

201128284A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

コステロ症候群・CFC症候群類縁疾患の
診断基準作成と治療法開発に関する研究
(H22-難治-一般-122)

平成23年度 総括・分担研究報告書
研究代表者 松原洋一

平成24年(2012)3月

目次

I. 総括研究報告

コステロ症候群・CFC症候群類縁疾患の診断基準作成と治療法開発に関する研究 松原 洋一	1
--	---

II. 分担研究報告

1. コステロ症候群・CFC症候群類縁疾患の全国調査と新規原因遺伝子の探索 松原 洋一	9
2. コステロ症候群・CFC症候群類縁疾患の 診断基準作成と治療法開発に関する研究 追跡調査における分子診断の重要性 緒方 勤	13
3. RASopathy遺伝子CNVの先天異常発生への影響 黒澤 健司	17
4. Macrocephaly-cutis marmorata teleangiectasia congenitaの臨床的研究 岡本 伸彦	23
5. 特異な摂食障害を呈したCFC症候群患者の臨床像に関する研究 水野 誠司	27
6. コステロ症候群の歯科口腔所見の研究 大橋 博文	31
7. Costello症候群およびその類縁症候群の摂食障害への治療・介入のための研究 川目 裕	35
8. アレイCGH解析によりNKX2.1遺伝子欠失を認めたBrain-thyroid-lung症候群の1例 呉 繁夫	49
9. 難治性疾患克服のためのバイオバンク設計の現状、特にUK Biobankを例として 栗山 進一	53

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	57
---------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	63
-----------------	----

I . 総括研究報告

「コステロ症候群・CFC症候群類縁疾患の診断基準作成と治療法開発に関する研究」

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

コステロ症候群・CFC（cardio-facio-cutaneous）症候群は、特異的顔貌・心疾患・骨格異常・精神遅滞・皮膚症状・易発がん性を示す常染色体優性遺伝性疾患である。2005～2006年に私たちがはじめてこれらの症候群の原因遺伝子を同定し、遺伝子診断が可能となって以来、相次いで患者が発見されるようになった。しかしながら、いずれも疾患研究の歴史が浅く症例数も少ないため、その自然歴や長期予後は不明である。本研究では、平成22年および平成23年に、両疾患の患者・家族と臨床医・研究者を交えたシンポジウムをわが国で初めて開催し、情報提供と意見交換を行った。全国からそれぞれ27家族83人、25家族84名の参加を得て活発な交流が行われた。また、平成21年度に開始した全国調査に引き続いて2次調査を行い、両疾患の日本における罹患数の算出を行い、その病態や合併症について解析を行った。これらの調査で18-32歳の成人患者15人の生活状況・合併症が初めて明らかになった。さらに、全国調査時に遺伝子診断の希望のあった症例について、既知遺伝子の遺伝子解析を行うとともに、新規病因遺伝子の探索のためにエクソーム解析を開始した。また、両症候群における臨床所見の詳細な検討として、MDCTによる歯科口腔所見の評価、摂食障害についての経管栄養または胃瘻の状況、病因遺伝子と臨床像の関連の検討などをおこなった。本研究により、日本において初めて両疾患の罹患数と有病率が推定でき、成人における生活歴や合併症が明らかになった。

分担研究者

緒方 勤（国立成育医療研究センター・研究所）
黒澤健司（神奈川県立こども医療センター・遺伝科）
川目 裕（お茶の水女子大学・大学院）
岡本伸彦（大阪府立母子保健総合医療センター・遺伝診療科）

大橋博文（埼玉県立小児医療センター・遺伝科）
水野誠司（愛知県心身障害者コロニー中央病院）
栗山進一（東北大学・大学院医学系研究科）
呉 繁夫（東北大学・大学院医学系研究科）

研究協力者

青木洋子（東北大学・大学院医学系研究科）
新堀哲也（東北大学・大学院医学系研究科）
井上晋一（東北大学・大学院医学系研究科）
阿部 裕（東北大学・大学院医学系研究科）

齋藤由佳（東北大学・大学院医学系研究科）

井泉瑠美子（東北大学・大学院医学系研究科）

西恵理子（愛知県心身障害者コロニー中央病院）

松村友佳子（愛知県心身障害者コロニー中央病院）

谷合弘子（愛知県心身障害者コロニー中央病院）

A. 研究目的

コステロ症候群およびCFC（cardio-facio-cutaneous）症候群は、中等度～重度の精神遅滞や発達障害を示し、そのなかには経口摂取や歩行を獲得できず生涯介護が必要なケースも知られている。しかしながら、いずれの疾患についてもその研究の歴史は浅く、とくに遺伝子診断が導入されて他の類似疾患との明確な鑑別が可能となってからは、まだ5年しか経過していない。そのため、各疾患の自然歴や長期予後は不明である。さらに、患児（患者）の育児・教育・療

育・介護における問題点や課題についても不明な点が多く、患者家族の戸惑いが大きい。本研究班では、両症候群の診断基準の作成、患者数の把握、臨床症状及び合併症の把握、遺伝子型／表現型相関解析、さらに分子標的治療法開発の検討を目的としている。

私たちは、平成 21 年度に、図 1・2 に示すような暫定診断基準を作成し、それをもとに全国一次調査を実施した。

図 1

コステロ症候群の暫定的な診断基準(2009)

下記の臨床症状を有し、かつHRAS遺伝子変異が同定されること。

<臨床症状とその合併頻度>

・特徴的な顔貌(92%)	・出生後の哺乳障害(88%)
・手足の深いしわ(88%)	・精神遅滞(81%)
・相対的大頭症(85%)	・カールしていて疎な毛髪(77%)
・柔らかく緩い皮膚(77%)	・短頸(58%)
・指関節の可動性亢進(58%)	
・心疾患(73%)：肥大型心筋症(58%)、不整脈(30%)	
・患者の約15%に悪性腫瘍(膀胱癌、神経芽細胞腫、横紋筋肉腫などを合併)	

(注)成人の患者は日本で同定されていないため、本診断基準は未成年にのみ適用される。

図 2

CFC症候群の暫定的な診断基準(2009)

下記の臨床症状をもつ患者で、遺伝子解析にてKRAS・BRAF・MEK1・MEK2の遺伝子変異が同定された場合は、CFC症候群と確定診断される。しかしながら、CFC症候群の約40%では原因遺伝子が不明のため、遺伝子変異が同定されない場合でも本症を否定することはできない。

<臨床症状とその合併頻度>

・特徴的な顔貌(>92%)	・精神遅滞(100%)
・言葉の遅れ(96%)	・カールした毛髪(96%)
・相対的大頭症(92%)	・短頸(88%)
・低身長(76%)	
・心疾患(84%)：肥大型心筋症(44%)、肺動脈狭窄症(36%)、不整脈(12%)	
・多彩な皮膚症状：毛孔角化症(60%)、角化症(56%)、色素沈着症(40%)	

(注)成人の患者は日本で同定されていないため、本診断基準は未成年にのみ適用される。

平成 22, 23 年度の本研究では、まず、医療者と患者家族の詳細な情報交換と交流をおこなうために、患者・家族と臨床医・研究者を交えたシンポジウムをわが国で初めて開催した。つぎに、全国 2 次調査結果を分析して、患者数の推定、臨床症状・合併症の把握、臨床所見の詳細な解析をおこなった。また、病因遺伝子変異の解析および新規病因遺伝子探索を実施した。さらに治療法開発のためのモデルマウスの作製に成功した。

