	-2.9±1.4 (n=6)	-2.7±0.9 (n=6)	-2.3±1.5 (n=12)	-0.3±0.9 (n=3)
CH-SDS minus TH-SDS	-2.9±1.2 (n=4)	-2.0±1.1 (n=7)	-3.2±1.6 (n=9)	-0.7±1.7 (n=7)
Cardiovascular lesion (+)	-3.1±1.4 (n=3)	-1.8±1.0 (n=6)	-3.2±1.2 (n=7)	+0.2±1.4 (n=3)
Childhood SS (<-2 SD)	5/7	5/7	10/16	2/7
r between CH-SDS and TH-SDS	0.59 (n=4)	0.01 (n=7)	-0.57 (n=8)	-0.03 (n=8) [†]

- PTPN11 変異部位と低身長の関連性：PTPN11 の変異部位と低身長の間には明らかな関連は認められなかった（図1）。

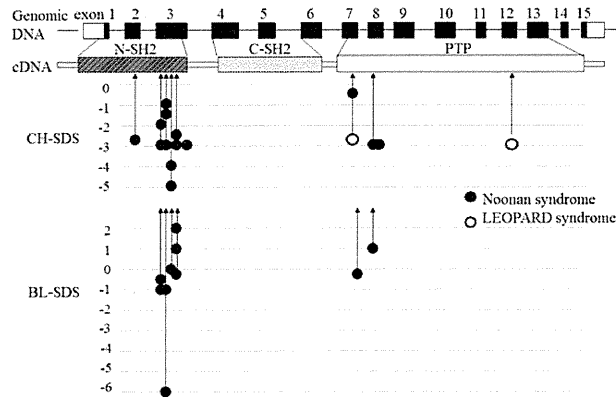


図1. PTPN11 のエクソン 1-15 における変異部位と小児期身長 SDS (CH-SDS) および生下時身長 SDS (BL-SDS) の関係。

疾患特異的成長曲線作成の準備

小児内分泌科医師、小児遺伝科医師、小児循環器科医師を主体とする全国 17 施設、31 名の医師による共同研究体制が整備され、ヌーナン症候群疾患特異的成長曲線作成の研究テーマが倫理委員会に提出された。平成 24 年 4 月から身体計測値データの集積が開始される予定である。

海外の成長ホルモン治療の現状と安全性の解析

- 治療効果：治療開始年齢、使用量などのバラツキは大きいですが、成長ホルモン治療は、おおむね成人身長を約 9 cm 増加させることが報告されている（図2）。なお、PTPN11 変異陽性例において成長ホルモン効果が低いという報告と、変異の有無にかかわらず成長ホルモンの効果は同等という報告が認められた。
- 留意点：乳児期には、JMML や胎児成分由来の固形腫瘍の発症率が高いことから、3 歳までの経過観察後に成長ホルモンを使用することが推奨されると判断された。

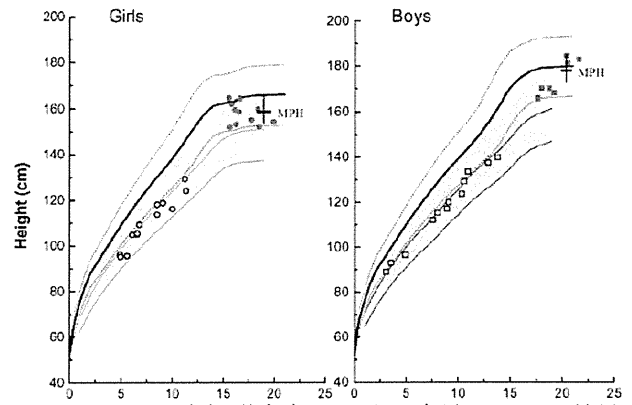


図2. ヌーナン症候群患者における成長ホルモン効果。灰色背景は欧米人ヌーナン症候群患者の成長曲線を示す。白丸は治療前、黒丸は治療後の身長を表す。

D. 考察

本研究の成果は以下のようにまとめられる。第1に、本邦患者 45 例の臨床的および分子遺伝学的解析から、PTPN11 変異の有無および変異部位、心疾患の有無が、身長にはほとんど影響しないことが判明した。これは、ヌーナン症候群の身長評価において、臨床的な評価が重要であることを意味する。なお、有意差の見られた項目は、低身長を主訴として受診する患者は、男児において女児よりも多いことで説明される。第2に、疾患特異的成長曲線作成の準備が進んでいることは、同成長曲線が、各患者の健康状態の把握や治療効果（特に成長ホルモン）の判定に極めて有効であることから、特筆に値する。現在、本邦における疾患特異的成長曲線は、Turner 症候群、Prader-Willi 症候群、軟骨無形成に限定されており、本研究を契機として、今後、様々な疾患へと波及してゆくと期待される。第3に、海外の成長ホルモン治療の現状と安全性の解析により、ヌーナン症候群における成長ホルモン効果が、現在わが国において成長ホルモン適応となっている疾患に匹敵することが判明し、また、留意点も明らかとなった。これは、今後のヌーナン症候群患者に治療法の拡大につながりうると期待される。