B. 研究方法

1) コステロ症候群・CFC 症候群シンポジウムを平成

22 年度と平成 23 年度に開催した。

2) 全国 2 次調査を実施し、患者数の推定をおこなうとともに、合併症や臨床像を検討した。これまで明らかでなかった成人例の QOL(quality of life)について詳細な調査を行った。

3) 遺伝子解析と新規遺伝子の探索をおこなった。

4) 疾患モデルマウスの作製をおこなった。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析本研究における遺伝子解析研究は3省庁の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に沿って行った。本研究は、すでに東北大学医学部倫理委員会の承認を得ている(承認番号 2006-233)。また疫学研究に関しては疫学研究に関する倫理指針に沿って行った。疫学研究に関しては、東北大学医学部倫理委員会の承認を得ている(承認番号 2009-256)。

C. 研究結果

1) コステロ症候群・CFC 症候群シンポジウムの開催

松原は、他の分担研究者らとともに、コステロ症候群および CFC (cardio-facio-cutaneous) 症候群の患者・家族と臨床医・研究者を交えたシンポジウムをわが国で初めて開催し、情報提供と意見交換を行った(図 3)。平成 22 年度には、全国から 27 家族 83 人、平成 23 年度の第 2 回シンポジウムでは、25 家族 84 名の参加を得て活発な交流が行われた。

前半は研究班からの講演を行ったが後半には患者家族からの質問と班員による回答、あるいは全体での討議であったが、①睡眠障害による対応②摂食障害に対する工夫(食べるきっかけになる食物、与え方など)③けいれんに対する治療④日本とアメリカにおける歩行訓練・療育の相違⑤療育と保育との優先順位、などが患者家族からの問題点として挙げられた。このうち摂食障害については研究班からのアンケートを行うことを予定している。

また平成 23 年度のシンポジウムでは、2011 年 8 月にアメリカシカゴで行われた International meeting on genetic syndromes of the Ras/MAPK pathway における研究発表の内容についても患者家族に報告した。またその際、ビデオに録画してきたアメリカの家族会代表(いずれも罹患者の母)から日本の家族への

メッセージを紹介した。

研究班では患者家族への病気や遺伝子・遺伝形式などの情報を提供するために、第1回シンポジウム終

図3

コステロ症候群・CFC症候群 シンポジウム

日時 平成22年10月17日(日) 14:30~16:30

会場 国立成育医療研究センター・病院 (東京都世田谷区大蔵2-10-1)

プログラム

- 研究班の活動報告 (14:30~)
コステロ症候群・CFC症候群のこれまでの研究と今後の研究計画 (東北大学 松原洋一)
- コステロ症候群の症状と診断について (14:45~)
(お茶ノ水女子大学 川目 裕)
- CFC症候群の症状と診断について (15:05~)
(大阪府立母子総合医療センター 岡本伸彦)
- 休憩 (15:25~)
- FAXで頂いた質問に対する回答と説明 (15:35~) (研究班のメンバー)
- 質問・情報交換 (16:00~16:45)
- 閉会の挨拶 (16:45) (東北大学 松原洋一)

このシンポジウムは、平成22年度厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「コステロ症候群・CFC症候群類縁疾患の診断基準作成と治療法開発に関する研究」により補助を受けています。

研究代表者 松原洋一(東北大学)
研究分担者 青木洋子(東北大学)、大橋博文(埼玉県立小児医療センター)、結方 勤(国立成育医療センター研究所)、岡本伸彦(大阪府立母子保健総合医療センター)、川目 裕(お茶の水女子大学)、栗山進一(東北大学)、奥 繁夫(東北大学)、黒澤健司(神奈川県立こども医療センター)、水野坂司(愛知県心身障害者コロニー中央病院) 五十音順

第2回コステロ症候群・CFC症候群 シンポジウム

日時 平成23年9月19日(月・祝) 14:30~16:30

会場 国立成育医療研究センター・病院 (東京都世田谷区大蔵2-10-1)

プログラム

- 閉会の挨拶 (14:30~) (東北大学 松原洋一)
- RAS/MAPK症候群の研究最前線 (14:35~) (東北大学 青木洋子)
- 医療のなかの希少難病 (14:50~)
(神奈川県立こども医療センター 黒澤健司)
- 2011 RAS/MAPK pathway syndrome国際学会の報告 (15:05~)
(東北大学 新堀哲也)
- 質問・情報交換 (15:20~)
- 閉会の挨拶 (16:30) (東北大学 松原洋一)

このシンポジウムは、平成23年度厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「コステロ症候群・CFC症候群類縁疾患の診断基準作成と治療法開発に関する研究」により補助を受けています。

研究代表者 松原洋一(東北大学)
研究分担者 大橋博文(埼玉県立小児医療センター)、岡本伸彦(大阪府立母子保健総合医療センター)、結方 勤(国立成育医療センター研究所)、川目 裕(お茶の水女子大学)、栗山進一(東北大学)、奥 繁夫(東北大学)、黒澤健司(神奈川県立こども医療センター)、水野坂司(愛知県心身障害者コロニー中央病院) 五十音順

共催
内閣府先端研究開発基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
「RAS/MAPKシグナル伝達経路の遺伝・発現の解明とその治療戦略」
研究代表者 青木洋子(東北大学)

成育医療研究開発費「成育後少児患者の生活支援と長期予後追跡」
研究代表者 深見真紀(国立成育医療研究センター研究所)
研究分担者 松原洋一(東北大学)

了時に患者向けの疾患サマリーを作成し(コステロ症候群は川目、CFC 症候群は岡本が作成)、シンポジウム終了後に参加家族と希望者に郵送した。これに加え、研究班では分担研究者の川目を中心に患者家族向けの正式な疾患パンフレット作成を開始した。

2) 全国2次調査とその解析

青木・松原は、昨年度の全国調査の一次調査に引き続き2次調査を行い、両疾患の日本における罹患数の算出を行い、その病態について解析を行った。その結果、現時点での日本におけるコステロ症候群・CFC 症候群の患者数は、それぞれ123人(95%信頼区間, 50-202)、177人(95%信頼区間, 58-295)で、有病率はそれぞれ1.0、1.4(人口100万人対)と推定された。調査対象患者における臨床所見と合併症は表1のような頻度で観察された。

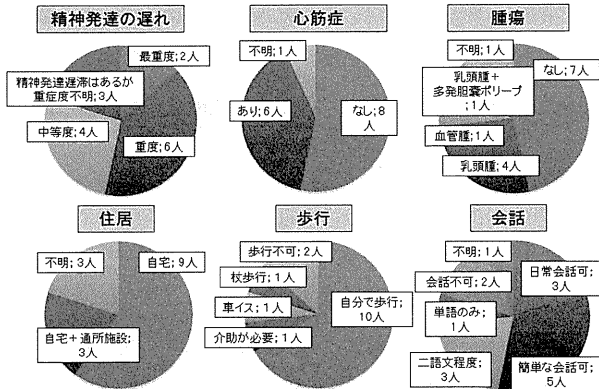
表1

	コステロ症候群 (n=35)	CFC症候群 (n=48)
成長・発達		
精神運動発達遅滞	80%	96%
成長障害	66%	31%
成長ホルモン分泌不全	14%	6%
中枢神経系		
脳構造異常	9%	8%
てんかん	17%	23%

	コステロ症候群 (n=35)	CFC症候群 (n=48)
悪性腫瘍		
腫瘍合併の有無	3%	4%
循環器		
肥大型心筋症	51%	29%
肺動脈狭窄	9%	33%
先天性心奇形	11%	25%
不整脈	46%	19%

またこれまで日本におけるコステロ症候群・CFC 症候群の成人症例は明らかでなかったが、全国調査より18-32歳の成人が15人いることが明らかになった(コステロ症候群:6人、CFC 症候群9人)。成人例における症状、これまでの腫瘍合併や、現在の生活拠点・QOL(quality of life)を調査したところ、成人例の多くは中等度から重度の精神遅滞があるものの、歩行や摂食はある程度可能で、持続的な入院はしておらず自宅で暮らしていることが明らかになった。ただ BRAF 遺伝子変異を持つ CFC 症候群2人においては寝たきりで摂食に対しても介助が必要であった。また成人例では悪性腫瘍を合併した既往を持つ罹患患者はいなかった。本研究により初めてコステロ症候群・CFC 症候群成人例の生活状況が明らかになった。

成人15人(18~32歳)の臨床像



また、これらと関連した臨床症状の詳細な検討として以下のような分担研究がおこなわれた。

大橋は、コストロ症候群の歯科口腔所見の特徴を明らかにするために MDCT を用いた検討を試みた。頭蓋顔面・歯科口腔所見の標準的評価法としては、側貌頭部 X 線規格撮影、パノラマ X 線撮影、歯型模型解析が用いられる。しかし知的障害をもつ年少時期の患児ではこれらの本人の協力を要する検査は困難であるため、その代替法として MDCT の応用を考えた。まず 6 例のヒト頭蓋骨を用いた比較検討で、MDCT はこれらの代替法として信頼性があることを確認した。次に本法を用いて本症患者 4 名（男 2 名、女 2 名；年齢は 5 ~ 7 歳）を対象に検討した。その結果、頭蓋骨に対する顔面骨の矮小化、突出傾向のある顔貌、狭窄歯列弓、歯の矮小化などの特徴をもつ傾向を認めた。本研究と連携して、研究結果の報告と歯科口腔健康管理についての情報提供、ならびに家族同士の交流を目的に年 1 回の本症の集団外来を開催し、H22 年、H23 年とも 6 家族が参加した。

水野は、MEK2 変異を持つ CFC 症候群患児の臨床所見を詳細に検討するとともに、遺伝子診断の結果をもとに行う遺伝カウンセリングのあり方について検討した。また BRAF 変異を有する CFC 症候群の 1 例において生後約 5 年間の摂食障害を示した。口腔から上部消化管において解剖学的な異常はなくまた誤嚥や流涎もないことから機能的な異常の存在も推定されず、味覚や触覚の過敏性がその原因の一つであると考えられた。

黒澤は、BRAF 遺伝子変異 CFC 症候群 3 例、HRAS 変異 Costello 症候群 3 例の自然歴をまとめた。CFC

症候群では、1) 就学後の環境の変化に敏感で、小学校後半から周期性嘔吐症や自傷行動などが目立ち始める、2) 小学校高学年から中学ころからてんかん発作が増悪傾向にある、といった点が特徴としてあげられた。こうした行動特性は、CFC 症候群の MEK1/2 変異症例や、他の RAS/MAPK 疾患と異なる。Costello 症候群では、思春期以降の心理変化も重要と考えられた。今後、より長期の医療管理に基づいた自然歴研究が必要と考えられる。

岡本は、CFC 症候群としてフォローしていた 2 例において、SHOC2 遺伝子変異が判明し、臨床像を詳細に分析した。また血管系病変をもつ類縁疾患である Macrocephaly-cutis marmorata teleangiectasia congenita 4 例について臨床像を詳細に分析した。

川目は、コストロ症候群の治療と健康管理の解明のために、摂食障害についての文献的検索を実施し、摂食障害の状況、経管栄養または胃瘻の利用状況、経口摂取の状況を検討した。この結果をもとに主任研究者によって把握された我が国の Costello 症候群の患児の摂食障害の調査を行う予定である。調査票については、同じく摂食嚥下障害を主徴にもつ CHARGE 症候群に対する摂食に関する調査票をもとに質問紙を作成した。

緒方は、文献解析により、コストロ症候群では、ヌーナン症候群に比し、粗な顔貌、幅広い鼻根部、弛緩性皮膚、加齢に伴う色素沈着増加、深い手掌・足底皮線、顔面または肛門周囲の乳頭腫、早期老化および脱毛、多源性心房性頻脈、中等度の精神遅滞、手首および指の尺骨偏位が特徴的であること、一方、CFC 症候群では、ヌーナン症候群に比しより粗な顔貌、重度の哺乳障害、毛孔性角化症、薄い眉毛と睫毛、魚鱗癬、眉毛瘢痕性紅斑、高度の精神発達遅滞が特徴的であることを明らかにした。次に、患者・家族との双方向性を維持しながら、専属スタッフが行う長期システム的设计に着手した。そして、最も重要な患者・家族への情報還元として、患者・家族への冊子・ニュースレター配布を行うこととした。

3) 遺伝子解析と新規遺伝子の探索

青木・松原は、全国調査時に遺伝子診断の希望のあった 42 例について遺伝子解析を行い、既知の遺伝

子の変異を 25 例に同定した。遺伝子変異が同定されていない患者についてはエクソーム解析を実施し、現在データを解析中である。

呉は、CGH マイクロアレイ解析によるゲノム・コピー数異常のスクリーニングを実施した。19 例のうちうち 2 例にサブテロメア領域の欠損を認め、その臨床的特徴を検討した。

4) 疾患モデルマウスの作製

コストロ症候群および CFC 症候群それぞれの、疾患モデルマウスの作製に成功した。現在、表現型の解析を実施中である。

5) その他

栗山は、小児を対象とする医学研究において、代諾者となる親権者が研究について説明された際に、どのように受け止めるかを明らかにするために、インタビュー形式を用いた半構造化面接を行い、その心理・行動様式を解析した。また胎児・新生児・小児・成人を対象とするバイオバンク構築に当たっての課題を検討した。

D. 考察

本研究期間に 2 回の患者シンポジウムを開催したが、シンポジウム参加者数は予想を大きく上回った。疾患に関する医療者からの情報提供、患者家族同士の情報交換など、熱気に包まれた中での討議がおこなわれ、シンポジウム開催の目的は十分に達せられたと考えられる。シンポジウム終了後のフリートークでは、今後の継続開催を切望する家族が多かった。今後、このネットワークを活用して、長期フォローアップ体制の構築を行っていくことが可能と思われる。

本研究にて初めてコストロ症候群・CFC 症候群の成人における生活状況が明らかになった。成人においては、BRAF 遺伝子変異を持つ 2 人以外は、精神遅滞があるものの、持続的な医療的ケアを必要とすることなく自宅で生活していた。また成人例においては悪性腫瘍の合併がなかった。しかしながら、32 歳以上の患者がどのような生活を送っているか、あるいはどのような合併症を持っているかはいまだ明らかでなく、今後成人罹患者の自然歴・合併症・腫瘍の合併頻度などが明らかにするための長期フォローアップシステムの構築が重要と考えられた。

また本研究にて、歯科的・整形外科的な合併症や摂食・睡眠障害といった患者家族に密接な問題が明らかになったが、これらの問題については患者ネットワークを活用した調査を行い、コストロ症候群および CFC 症候群患者の診療とケアの指針を提言することが重要であると考えられた。