E. 結論

本邦ヌーナン症候群患者 45 例の解析による成長障害の評価、疾患特異的成長曲線作成の準備の進展、海外の成長ホルモン治療の現状と安全性の解析がなされた。これは、わが国におけるヌーナン症候群の成長障害の評価と治療法の適応に貢献すると期待される。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamazawa K, Nakabayashi K, Matsuoka K, Matsubara K, Hata K, Horikawa R, Ogata T*: Androgenetic/biparental mosaicism in a girl with Beckwith-Wiedemann

- syndrome-like and upd(14)pat-like phenotypes. *J Hum Genet* 56 (1): 91–93, 2011.
2. Fukami M, Muroya K, Miyake T, Iso M, Yokoi H, Suzuki Y, Tsubouchi K, Nakagomi Y, Kikuchi N, Horikawa R, Ogata T*: *GATA3* abnormalities in six patients with HDR syndrome. *Endocr J* 58 (2): 117–121, 2011.
3. Soneda S, Yazawa T, Fukami M*, Adachi M, Mizota M, Fujieda K, Miyamoto K, Ogata T: Proximal promoter of the cytochrome P450 oxidoreductase gene: identification of microdeletions involving the untranslated exon 1 and critical function of the SP1 binding site. *J Clin Endocrinol Metab* 96 (11): E1881–1887, 2011.
4. Kagami M, Kato F, Matsubara K, Sato T, Nishimura G, Ogata T*: Relative frequency of underlying genetic causes for the development of UPD(14)pat-like phenotype. *Eur J Hum Genet* (accepted).
5. Fukami, Shozu M, Soneda S, Kato F, Inagaki A, Takagi H, Hanaki K, Kanzaki S, Ohyama K, Sano T, Nishigaki T, Yokoya S, Binder G, Horikawa R, Ogata T*: Aromatase excess syndrome: identification of cryptic duplications and deletions leading to gain-of-function of *CYP19A1* and assessment of phenotypic determinants. *J Clin Endocrinol Metab* 96 (6): E1035–1043, 2011.
6. Fukami M*, Tsuchiya T, Takada S, Kanbara A, Asahara H, Igarashi A, Kamiyama Y, Nishimura G, Ogata T: Heterozygous cryptic deletion in the *SOX9* 5' region in a patient with Pierre Robin sequence and hypoplastic left scapula. *Am J Med Genet A* (accepted).

2. 学会発表
省略

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

Noonan 症候群の家系内発症

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

Noonan 症候群は、低身長、先天性心疾患（主に肺動脈狭窄など）、肥大型心筋症、翼状頸、胸郭変形、さまざまな程度の発達遅滞を特徴とする先天性多発奇形症候群である。遺伝形式としては常染色体優性遺伝形式を示し、多くの症例が孤発発生であるが、ときに親子例も存在する（30–75% : GeneReviews, 2011 ; 14–75% : Allanson, 2005.

Management of Genetic Syndromes)。親子例の頻度や臨床像の違いを正しく認識することは、遺伝カウンセリング上重要であり、さらに Genotype-phenotype correlation の解明にも結び付く。今回我々は、Noonan 症候群の家族内発症（親子例）について、自験例を合わせて検討し、28 家系中 2 家系に家系内発症を認めた。常染色体優性遺伝病でしばしば認められる家系内での症状の違い（intrafamilial variation）が大きいため、遺伝子解析を交えた慎重な検討が必要と思われる。次子における再発可能性の評価においては、自身（親）の診断告知と上述の intrafamilial variation の幅が極めて大きいことを考慮する必要があり、遺伝カウンセラーおよび臨床遺伝専門医による総合的な遺伝カウンセリングが可能な体制で進める必要がある。

A. 研究目的

Noonan 症候群は、低身長、先天性心疾患（主に肺動脈狭窄など）、肥大型心筋症、翼状頸、胸郭変形、さまざまな程度の発達遅滞を特徴とする先天性多発奇形症候群である。そのほか、男性では停留精巣を合併することもある。原因遺伝子は PTPN11（検出された変異全体の 50%）を中心として、KRAS（同<5%）、SOS1（10–13%）、RAF1（3–17%）などが知られている。遺伝形式としては常染色体優性遺伝形式を示す。多くの症例が孤発発生であるが、ときに親子例も存在し、その頻度は文献によって 30–

75%（GeneReviews, 2011）、あるいは、14–75%（Allanson, 2005. Management of Genetic Syndromes）と決して低い頻度ではない。しかし、実際の臨床の現場においては時に親子例に遭遇するものの 30–75%とは想定しがたい。このことは、昨年度分担研究報告書でまとめた Noonan 症候群の発生頻度の推定と共通し、海外あるいは文献上の認められる診断 ascertainment の違いに由来する可能性がある。親子例の頻度や臨床像の違いを正しく認識することは、遺伝カウンセリング上重要であり、さらに Genotype-phenotype correlation の解