遺伝子解析については、現在、次世代シーケンサーを用いたエクソーム解析が進行中である。

E. 結論

コストロ症候群・CFC 症候群シンポジウムを開催するとともに、全国 2 次調査にもとづく患者数の推定、臨床症状と合併症を詳細に検討した。

F. 研究発表

1. 論文発表 <2010年>

1. Kobayashi T, Aoki Y, Niihori T, Cavé H, Verloes A, Okamoto N, Kawame H, Fujiwara I, Takada F, Ohata T, Sakazume S, Ando T, Nakagawa N, Lapunzina P, Meneses AG, Gillissen-Kaesbach G, Wiczorek D, Kurosawa K, Mizuno S, Ohashi H, David A, Philip N, Guliyeva A, Narumi Y, Kure S, Tsuchiya S, Matsubara Y. Molecular and clinical analysis of RAF1 in Noonan syndrome and related disorders: dephosphorylation of serine 259 as the essential mechanism for mutant activation. *Human Mut*, 31(3):284-294. 2010
2. Rauen KA, Schoyer L, McCormick F, Lin AE, Allanson JE, Stevenson DA, Gripp KW, Neri G, Carey JC, Legius E, Tartaglia M, Schubert S, Roberts AE, Gelb BD, Shannon K, Gutmann DH, McMahon M, Guerra C, Fagin JA, Yu B, Aoki Y, Neel BG, Balmain A, Drake RR, Nolan GP, Zenker M, Bollag G, Sebolt-Leopold J, Gibbs JB, Silva AJ, Patton EE, Viskochil DH, Kieran MW, Korf BR, Hagerman RJ, Packer RJ, Melese T. Proceedings from the 2009 genetic syndromes of the Ras/MAPK pathway: From bedside to bench and back. *Am J Med Genet A* 152A:4-24,2010
3. Takanashi J, Arai H, Nabatame S, Hirai S, Hayashi S, Inazawa J, Okamoto N, Barkovich AJ. Neuroradiologic features of CASK mutations. *Am J Neuroradiol*. 2010 ;31:1619-22.
4. Kato H, Yoshida R, Tsukamoto K, Suga H, Eto H, Higashino T, Araki J, Ogata T, Yoshimura K*: Familial cases of atypical clinical features genetically diagnosed as LEOPARD syndrome (multiple lentiginos syndrome). *Int J Dermatol* 49 (10): 1146-1151, 2010.
5. Dateki S, Fukami M, Uematsu A, Kaji M, Iso M, Ono M, Mizota M, Yokoya S, Motomura K, Kinoshita E, Moriuchi H, Ogata T. Mutation and gene copy number analyses of six pituitary transcription factor genes in 71 patients with combined pituitary hormone deficiency: identification of a single patient with

- LHX4 deletion. *J Clin Endocrinol Metab* 95 (8): 4043–4047, 2010.
6. Dateki S, Kosaka K, Hasegawa K, Tanaka H, Azuma N, Yokoya S, Muroya K, Adachi M, Tajima T, Motomura K, Kinoshita E, Moriuchi H, Sato N, Fukami M, Ogata T. Heterozygous OTX2 mutations are associated with variable pituitary phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 95 (2): 756–764, 2010.
 7. Tsuyusaki Y, Yoshihashi H, Furuya N, Adachi N, Osaka H, Yamamoto K, Kurosawa K. 1p36 deletion syndrome associated with Prader-Willi-like phenotype. *Pediatr Int* 2010;52:547-550.
 8. Yamanaka M, Ishikawa H, Saito K, Maruyama Y, Ozawa K, Shibasaki J, Nishimura G, Kurosawa K: Prenatal findings of paternal uniparental disomy 14: Report of four patients. *Am J Med Genet Part A* 2010;152A:789-791.
 9. Shimizu R, Saito R, Hoshino K, Ogawa K, Negishi T, Nishimura J, Mitsui N, Osawa M, Ohashi H. Severe Peters Plus syndrome-like phenotype with anterior eye staphyloma and hypoplastic left heart syndrome: proposal of a new syndrome. *Congenit Anom* 2010 50:197-9
 10. 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
 11. Naiki M, Mizuno S, Yamada K, Yamada Y, Kimura R, Oshiro M, Okamoto N, Makita Y, Seishima M, Wakamatsu N. MBTPS2 mutation causes BRESHECK syndrome. *Am J Med Genet A*. 2011 Nov 21. [Epub ahead of print]
 12. Hozawa A, Kuriyama S, Watanabe I, Kakizaki M, Ohmori-Matsuda K, Sone T, Nagai M, Sugawara Y, Nitta A, Li Q, Ohkubo T, Murakami Y, Tsuji I. Participation in health check-ups and mortality using propensity score matched ov;51(5):397-402. *Epub* 2010 Sep 7.
 13. Kuriyama S, Nakaya N, Ohmori-Matsuda K, Shimazu T, Kikuchi N, Kakizaki M, Sone T, Sato F, Nagai M, Sugawara Y, Tomata Y, Akhter M, Higashiguchi M, Fukuchi N, Takahashi H, Hozawa A, Tsuji I. The Ohsaki Cohort 2006 Study: design of study and profile of participants at baseline. *J Epidemiol*. 2010;20(3):253-8. *Epub* 2010 Apr 10.
 14. Kuriyama S, Nakaya N, Ohmori-Matsuda K, et al. (total 17, first). The Ohsaki Cohort 2006 Study: design of study and profile of participants at baseline. *Journal of Epidemiology*, 2010; 20: 253-258.
- <2011年>
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, 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*. Oct;56(10):707-15, 2011
 2. Ohtake A, Aoki Y, Saito Y, Niihori T, Shibuya A, Kure S, Matsubara Y. Non-Hodgkin lymphoma in a patient with cardio-facio-cutaneous syndrome. *J Pediatr Hematol Oncol*, *J Pediatr Hematol Oncol*. Dec;33(8):e342-6, 2011
 3. Aizaki K, Sugai K, Saito Y, Nakagawa E, Sasaki, M, Aoki Y, Matsubara Y. Cardio-facio-cutaneous syndrome with infantile spasms and delayed myelination. *Brain Dev*. 33(2):166-9, 2011
 4. 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*. 2011 Aug 24.
 5. 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.
 6. Inoue H, Mukai T, Sakamoto Y, Kimura C, Kangawa N, Itakura M, Ogata T, Ito Y, Fujieda K: Identification of a novel mutation in the exon 2 splice donor site of the POU1F1/PIT-1 gene in Japanese identical twins with mild combined pituitary hormone deficiency. *Clin Endocrinol* 2011 Jul 2. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04165.x. [Epub ahead of print]
 7. Inoue H, Sakamoto Y, Kangawa N, Kimura C, Ogata T, Fujieda K, Qian ZR, Sano T, Itakura M. Analysis of expression and structure of the rat GH secretagogue/ghrelin receptor (Ghr) gene: roles of epigenetic modifications in transcriptional regulation. *Mol Cell Endocrinol* 345: 1–15, 2011.
 8. 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]
 9. 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]
 10. Hirai N, Matsune K, Ohashi H. Craniofacial and oral features of Sotos syndrome: Differences in patients with submicroscopic deletion and mutation of NSD1 gene. *Am J Med Genet A*. 2011 155:2933-9
 11. Zheng W, McLerran DF, Rolland B, Zhang X, Inoue M, Matsuo K, He J, Gupta PC, Ramadas K, Tsugane S, Irie F, Tamakoshi A, Gao YT, Wang R, Shu XO, Tsuji I, Kuriyama S, Tanaka H, Satoh H, Chen CJ, Yuan JM, Yoo KY, Ahsan H, Pan WH, Gu D, Pednekar MS, Sauvaget C, Sasazuki S, Sairenchi T, Yang G, Xiang YB, Nagai M, Suzuki T, Nishino Y, You SL, Koh WP, Park SK, Chen Y, Shen CY, Thornquist M, Feng Z, Kang D, Boffetta P, Potter JD. Association between body-mass index and risk of death in more than 1 million Asians. *N Engl J Med*. 2011 Feb 24;364(8):719-29.
 12. 学会発表
 1. 2010年11月2-6日 第60回アメリカ人類遺伝学会 (アメリカ、ワシントン) S. Komatsuzaki, Y. Aoki, T. Niihori, N. Okamoto, R. CM. Hennekam, S. Hopman, H. Ohashi, S. Mizuno, Y. Watanabe, H.