明にも結び付く。今回我々は、親子例と考えられる 2 家系を経験したのでその臨床的意義をまとめた。

B. 研究方法

Noonan 症候群の発生頻度は、1000-2500 出生に 1 例 (Noonan & Ehmke, 1963) と多くの成書に記載されているが、一般集団でこの値が検証されたことはなく、そのまま 50 年近くにわたりこの値が引用されている。既に遺伝子レベルで診断が一定の割合で可能であるにも関わらず、正確な発生頻度に関する報告はない。この理由は、Noonan 症候群の症状の幅が極めて大きく、かつ原因遺伝子も複数あり、診断そのものを一般集団での評価にあてはめて検討することが困難であることに由来する。こうした多発奇形・精神遅滞症候群症例は、小児専門医療機関に集中することが予想されることから、小児病院遺伝外来受診症例から症例を抽出した。対象 2 家系の診断は Dismorphology の専門家によってなされた。2 家系ともに診断基準は満たしているものの、遺伝子解析はなされていない。文献的考察に加えて、こうした家系における遺伝カウンセリングについても検討を行った。

(倫理面への配慮)

検討にあたっては全ての個人情報に潜在化させた。

C. 研究結果

家系 1

母親が肺動脈狭窄を指摘されている。出生前から胎児エコー検査により両側胸水を指摘されていた。在胎 35 週に帝王切開により

2800 g 台で出生した。アプガースコアは 4 点/6 点で、胎児水腫、肥大型心筋症、呼吸不全により入院。重症の気管・気管支軟化症により、人工呼吸器からの離脱困難となり、長期の人工呼吸管理となった。気管の外ステント術を経て、3 歳時に在宅人工呼吸器管理導入により退院となった。

家系 2

父親が身長 150 cm 台で低身長を認めるも、そのほかの合併症はない。児は在胎 40 週、3200 g 台で出生。出生後、低身長、肥大型心筋症、脳血管異常 (モヤモヤ病)、軽度の発達遅滞を認めた。いずれも、服薬等なく経過している。

2003 年から 2011 年までの 9 年間に 28 例の Noonan 症候群を経験した。このうち、親に何らかの臨床症状 (低身長も含む) が確認できる確定例の家系が上記 2 家系 (7%) であるが、全家系において両親の所見をとることは不可能であるため、上記頻度は推定として最低値と予想された。

D. 考察

Noonan 症候群の親子例の頻度は文献的には、14-75% (Mendez & Opitz, 1985; Allanson, 1987) と大きな幅があり、評価の対象集団や診断基準がこのばらつきを促している可能性がある。親子例の組み合わせとしては 3:1 で母親が多いとされる。これは、停留精巣による妊妊性と関連があるとされている (Allanson, 1987)。しかし、常染色体優性遺伝形式をとる奇形症候群での親子例では、Noonan 症候群に限らず、Kabuki 症候群や 22q11.2 欠失症候群などでも母子例が多いのが一般であり、必ずし

も停留精巣による妊妊性とは限らないと思われる。むしろ社会的要因（社会的適応能力など）が影響している可能性がある。ところが、Noona 症候群の de novo 例では、変異の親由来は圧倒的に父由来であり（Tartaglia et al., 2004）、親由来についてはさらに検討が必要と思われる。

親子例において遺伝カウンセリング上慎重に進めるべき問題として、次子における再発の可能性の評価があげられる。児の診断が親の診断につながり、親自身への告知と再発の可能性を説明することになる。さらに、上記の症例提示でわかるように、親子間での症状の相違、あるいは家系内発症者の症状の違いは明らかであり、正確な症状の推定は困難であり、限界があることを説明する必要がある。同様事例としてあげられるのは、やはり上述の 22q11.2 欠失症候群や神経線維腫症 1 型があげられる。正確な情報提供と遺伝カウンセラーなどのスタッフが充実したなかで、臨床遺伝専門医を中心にこうした遺伝カウンセリングを進めることが重要であると思われる。

E. 結論

Noonan 症候群の家族内発症（親子例）について、自験例を合わせて検討した。文献的に報告されている頻度より低い可能性もあるが、常染色体優性遺伝病でしばしば認められる家系内での症状の違い（intrafamilial variation）が大きいいため、遺伝子解析を交えた慎重な検討が必要と思われる。次子における再発可能性の評価においては、自身（親）の診断告知と上述の intrafamilial variation の幅が極めて大きいことを考慮する必要があり、遺伝カウ

ンセラーおよび臨床遺伝専門医による総合的な遺伝カウンセリングが可能な体制を進める必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

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.

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)

Nihori T, Aoki Y, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Kawame H, Inazawa J, Ohura T, Arai H, Nabatame S, Kikuchi K, Kuroki Y, Miura M, Tanaka T, Ohtake A, Omori I, Ihara K, Mabe H, Watanabe K, Nijima S, Okano E, Numabe H, 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;56:707-715.