- Kamasaki, I. Kondo, N. Moriyama, K. Kurosawa, H. Kawame, M. Imaizumi, T. Rikiishi, S. Tsuchiya, S. Kure, Y. Matsubara. *SHOC2* mutation analysis in Noonan-like syndrome and hematologic malignancies
2. 2010年11月2-6日 第60回アメリカ人類遺伝学会 (アメリカ、ワシントン) . Yuka Saito, Yoko Aoki, Tetsuya Niihori, Akira Ohtake, Atsushi Shibuya, Kazuhito Sekiguchi, So-ichi Suenobu, Tataro Izumi, Hideki Muramatsu, Seiji Kojima, Shigeo Kure, Shigeru Tsuchiya, Yoichi Matsubara. Hematologic abnormalities associated with patients with cardio-facio-cutaneous syndrome.
 3. 2010年10月27-30日 日本人類遺伝学会第55回大会 大宮. 小松崎匠子, 青木洋子, 新堀哲也, 岡本伸彦, 大橋博文, 水野誠司, 渡辺順子, 近藤郁子, 黒澤健司, 川目裕, 今泉 益栄, 力石健, 土屋滋, 呉繁夫, 松原洋一. Noonan 症候群類縁疾患および血液腫瘍細胞における SHOC2 遺伝子変異解析
 4. 2011年5月28-31日 European Human Genetics Conference 2011 (アムステルダム、オランダ) 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.
 5. 2011年7月30日小児神経学会東海地方会 水野誠司 西恵理子 林直子 山田桂太郎 梅村紋子 倉橋宏和 丸山幸一 村松友佳子 中村みほ 熊谷俊幸 SOS1 変異による Noonan 症候群の2例 水野誠司 西恵理子 林直子 山田桂太郎 梅村紋子 倉橋宏和 丸山幸一 村松友佳子 中村みほ 熊谷俊幸
 6. 2011年7月29-31日 International meeting on genetic syndromes of the Ras/MAPK pathway (シカゴ、アメリカ) Aoki Y and Matsubara Y. Epidemiological Features of Costello and CFC Syndromes
 7. 2011年7月29-31日 International meeting on genetic syndromes of the Ras/MAPK pathway. (シカゴ、アメリカ) Tetsuya Niihori, Yoko Aoki, Yoichi Matsubara HRAS mutants identified in Costello syndrome patients can induce cellular senescence: possible implications for the pathogenesis of Costello syndrome
 8. 2011年7月29-31日 International meeting on genetic syndromes of the Ras/MAPK pathway (シカゴ、アメリカ) Y. Abe, Y. Aoki, S. Kuriyama, H. Kawame, N. Okamoto, K. Kurosawa, H. Ohashi, S. Mizuno, T. Ogata, S. Kure, T. Niihori, Y. Matsubara. Epidemiological features of Costello Syndrome and Cardio-facio-cutaneous Syndrome: findings from the first nationwide survey.
 9. 2011年8月11日 小児遺伝学会 横浜 西恵理子、村松 友佳子、谷合 弘子、水野 誠司、斎藤 由佳、青木 洋子、松原 洋一 MEK1 遺伝子の変異を認めた LEOPARD 症候群の男児例
 10. 2011年8月12日-14日 第114回日本小児科学会学術集会 東京 新堀哲也、青木洋子、阿部裕、斎藤由佳、小松崎匠子、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
 11. 2011年10月11-15日 12th International Congress of Huma Genetics (カナダ、モントリオール) Y. Abe, Y. Aoki, S. Kuriyama, H. Kawame, N. Okamoto, K. Kurosawa, H. Ohashi, S. Mizuno, T. Ogata, S. Kure, T. Niihori, Y. Matsubara. Epidemiological features of Costello Syndrome and Cardio-facio-cutaneous Syndrome: findings from the first nationwide survey.
 12. 2011年11月9-12日 日本人類遺伝学会第56回大会 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
 13. 2011年11月9-12日 日本人類遺伝学会第56回大会 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
 14. 2011年11月26日 東京 第47回遺伝医学研究会 黒澤健司 遺伝医療における Dysmorphology
- 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
 3. その他

II. 分担研究報告

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
コステロ症候群・CFC症候群類縁疾患の全国調査と新規原因遺伝子の探索

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

コステロ症候群・CFC (cardio-facio-cutaneous) 症候群は、特異的顔貌・心疾患・骨格異常・精神遅滞・皮膚症状・易発がん性を示す常染色体優性遺伝性疾患である。2005～2006年に私たちがはじめてこれらの症候群の原因遺伝子を同定し、遺伝子診断が可能となって以来、相次いで患者が発見されるようになった。しかしながら、いずれも疾患研究の歴史が浅く症例数も少ないため、その自然歴や長期予後は不明である。今年度の本研究では、平成22年に引き続き、両疾患の患者・家族と臨床医・研究者を交えたシンポジウムをわが国で初めて開催し、情報提供と意見交換を行った。全国から25家族84名の参加を得て活発な交流が行われた。つぎに、平成21年度に開始した全国調査に引き続き2次調査を行い、両疾患の日本における罹患数の算出を行い、その病態や合併症について解析を行った。これらの調査で18-32歳の成人患者15人の生活状況・合併症について初めて明らかになった。また全国調査時に遺伝子診断の希望のあった症例について、既知遺伝子の遺伝子解析を行うとともに、新規病変遺伝子の探索のためにエクソーム解析を開始した。本研究により、日本において初めて両疾患の罹患数と有病率が推定でき、成人における生活歴や合併症が明らかになった。

研究協力者

青木洋子（東北大学・大学院医学系研究科）
新堀哲也（東北大学・大学院医学系研究科）
井上晋一（東北大学・大学院医学系研究科）
阿部 裕（東北大学・大学院医学系研究科）
斎藤由佳（東北大学・大学院医学系研究科）
井泉瑠美子（東北大学・大学院医学系研究科）

A. 研究目的

コステロ症候群およびCFC (cardio-facio-cutaneous) 症候群は、中等度～重度の精神遅滞や発達障害を示し、そのなかには経口摂取や歩行を獲得できず生涯介護が必要なケースも知られている。しかしながら、いずれの疾患についてもその研究の歴史は浅く、とくに遺伝子診断が導入されて他の類似疾患との明確な鑑別が可能となってからは、まだ5年しか経過していない。そのため、各疾患の自然歴や長期予後は不明である。さらに、患児（患者）の育児・教育・療育・介護における問題点や課題についても不明な点が多く、患者家族の戸惑いが大きい。本研究班では、両症候群の診断

基準の作成、患者数の把握、臨床症状及び合併症の把握、遺伝子型／表現型相関解析、さらに分子標的治療法開発の検討を目的としている。

B. 研究方法

- 1) コステロ症候群・CFC症候群シンポジウムを平成22年度に引き続き平成23年度も開催した。
- 2) 全国2次調査を実施し、患者数の推定をおこなうとともに、合併症や臨床像を検討した。これまで明らかでなかった成人例のQOL(quality of life)について詳細な調査を行った。
- 3) 遺伝子解析と新規遺伝子の探索をおこなった。
- 4) 疾患モデルマウスの作製をおこなった。

（倫理面への配慮）

遺伝子解析本研究における遺伝子解析研究は3省庁の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に沿って行った。本研究は、すでに東北大学医学部倫理委員会の承認を得ている（承認番号2006-233）。また疫学研究に関しては疫学研究に関する倫理指針に

沿って行った。疫学研究に関しては、東北大学医学部倫理委員会の承認を得ている（承認番号 2009-256）。

C. 研究結果

1) コステロ症候群・CFC 症候群シンポジウムの開催
他の分担研究者らとともに、コステロ症候群および CFC (cardio-facio- cutaneous) 症候群の患者・家族と臨床医・研究者を交えたシンポジウムを平成 22 年度に引き続き開催し、情報提供と意見交換を行った(図 3)。平成 23 年度の第 2 回シンポジウムでは、25 家族 84 名の参加を得て活発な交流が行われた。

前半は研究班からの講演を行ったが後半には患者家族からの質問と班員による回答、あるいは全体での討議であったが、①睡眠障害による対応②摂食障害に対する工夫(食べるきっかけになる食物、与え方など)③けいれんに対する治療④日本とアメリカにおける歩行訓練・療育の相違⑤療育と保育との優先順位、などが患者家族からの問題点として挙げられた。このうち摂食障害については研究班からのアンケートを行うことを予定している。

また平成 23 年度のシンポジウムでは、2011 年 8 月にアメリカシカゴで行われた International meeting on genetic syndromes of the Ras/MAPK pathway における研究発表の内容についても患者家族に報告した。またその際ビデオに録画してきたアメリカの家族会代表(いずれも罹患者の母)から日本の家族へのメッセージを紹介した。

2) 全国 2 次調査とその解析

青木・松原は、昨年度の全国調査の一次調査に引き続き 2 次調査を行い、両疾患の日本における罹患数の算出を行い、その病態について解析を行った。その結果、現時点での日本におけるコステロ症候群・CFC 症候群の患者数は、それぞれ 123 人(95%信頼区間, 50-202)、177 人(95%信頼区間, 58-295)で、有病率はそれぞれ 1.0、1.4(人口 100 万人対)と推定された。調査対象患者における臨床所見と合併症は表 1 のような頻度で観察された。

表 1

またこれまで日本におけるコステロ症候群・CFC 症候群の成人症例は明らかでなかったが、全国調査より 18-32 歳の成人が 15 人いることが明らかになった

(コステロ症候群：6 人、CFC 症候群 9 人)。成人例における症状、これまでの腫瘍合併や、現在の生活拠点・QOL(quality of life)を調査したところ、成人例の多くは中等度から重度の精神遅滞があるものの、歩行や摂食はある程度可能で、持続的な入院はしておらず自宅で暮らしていることが明らかになった。ただ BRAF 遺伝子変異を持つ CFC 症候群 2 人においては寝たきりで摂食に対しても介助が必要であった。また成人例では悪性腫瘍を合併した既往を持つ罹患者はいなかった。本研究により初めてコステロ症候群・CFC 症候群成人例の生活状況が明らかになった。

3) 遺伝子解析と新規遺伝子の探索

青木・松原は、全国調査時に遺伝子診断の希望のあった 42 例について遺伝子解析を行い、既知の遺伝子の変異を 25 例に同定した。遺伝子変異が同定されていない患者についてはエクソーム解析を実施し、現在データを解析中である。

4) 疾患モデルマウスの作製

コステロ症候群および CFC 症候群それぞれの、疾患モデルマウスの作製に成功した。現在、表現型の解析を実施中である。

D. 考察

本研究期間に 2 回の患者シンポジウムを開催したが、シンポジウム参加者数は予想を大きく上回った。疾患に関する医療者からの情報提供、患者家族同士の情報交換など、熱気に包まれた中での討議がおこなわれ、シンポジウム開催の目的は十分に達せられたと考えられる。シンポジウム終了後のフリートークでは、今後の継続開催を切望する家族が多かった。今後、このネットワークを活用して、長期フォローアップ体制の構築を行っていくことが可能と思われる。

本研究にて初めてコステロ症候群・CFC 症候群の成人における生活状況が明らかになった。成人においては、BRAF 遺伝子変異を持つ 2 人以外は、精神遅滞があるものの、持続的な医療的ケアを必要とすることなく自宅で生活していた。また成人例においては悪性腫瘍の合併がなかった。しかしながら、32 歳以上の患者がどのような生活を送っているか、あるいはどのような合併症を持っているかはいまだ明らかでなく、今後成人罹患者の自然歴・合併症・腫瘍の合併頻度などが明

らかにするための長期フォローアップシステムの構築が重要と考えられた。

また本研究にて、歯科的・整形外科的な合併症や摂食・睡眠障害といった患者家族に密接な問題が明らかになったが、これらの問題については患者ネットワークを活用した調査を行い、コストロ症候群およびCFC症候群患者の診療とケアの指針を提言することが重要であると考えられた。

遺伝子解析については、現在、次世代シーケンサーを用いたエクソーム解析が進行中である。

E. 結論

コストロ症候群・CFC症候群シンポジウムを開催するとともに、全国2次調査にもとづく患者数の推定、臨床症状と合併症を詳細に検討した。

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, 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.* Oct;56(10):707-15, 2011
2. Ohtake A, Aoki Y, Saito Y, Niihori T, Shibuya A, Kure S, Matsubara Y. Non-Hodgkin lymphoma in a patient with cardio-facio-cutaneous syndrome. *J Pediatr Hematol Oncol, J Pediatr Hematol Oncol.* Dec;33(8):e342-6, 2011
3. Aizaki K, Sugai K, Saito Y, Nakagawa E, Sasaki, M, Aoki Y, Matsubara Y. Cardio-facio-cutaneous syndrome with infantile spasms and delayed myelination. *Brain Dev.* 33(2):166-9, 2011
4. 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.* 2011 Aug 24.

2. 学会発表

1. 2010年11月2-6日 第60回アメリカ人類遺

伝学会 (アメリカ、ワシントン) S. Komatsuzaki, Y. Aoki, T. Niihori, N. Okamoto, R.C.M. Hennekam, S. Hopman, H. Ohashi, S. Mizuno, Y. Watanabe, H. Kamasaki, I. Kondo, N. Moriyama, K. Kurosawa, H. Kawame, M. Imaizumi, T. Rikiishi, S. Tsuchiya, S. Kure, Y. Matsubara. SHOC2 mutation analysis in Noonan-like syndrome and hematologic malignancies

2. 2010年11月2-6日 第60回アメリカ人類遺伝学会 (アメリカ、ワシントン) . Yuka Saito, Yoko Aoki, Tetsuya Niihori, Akira Ohtake, Atsushi Shibuya, Kazuhito Sekiguchi, So-ichi Suenobu, Tataro Izumi, Hideki Muramatsu, Seiji Kojima, Shigeo Kure, Shigeru Tsuchiya, Yoichi Matsubara. Hematologic abnormalities associated with patients with cardio-facio-cutaneous syndrome.