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.
- 松原洋一、阿部裕、新堀哲也、黒澤健司、岡本伸彦、水野誠司、大橋博文、川目裕、緒方勤、呉繁夫、栗山進一、青木洋子 コステロ・CFC症候群の全国実態調査とその病態に関する研究 第35回日本遺伝カウンセリング学会 2011.6.16-19. 京都
- 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
- 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
- 新堀哲也、青木洋子、岡本伸彦、黒澤健司、大橋博文、水野誠司、川目裕、松原洋一 コステロ症候群の遺伝子解析およびHRAS変異体の機能解析. 第56回日本人類遺伝学会 2011.11.9-12. 千葉
- 阿部裕、青木洋子、栗山進一、川目裕、岡本伸彦、黒澤健司、大橋博文、水野誠司、緒方勤、呉繁夫、新堀哲也、松原洋一 コステロ症候群・CFC症候群の全国実態調査とその病態に関する研究、または Prevalence and clinical features of Costello syndrome and cardio-facio-cutaneous syndrome in Japan. 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
- Kurosawa K, Ishikawa A, Enomoto K, Tominaga M, Furuya N, Masuno M. 19p13.3 pure duplication. 12th International Congress of Human Genetics, 2011.10.11-15, Montreal, Canada.
- Abe Y, Aoki Y, Kuriyama S, Kawame H, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Ogata T, Kure S, Niihori T, Matsubara Y. Epidemiological features of Costello syndrome and cardio-facio-cutaneous syndrome: Findings from the first nationwide survey. 12th International Congress of Human Genetics, 2011.10.11-15, Montreal, Canada.
- Saito Y, Aoki Y, Niihori T, Abe Y, Kure S, Ohashi H, Kurosawa K, Okamoto N, Mizuno S Kawame H, Ogata T, Kuriyama S, Matsubara Y. Genetic

testing of ras/MAPK pathway syndromes at Tohoku University. 12th International Congress of Human Genetics, 2011.10.11-15, Montreal, Canada.

Niihori T, Aoki Y, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Kawame H, Inazawa J, Ohura T, Arai H, Nabatame S, Kikuchi K, Kuroki Y, Miura M, Tanaka T, Ohtake A, Omori I, Ihara K, Mabe H, Watanabe K, Nijjima S, Okano E, Numabe H,

Matsubara Y. HRAS mutants identified in Costello syndrome patients have the ability to induce cellular senescence: Possible association with the pathogenesis of Costello syndrome. 12th International Congress of Human Genetics, 2011.10.11-15, Montreal, Canada.

H. 知的財産権の出願・登録状況なし。

遺伝子変異を同定した Noonan 症候群胎児水腫例 3 例の臨床像

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

Noonan 症候群（以下 NS）は先天性心疾患、成長障害、特徴的顔貌、骨格異常、精神運動発達遅滞、血液凝固障害、リンパ管形成障害、停留精巣などを特徴とする先天異常症候群である。NS の 20% でリンパ管系の異常がみられる。胎児超音波では頸部浮腫や cystic hygroma、胎児水腫を認める。Cystic hygroma や胎児水腫例においては NS を鑑別する必要がある。生後はリンパ管が十分に機能しないため、全身や局所に浮腫を認めることがある。こうした NS の周産期特有の問題について検討を行った。

共同研究者

大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科
池川敦子、大町和美、三島祐子、山本悠斗
同 新生児科 望月成隆

A. 研究目的

Noonan 症候群（以下 NS）は先天性心疾患、成長障害、特徴的顔貌、骨格異常、精神運動発達遅滞、血液凝固障害、リンパ管形成障害、停留精巣などを特徴とする先天異常症候群である。常染色体性優性遺伝で、日本では出生 1 万人に 1 人程度の患者数である。染色体 12q24.2 にある *PTPN11* 遺伝子が責任遺伝子として最も多く、約半数の患者で遺伝子変異が同定される。他に *RAF1* 遺伝子、*KRAS* 遺伝子、*SOS1* 遺伝子、*SHOC2* 遺伝子などに変異例もある。責任遺伝子のタイプによって、臨床像に違いが存在する。国内でも本研究班を中心に研究がすすんでいる 1)2)。

NS の 20% でリンパ管系の異常がみられる。リンパ管が十分に機能しない場合、浮腫を認める。局所的な場合と広範性の場合がある。浮腫は四肢に出現する例が多いが、消化管、肺、胸腔内、外陰部、頸部、顔面など各所にできることがある。胸水や腹水が慢性的に貯留し、治療に難渋する場合がある。

胎児期には頸部浮腫や cystic hygroma、胎児水腫の出現をみる場合がある。胎児エコーでは NT (nuchal translucency) とよばれる状態を呈する。NT は正常胎児でもみられるが、高度に進展した Cystic hygroma

があれば、染色体異常か NS の可能性を考え、心疾患の合併などに注意すべきといわれている。

胎児水腫は多量の水分が胎児の血管外組織に貯留し、広範な軟部組織の浮腫や胸腔や腹に液体の貯留を引き起こす状態である。病因により免疫性 (15%) と非免疫性に大別される (85%)。非免疫性の原因では、胎児の先天性心疾患や不整脈、ダウン症候群やターナー症候群のような染色体異常、各種先天異常症候群、骨系統疾患の一部、血液疾患などがある。先天異常症候群としては、NS は最重要な鑑別疾患である。NS ではさらに肥大型心筋症や出血傾向などの合併がみられ、新生児期の医学的管理で注意が必要である。心筋症は NS の死因となることがある 3)。遺伝子診断で確定した NS 胎児水腫例について検討した。

B. 研究方法

大阪府立母子保健総合医療センターで出生した胎児水腫症例で他の原因が否定された症例で、NS の遺伝子解析で変異を同定した 3 例について詳細に臨床的分析を行った。末梢血リンパ球由来 DNA を用いて遺伝子を PCR 法で増幅し、塩基配列を決定した。3 例において、遺伝子変異を同定した。

（倫理面への配慮）遺伝子解析にあたり、遺伝カウンセリングを行い、インフォームド・コンセントを得た。

C. 研究結果

3 例の臨床所見および主要な検査結果を整理した。

【症例1】新生児男児（家系図 図1のII-1）

臨床診断 低出生体重児、肺低形成、非免疫性胎児水腫。

新生児男児。母親（I-2）がすでにNSと診断されていた。母親は成長ホルモン分泌不全のため小児期よりGH補充療法をうけた。肺動脈狭窄を認めた。成人であるが身長135cmと高度低身長であった。知的発達に正常で健康状態は良好である。初回妊娠であった。

在胎19週より胎児腹水・胎児胸水出現。エコー上心奇形なし。在胎25週5日に胎児の胸水除去術を施行したが、肺は膨らまず。母親はミラー症候群で胸水が増加したため、在胎28週に帝王切開にて出生。極低出生体重児であった。アプガースコア2/4と仮死であった。出生後、サーファクタント投与、HF0治療、NO吸入療法、輸血、カテコラミン投与したが肺は膨らまず。左気胸に対してドレーン挿入も改善せず、生後数時間で死亡。

顔貌は特徴的であった。広い前頭部、眼間開離、耳介低位、耳介後方回転を認めた。全身浮腫、全身皮下出血斑あり。血液にて染色体検査では46,XYで異常なし。胎内ウイルス感染、血液型不適合など胎児水腫の原因となる異常は認めなかった。以上の所見よりNS疑い、遺伝子診断実施。PTPNI1遺伝子に点変異を認めた。母親も同じ変異であった。次子の罹患の可能性について説明を行った。

【症例2】新生児男児（II-2）

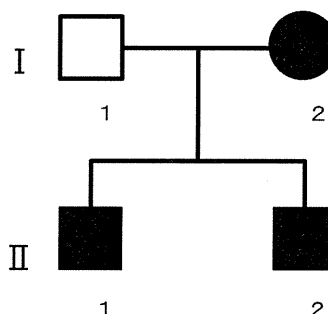
臨床診断：低出生体重児、肺低形成、非免疫性胎児水腫。

II-1の弟である。自然妊娠。在胎14週で羊水減少、在胎20週4日胸水少量出現、皮下浮腫なし。一旦胸水は消失したが在胎28週より再び胸水出現し以後増加。皮下浮腫が増悪した。今回も母親にミラー症候群がみられた。在胎30週で緊急帝王切開にて出生。出生前に左右胸水を胎内にて除去の上娩出。胸水は乳び胸水。在胎30週、体重1990g(+1.7SD)、アプガースコア2/6。出生後HF0治療、NO吸入療法、両側胸腔ドレーナージにて治療開始した。右気胸がみられた。顔貌は症例1と同様特徴的であった。広い前頭部、眼間開離、耳介低位、耳介後方回転を認めた。出血傾向があり全身に皮下出血斑を認めた。一旦呼吸状態が改善したが、その後徐々に肺野の含気が増悪し、呼吸不全は悪化し生後

1日で死亡した。

胎内ウイルス感染、血液型不適合など胎児水腫の原因となる異常は認めなかった。遺伝子診断を実施し、母親、症例1と同じPTPNI1遺伝子変異を同定した。この変異はNSで過去に報告のある変異で、NSの病因となると判断した。

図1 ヌーナン症候群家系図



【症例3】新生児男児 臨床診断：非免疫性胎児水腫 特記すべき家族歴・既往症なし。

在胎27週、胎児エコーでcystic hygroma、VSDを認め、産科に紹介となった。

在胎33週2600g、51cmで帝王切開で出生。胎児水腫、胎児仮死を認めた。身長は-1.9SDであったが、相対的に頭囲は大きかった。胎児エコーでVSD、肥大型心筋症を認めた。重度の全身浮腫、胸水および腹水貯留を認めた。人工換気、NO吸入療法など集中治療をうけた。身体所見では耳介低位、耳介後方回転、眼間開離、疎な頭髮、柔らかい皮膚を認めた。身体所見よりNSを疑い、遺伝子解析を実施した。RAFI遺伝子変異を同定した。

D. 考察

遺伝子変異を同定したNSの胎児水腫例3例を報告した。身体所見は一般的な胎児水腫の所見に加え、NSの特徴も有していた。NSでは血液凝固系の異常が多く、出血傾向による皮下出血を認めた。

症例1・2は母親がNSであり、同胞例であった。NSは常染色体優性遺伝であり、親がNSの場合、50%の確率で児はNSの変異遺伝子を引き継ぐことになる。その場合、表現型や重症度に差はあるが、児はNSを発症する。

NS の診断をうけた母親が妊娠する場合、胎児水腫の合併について十分を注意する必要がある 4)5)。初期には NT を認める可能性がある。定期的な胎児エコーが必要である。皮下浮腫や胎児胸腹水貯留が出現した場合、胎児治療が必要になる可能性がある。

親が NS であれば、事前に親に遺伝子診断を実施しておいて絨毛や羊水細胞から胎児の DNA を抽出し、遺伝子診断を実施することも有用である。親と同じ変異がなければ胎児水腫の可能性は低い。親と同じ変異がないのに胎児水腫が生じた場合は、別の原因を検索する必要が生じる。胎児が NS と診断された場合、胸水・腹水の貯留に対してより注意が必要である。場合によっては早期娩出により NICU で全身管理する必要がある。