3. 2010年10月27-30日 日本人類遺伝学会第55回大会 大宮. 小松崎匠子, 青木洋子, 新堀哲也, 岡本伸彦, 大橋博文, 水野誠司, 渡辺順子, 近藤郁子, 黒澤健司, 川目裕, 今泉 益栄, 力石健, 土屋滋, 呉繁夫, 松原洋一. Noonan 症候群類縁疾患および血液腫瘍細胞における SHOC2 遺伝子変異解析

6. 2011年7月29-31日 International meeting on genetic syndromes of the Ras/MAPK pathway (シカゴ、アメリカ) Aoki Y and Matsubara Y. Epidemiological Features of Costello and CFC Syndromes

7. 2011年7月29-31日 International meeting on genetic syndromes of the Ras/MAPK pathway. (シカゴ、アメリカ) Tetsuya Niihori, Yoko Aoki, Yoichi Matsubara. HRAS mutants identified in Costello syndrome patients can induce cellular senescence: possible implications for the pathogenesis of Costello syndrome

8. 2011年7月29-31日 International meeting on genetic syndromes of the Ras/MAPK pathway (シカゴ、アメリカ) Y. Abe, Y. Aoki, S. Kuriyama, H. Kawame, N. Okamoto, K. Kurosawa, H. Ohashi, S. Mizuno, T. Ogata, S. Kure, T. Niihori, Y. Matsubara. Epidemiological features of Costello Syndrome and Cardio-facio-cutaneous Syndrome: findings from the first nationwide survey.

9. 2011年8月11日 小児遺伝学会 横浜 西恵理子, 村松 友佳子, 谷合 弘子, 水野 誠司, 斎藤由佳, 青木 洋子, 松原 洋一 MEK1 遺伝子の変異を認めた LEOPARD 症候群の男児例

10. 2011年8月12日-14日 第114回日本小児科学会学術集会 東京 新堀哲也、青木洋子、阿部裕、斎藤由佳、小松崎匠子、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
11. 2011年10月11-15日 12th International Congress of Human Genetics (カナダ、モントリオール) Y. Abe, Y. Aoki, S. Kuriyama, H. Kawame, N. Okamoto, K. Kurosawa, H. Ohashi, S. Mizuno, T. Ogata, S. Kure, T. Niihori, Y. Matsubara, Epidemiological features of Costello Syndrome and Cardio-facio-cutaneous Syndrome: findings from the first nationwide survey.
12. 2011年11月9-12日 日本人類遺伝学会第56回大会 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
13. 2011年11月9-12日 日本人類遺伝学会第56回大会 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
- H. 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

コステロ症候群・CFC症候群類縁疾患の診断基準作成と治療法開発に関する研究 追跡調査における分子診断の重要性

研究分担者 緒方勤
浜松医科大学 小児科 教授

研究要旨

コステロ症候群とCFC (cardiofaciocutaneous) 症候群は、共にヌーナン症候群類縁疾患と位置づけられている先天奇形症候群である。これらの症候群は、ヌーナン症候群以外にもスク数の疾患と類似する表現型を示すために、正確な臨床診断と遺伝子診断が欠かせない。特にコステロ症候群患者の約10%に悪性固形腫瘍（黄紋筋肉腫や神経芽細胞腫など）を生じることから、ヌーナン症候群をはじめとする疾患との鑑別が重要となる。さらに、これらの患者の長期予後に関するデータはほとんどない。

本年度、われわれは、コステロ症候群、ヌーナン・CFC症候群において遺伝子解析を行い、稀な遺伝子変異あるいは稀な遺伝子型-表現型関連性を同定した。まず、軽度の発達遅滞と幼児期発症肥大型心筋症のためコステロ症候群と診断された患者において、世界で2例目となるHRAS 遺伝子のK117R 変異を同定した。この変異は、コステロ症候群では極めて稀なものであり、本症例が腫瘍発症を伴わないことに一致すると考えられる。また、心筋症が小児期に存在するときには、コステロ症候群を含むヌーナン症候群およびその類縁疾患の存在を推測することの重要性が示唆される。次に、比較的重度の精神運動発達遅滞のためにヌーナン症候群あるいはCFC症候群のいずれかと考えられた症例において、ヌーナン症候群で高頻度に認められるPTPN11遺伝子のN308D 変異を同定した。本症例はヌーナン症候群においても比較的重度の精神運動発達遅滞が見られることを示すものである。以上の結果は、K117R 変異がおそらく通常のコステロ症候群と異なり易腫瘍発症性を伴わないこと、また、一般的なPTPN11変異でも比較的重度の精神運動発達遅滞を伴うことを示すことなど、遺伝子解析のデータが長期予後の追跡に有用な情報となることを示すものである。

A. 研究目的

コステロ症候群とCFC (cardiofaciocutaneous) 症候群は、共にヌーナン症候群類縁疾患と位置づけられている先天奇形症候群である。これに一致して、これらの症候群は、ヌーナン症候群同様、Ras/MAPKシグナル伝達経路の機能亢進に起因する。そして、現在までに、コステロ症候群はHRAS 遺伝子、CFC症候群はKRAS、BRAF、MEK1、MEK2 遺伝子の機能亢進変異により発症することが知られている。

これらの症候群では、遺伝子診断が大きく2つの点で重要である。第1に、これらの症候群はヌーナン症候群以外にも複数の疾患と類似する表現型を示すために、その正確な臨床診断はしばしば困難である。したがって、最終的に遺伝子変異が同定され

ることで確定診断が可能となることが稀ではない。第2に、遺伝子型-表現型解析から、同じ遺伝子の変異でも、その部位により重症度や合併症が異なることが知られている。

本年度、われわれは、コステロ症候群、ヌーナン・CFC症候群において遺伝子解析を行い、稀な遺伝子変異あるいは稀な遺伝子型-表現型関連性を同定し、そのデータが長期追跡に極めて有用であることを見いだした。

B. 研究方法

遺伝子解析：Ras/MAPK 経路に存在する全てのヌーナン症候群、コステロ症候群、CFC 症候群責任遺伝子を解析した。そして、臨床診断と遺伝子診断が不一致であった症例および遺伝子診断が長期追跡

に有用と考えられる症例についてまとめた。

（倫理面への配慮）

遺伝子解析にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究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

コステロ症候群患者

- 症例報告：9歳女児。在胎39週、3754g(+1.7SD)で出生した。数日後から哺乳不良と頻回の嘔吐を認め紹介となった。経管栄養を行ったが嘔吐のため体重増加が不良であり胃瘻を増設した。経過中に軽度の発達遅滞を認め、1歳5ヶ月の時に肥大型心筋症が確認され、コステロ症候群においてもっとも特徴的なカールした毛髪はみられなかったが、総合的にコステロ症候群と診断された。3歳の時に-3SDの低身長とGH分泌不全を認め、GH補充療法を行った。現在の身長は-1SDまで改善し、今のところ鼻周囲の乳頭腫および悪性腫瘍の発生は認められていない。
- 遺伝子診断：HRAS 遺伝子において、K117R 変異が同定された。これは、世界で2例目となる希少変異である。

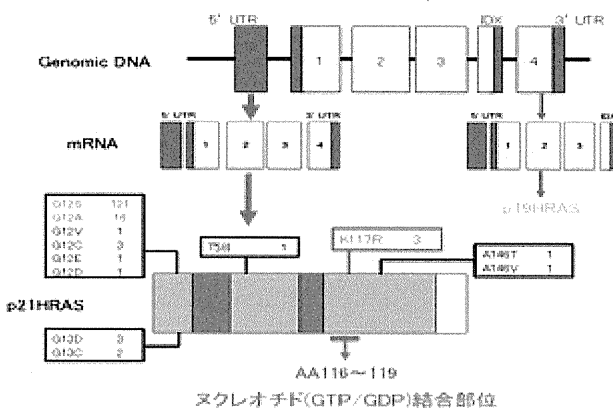


図1. 症例で同定された HRAS 遺伝子の K117R 変異の部位。

ヌーナン・CFC 症候群患者

- 症例報告：3歳男児。在胎40週、2.9kgで出

生した。精神運動発達遅滞のため発達医療センターでフォローされており、3歳時のIQ=60であった。低身長(-3.3SD)のため紹介され、眼間乖離、眼裂斜下、停留精巣、比較的頭囲拡大(-0.5SD)が認められた。CFC 症候群に特徴的な薄く縮れた細くてもろい毛髪、薄い眉毛や睫毛は明瞭ではなかったが、比較的重度の精神運動発達遅滞から、ヌーナン症候群あるいはCFC 症候群のいずれかと考えられた。