症例 1・2 では妊娠後期には母親自身にも胸水・腹水が貯留し、いわゆる「ミラー症候群」を発症した。母親の全身状態が悪化したため、緊急帝王切開を余儀なくされた。ミラー症候群の発症や増悪には母親自身のリンパ管形成不全も関与している可能性がある。父親が NS の場合と、母親が NS の場合とで異なる点である。

NS の胎児水腫については過去に内外で報告がある。Lee らは、134 例の出生前胎児エコー NT や cystic hygroma の例に *PTPN11* 遺伝子解析を行った 4)。ヘテロのミスセンス変異が 12 例(9%)でみられた。*PTPN11* の変異は cystic hygroma と高度 NT でそれぞれ 16%と 2%の陽性率であった。NS の責任遺伝子は症例 3 のように *PTPN11* だけでないので、実際にはさらに NS 関連遺伝子変異の症例は存在することが予想される。González-Huerta らは、*PTPN11* 遺伝子変異を持つ母親の妊娠中に胎児エコーで異常を見出した例を報告した。

胎児水腫には多くの原因が関係するが、NS は重要な鑑別疾患である。心筋症や肺動脈狭窄症のような心臓合併症や顔貌などから NS は推測することができる。遺伝子診断で確定することは遺伝カウンセリングでも重要な情報を得られる可能性がある。

E. 結論

胎児水腫には多くの原因が関係するが、NS は重要な鑑別疾患である。心筋症や肺動脈狭窄症のような心臓合併症や顔貌などから NS は推測することができる。

遺伝子診断で確定することは遺伝カウンセリングでも重要な情報を得られる可能性がある。

謝辞

症例 1 の解析を行っていただいた慶應義塾大学臨床遺伝学センター小崎健次郎教授に深謝します。

文献

- 1) Aoki Y, Niihori T, Narumi Y, Kure S, Matsubara Y. The RAS/MAPK syndromes: novel roles of the RAS pathway in human genetic disorders. *Hum Mutat.* 2008;29:992-1006.
- 2) Narumi Y, Aoki Y, Niihori T, Sakurai M, Cavé H, Verloes A, Nishio K, Ohashi H, Kurosawa K, Okamoto N, Kawame H, Mizuno S, Kondoh T, Addor MC, Coeslier-Dieux A, Vincent-Delorme C, Tabayashi K, Aoki M, Kobayashi T, Guliyeva A, Kure S, Matsubara Y. Clinical manifestations in patients with SOS1 mutations range from Noonan syndrome to CFC syndrome. *J Hum Genet.* 2008;53:834-41.
- 3)竹内真, 中山雅弘, 北島博之, 中島徹 剖検となった Noonan 症候群の臨床病理学的検討 日本小児科学会雑誌 2001;105:Page559-565
- 4)Lee KA, Williams B, Roza K, PTPN11 analysis for the prenatal diagnosis of Noonan syndrome in fetuses with abnormal ultrasound findings. *Clin Genet.* 2009;75: 190-4.
- 5)González-Huerta NC, Valdés-Miranda JM, Pérez-Cabrera A et al. Noonan syndrome: prenatal diagnosis in a woman carrying a PTPN11 gene mutation. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2010 ;23:688-91.

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

別紙

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Noonan 症候群患者の摂食障害の臨床像に関する研究

研究分担者 水野誠司

愛知県心身障害者コロニー中央病院 臨床第一部長

研究要旨

ヌーナン症候群は、低身長、先天性心疾患、発達遅滞の他、翼状頸、胸郭異常、凝固異常、リンパ管異形成や眼の異常を認める常染色体優性遺伝性疾患である。同じく RAS/MAPK シグナル伝達系の遺伝子群を責任遺伝子とする先天異常症候群であ CFC 症候群、Costello 症候群と、その合併症や身体的特徴は共通点が多い。今回我々は Costello 症候群患児に多いとされる 3 歳過ぎまで続く原因不明の摂食障害を呈した Noonan 症候群の症例を経験しその臨床像について検討した。いずれも乳児期の哺乳障害に始まり 3 歳過ぎまで経口摂取が不能であった。その後の消化管奇形や機能異常の検査では異常が認められず、摂食の様子からは何らかの感覚異常や知覚過敏などの存在が示唆された。Costello 症候群においては摂食障害が高率に合併する症状であるが、Noonan 症候群においては従来は主要な合併症とは認識されていない。乳児期の原因不明の摂食障害自体が Noonan 症候群の早期診断につながる症状の一つとして捉えることが重要であると共に、RAS/MAPK 系の先天異常症候群に伴う過敏性や感覚異常についてその実態および病態の解明が今後の課題であると考えられる。

研究協力者

青木洋子 東北大学大学院医学系研究科遺伝病学

松原洋一 東北大学大学院医学系研究科遺伝病学

においては過敏性によると考えられる 3 歳過ぎまで続く原因不明の摂食障害が高率な合併症の一つとして知られているが、Noonan 症候群においてはまだ十分に検討されていない。