- 遺伝子診断：PTPN11 遺伝子において、ヌーナン症候群で高頻度に認められる N308D 変異が同定された。このため、最終的に比較的重度の精神運動発達遅滞を伴うヌーナン症候群と診断された。

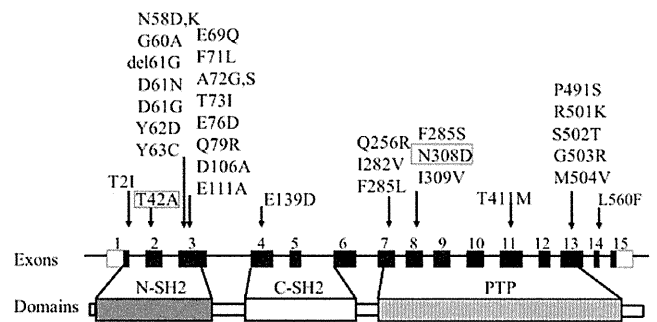


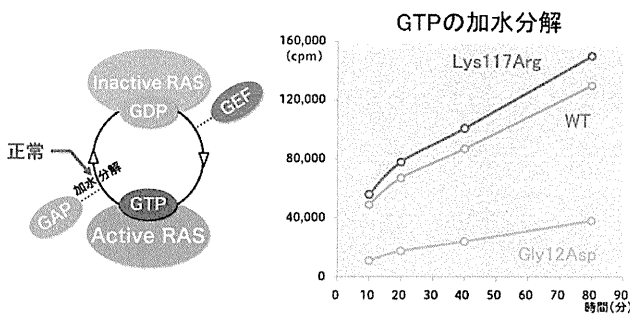
図2. 本邦ヌーナン症候群患者における PTPN11 遺伝子変異の分布。

D. 考察

コステロ症候群患者

今回のコステロ症候群患者の特徴は、症状が比較的軽度であること、および、極めて稀な変異が同定されたことである。現在までに、典型的なコステロ症候群の症状をもつ患者の約85%にHRAS 遺伝子のミスセンス変異が同定されており、そのほぼ全てがコドン12(および13)に集中している。そして、G12SあるいはG12Aを持つコステロ症候群患者は易腫瘍発症性を有し、さらに、これらの変異は非コステロ症候群患者において種々の腫瘍組織で体細胞変異として検出されている。一方、それ以外の変異を持つコステロ症候群患者の腫瘍発症率は明らかに低い。したがって、本症例のデータは、遺伝子解析が腫瘍発症の観点から長期予後の推測に有用

であることを示唆する。そして、変異のほとんどを占める G12S や G12A と比較すると、K117R 変異は GTP の加水分解能に障害は認めず、代わりに GDP の解離が促進することが報告されており、これらの分子レベルでの機能の差により表現型の相違が生じる可能性がある（図 3）。



◎Lys117Arg変異のGTP加水分解能はWTと同等
◎高頻度変異部位の特徴であるGTP加水分解障害は認めない

図 3. K117R 変異の機能解析。

さらに、本症例では、心筋症がコストロ症候群の診断契機となっていることが注目される。心筋症は思春期前小児では稀であり、また、思春期以降、男性に有意に高頻度で発症し、その原因としてテストステロンの関与が想定されている。したがって、本症例は、コストロ症候群としての所見が軽度であっても、心筋症が小児期に存在するときには、コストロ症候群を含むヌーナン症候群およびその類縁疾患の存在を推測することの重要性を示すものである。

ヌーナン・CFC 症候群患者

本症例は、臨床的にはヌーナン症候群と CFC 症候群の鑑別が困難であったが、PTPN11 遺伝子において、ヌーナン症候群で高頻度に認められる N308D 変異が同定されたことから最終診断はヌーナン症候群とされた（図 3）。この症例は、このような臨床診断が判然としない症例における遺伝子診断の有用性を示すと共に、ヌーナン症候群においても比較的重度の精神運動発達遅滞が見られることを示すものである。

E. 結論

非典型的なコストロ症候群患者とヌーナン・CFC

症候群患者において遺伝子診断を行った。前者ではコストロ症候群では極めて稀な HRAS 遺伝子の K117R 変異が、後者ではヌーナン症候群で高頻度に認められる PTPN11 遺伝子の N308D 変異が同定された。この結果は、K117R 変異がおそらく通常のコストロ症候群と異なり易腫瘍発症性を伴わないこと、また、一般的な PTPN11 変異でも比較的重度の精神運動発達遅滞を伴うことを示すことなど、遺伝子解析のデータが長期予後の追跡に有用な情報となることを示すものである。

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.

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

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).

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

2. 学会発表

RASopathy 遺伝子 CNV の先天異常発生への影響

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

細胞増殖・分化を誘導するシグナル伝達系 RAS pathway の異常が、Noonan 症候群 (PTPN11, KRAS, SOS1, SHOC2, NRAS)、Costello 症候群 (HRAS)、神経線維腫症 1 型 (NF1)、CFC 症候群 (BRAF, MEK1, MEK2, KRAS) などの奇形症候群の原因となることが知られ、RASopathy と総称される。今回我々は、ハプロ不全で発症する RASopathy の可能性を検討することを目的として、原因不明多発奇形においてマイクロアレイ CGH 解析によるスクリーニングを行った。3 例に pathogenic CNV を認め、うち 1 例はデータベース上同様症例が存在する可能性が示唆された。NF1 微細欠失は、本来の神経線維腫症 1 型とは異なった臨床像を呈することから、同様症例の可能性を念頭に入れて、初期発生における RAS-MAP 系の影響をヒト先天異常症例で検討する必要があると考えられた。

A. 研究目的

細胞増殖および分化をもたらすシグナル伝達系の一つである RAS pathway の異常が、Noonan 症候群 (PTPN11, KRAS, SOS1, SHOC2, NRAS)、Costello 症候群 (HRAS)、神経線維腫症 1 型 (NF1)、CFC 症候群 (BRAF, MEK1, MEK2, KRAS) などの奇形症候群の原因となることが知られ、これらの疾患を RASopathy と総称されることがある。これらは、同じシグナル伝達経路の異常としてまとめられるが、実際の症状においてもオーバーラップすることがあり、極めて合理的な分類であると考えられる。RASopathy の発症を導く遺伝子変異の多くは、missense 変異であり、現在まで NF1 を除いてゲノムの微細欠失 (ハプロ不全)、あるいは微細重複 (over dosage) で発症し

た疾患は知られていない。また、GeneReviews の Noonan 症候群の項においてもハプロ不全による発症の記載はない。しかし、実際には RAS-MAP 系異常として広く解釈するなら、PTEN 異常 (Bannayan-Riley-Ruvalcava 症候群、Cowden 症候群)、TSC2 異常 (結節性硬化症 2 型) などハプロ不全で発症する疾患は確かに存在し、それぞれの因子の機能と位置によりハプロ不全などゲノムのコピー数変化が pathway のバランスの乱れを引き起こし、疾患発症をもたらすことがわかる。近年のマイクロアレイ CGH の普及により、ゲノムコピー数変化 (CNV) と臨床症状の相関関係が明らかになりつつあり、多くのデータベースが構築されつつある。Genotype first という言葉で象徴されるよ