A. 研究目的

ヌーナン症候群は、1968 年に Noonan らによって初めて報告された、低身長、先天性心疾患、発達遅滞の他、翼状頸、胸郭異常、凝固異常、リンパ管異形成や眼の異常を認める常染色体優性遺伝性疾患である。以来臨床症状のみに基づいて診断されてきたが、2001 年に原因遺伝子として SHP-2 蛋白をコードする PTPN11 の変異が本症候群患者の約半数に見出されることが報告された (Tartaglia, 2001)。

Noonan 症候群においては同じく RAS/MAPK シグナル伝達系の遺伝子群を責任遺伝子とする先天異常症候群であ CFC 症候群、Costello 症候群と、その合併症や身体的特徴は共通点が多い。Costello 症候群患児

PTPN11 変異の Noonan 症候群においてその摂食に関する臨床像を明らかにするとともに、その情報を臨床医に還元することにより、臨床医の診断能力を向上させて潜在的な患者を見出すこと、および患者家族への情報提供による健康管理と生活の質の向上に資することを目的とした。

B. 研究方法

愛知県心身障害者コロニー中央病院小児内科を受診中の Noonan 症候群の患児中、東北大学大学院遺伝学教室で PTPN11 変異を同定し 3 歳以上まで経口摂取が不能であった 2 症例について、その摂食についてお発達歴、経過、身体的特徴、精神発達について検討

した。

(倫理面への配慮)

当院通院中の患者は未成年でありかつ知的障害を有するため、研究への参加としての情報の収集に際しては代理人である両親に対して説明を行い同意を得た上で、個人情報の保護の観点から患者氏名が特定されることのないように留意した。

C. 研究結果

症例 1 : PTPN11 変異を有する Noonan 症候群 4 歳女児。

在胎 39 週出生体重 4258g、身長 50.5cm、頭囲 36.0cm の巨大児。出生後の哺乳不良及び心雑音にて日齢 4 に NICU 入院加療。肥厚性心筋症及び肺動脈弁狭窄を認める。約 1 ヶ月間の入院中に経口摂取が不能。経管栄養にて退院した。

外科的検査にて消化管奇形なく、肥厚性幽門狭窄及び胃食道逆流も否定された。嚥下困難患者にみられる流涎は認められなかった。

特徴的顔貌(眼間開離、眼瞼裂斜下、内眼角贅皮、色黒の皮膚)、肥厚性心筋症と肺動脈狭窄、発達遅滞、Prenatal Overgrowth と Postnatal Growth Retardation の成長の特徴から Noonan 症候群もしくは CFC 症候群と考えられ、PTPN11 遺伝子変異解析を東北大学医学部遺伝学教室にて行い c.124A>G p.T42A のヘテロ変異を同定した。

生後 1 歳半の時点で、経管栄養主体で経口摂取は特定のものの少量のみ口に含む。味噌、醤油、ケチャップなどの味の濃いものは口に含むが、ヨーグルトはいやがる。お茶は口にするが時にむせる。

独歩 18 ヶ月、始語 18 ヶ月。3 歳時点で DQ72 の軽度発達遅滞を認める。3 歳から幼稚園に通園。この頃から味の濃い液体から徐々に経口摂取可能となる。

症例 2 : PTPN11 変異を有する Noonan 症候群 3 歳男児。

在胎 32 週出生時体重 1784g 身長 40.0cm 頭囲 30.0cm。早期産低出生体重児のために新生児集中治療施設に収容される。心房中隔欠損症、肺動脈弁狭窄及び肥厚性心筋症を認めるが、特に心不全徴候

はなく経過観察。体重増加後も原因不明の哺乳障害が持続したため経管栄養を行い、在宅経管栄養を行い退院した。

消化管造影で軽度の胃食道逆流を認めたが、哺乳ができない原因は不明。

1 歳児発達テスト DQ は 77。始歩は 18 ヶ月。

-4SD の低身長と相対的大頭、内眼角贅皮、肥厚性心筋症及び肺動脈狭窄などの所見から Noonan 症候群を疑い、東北大学医学部遺伝学教室にて PTPN11 の解析を行い PTPN11 エクソン 8 (c.922A>G, p.N308D)ヘテロ接合体を同定した。3 歳時点で経口摂取は困難で、経管栄養を主体として少量の経管栄養剤の経口摂取のみ可能。口に含むが嚥下せずに出してしまう。特定のもの(大根、にんじん、特定のお菓子)のみ少量飲み込む。生活の中で大きい音への過敏性がある。

D. 考察

RAS/MAPK 症候群の中で Costello 症候群においては幼児期まで経口摂取が困難な例が多く、幼児期頃以降に強い味のものから徐々に経口摂取可能になるとされる。今回の Noonan 症候群症例は Costello 症候群の摂食障害と同様の経過と考えられた。症例の観察からは触覚、温度、味覚などの口腔感覚が摂食障害に関与していると推測された。RAS/MAPK 関連の症候群の感覚特性の表現形の一つとして今後の情報集積と検討が必要であろう。

E. 結論

PTPN 変異の Noonan 症候群の男児 2 例において、原因不明の摂食障害を経験しその臨床像について検討した。解剖学的な問題や機能的な問題は否定され、特定の食物のみ摂食可能なことから、味覚や触覚に関する本症候群患児の特殊性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Naiki M, Mizuno S, Yamada K, Yamada Y, Kimura R, Oshiro M, Okamoto N, Makita Y, Seishima M, Wakamatsu N.

MBTPS2 mutation causes BRESEK/BRESHECK syndrome
Am J Med Genet A. 2011 Nov 21. [Epub ahead of print]

2) Niihori T, Aoki Y, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Kawame H, Inazawa J, Ohura T, Arai H, Nabatame S, Kikuchi K, Kuroki Y, Miura M, Tanaka T, Ohtake A, Omori I, Ihara K, Mabe H, Watanabe K, Niijima S, Okano E, Numabe H, 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 Oct;56(10):707-15

3) Seiji Mizuno, Daisuke Fukushi, Reiko Kimura, Kenichiro Yamada, Yasukazu Yamada, Toshiyuki Kumagai, Nobuaki Wakamatsu

Clinical and genomic characterization of siblings with a distal duplication of chromosome 9q (9q34.1-qter)

Am J Med Genet A, 2011 September; 155 (9):224-2280.

4) Liang JS, Shimojima K, Takayama R, Natsume J, Shichiji M, Hirasawa K, Imai K, Okanishi T, Mizuno S, Okumura A, Sugawara M, Ito T, Ikeda H, Takahashi Y, Oguni H, Imai K, Osawa M, Yamamoto T.

CDKL5 alterations lead to early epileptic encephalopathy in both genders.

Epilepsia. 2011 Oct;52(10):1835-42

5) Miyajima Y, Kitase Y, Mizuno S, Sakai H, Matsumoto N, Ogawa A.

Acute lymphoblastic leukemia in a pediatric patient with Marfan's syndrome

Rinsho Ketsueki. 2011 Jan;52(1):28-31.

6) Hayashi S, Imoto I, Aizu Y, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Okamoto N, Honda S, Araki S, Mizutani S, Numabe H, Saitoh S, Kosho T, Fukushima Y, Mitsubuchi H, Endo F, 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

該当無し

ヌーナン症候群の PTPN11 遺伝子変異と臨床症状との関連の研究

研究分担者 大橋 博文 埼玉県立小児医療センター遺伝科 科長

研究要旨

多様な原因遺伝子をもつヌーナン症候群の遺伝子型・表現型相関の理解は患児の健康管理上重要である。本年度は一連のヌーナン症候群の原因遺伝子解析で、PTPN11 の Q510E 変異例を 2 例見出した。症例 1 は 0 ヶ月男児。生直後に著明な心筋肥大を認め内服治療を開始。症例 2 は 4 歳男児。生直後に両室心筋肥大、肺動脈狭窄を認め、内服治療と心筋切除術が施行された。その他低身長、両耳難聴、口唇口蓋裂がある。文献上 Q510E 変異例は本症例を含めて 7 例ある。その 7 例全例に肥大型心筋症を認め、本変異と肥大型心筋症との強い関連が疑われる。PTPN11 の Q510E 変異は SHP2 タンパクの機能喪失をもたらし、結果として Akt/mTOR シグナル伝達経路の活性が亢進するために心筋肥大を生じるとの仮説がある。今後、本変異の細胞レベルあるいはモデル動物レベルでの機能解析は、肥大型心筋症の病態解明に役立つ可能性が考えられた。

研究協力者

清水 健司（埼玉県立小児医療センター遺伝科）
黒田 友紀子（埼玉県立小児医療センター遺伝科）
小林 亮介（日本大学松戸歯学部小児歯科学教室）
平井 則光（同上）
高橋 昌嗣（同上）
松根 健介（同上）
前田 隆秀（同上）

A. 研究目的

Noonan 症候群では肺動脈弁狭窄症（PS）を代表とする先天性心疾患を 50-80%と高率に合併することが知られている。一方、肥大型心筋症（HCM）は 20-30%に合併し、PS と比較すると少ない合併症である。しかし、HCM は流出路狭窄、致死的不整脈を起こすことで突然死の危険もあり Noonan 症候群の生命予後的には非常に重要である。本年度の研究では臨床的に Noonan 症候群と診断した患児に対して PTPN11 遺伝子解析を行い、遺伝子変異と臨床症状の関連について検討した。

B. 研究方法

臨床所見から Noonan 症候群が疑われ PTPN11 遺伝子解析を行った 21 例を対象とし、変異と症状との関連を検討した。PTPN11 の解析を行なったものの変異陰性で、かつその後の評価で他の疾患の診断が確定したものは除いた。

C. 研究結果

PTPN11 遺伝子変異は 21 例中 9 例で陽性、12 例で陰性であり、陽性率は 43%であった。変異の種類は、A50T（エキソン 3）、Y62D（エキソン 3）、E139D（エキソン 4）、N308S（エキソン 8）、T468M（エキソン 12、2 例・同胞）、P491S（エキソン 13）、Q510E（エキソン 13、2 例）だった。

精神遅滞は陽性例で 33%、陰性例で 58%、運動発達遅滞・筋緊張低下は陽性例で 67%、陰性例で 83%といずれも陰性例で高頻度であった。難聴は変異例で 50%であるのに対して陰性例では認めず、先天性心疾患は陽性例で 89%、陰性例 75%であり、陽性例で高頻度であった。成長障害や腎奇形では 2 群の差はみられなかった。

陽性例で黒子のある同胞例で認めた PTPN11 T468M 変異は Noonan 症候群よりも LEOPARD 症候群