

201231072A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（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 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 黒澤 健司

平成 25 年（2013）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	1
黒澤健司	

II. 分担研究報告

ヤング・シンプソン症候群のエクソーム解析	7
黒澤健司	

ヒストン修飾異常症としてのヤング・シンプソン症候群と Rubinstein-Taybi 症候群の臨床像の比較 検討	12
升野光雄	

先天性奇形症候群の地域ベースでのサポート体制に関する研究	17
近藤達郎	

Young-Simpson 症候群と類似した特徴を有した 16p13.3 重複症候群の女兒例の臨床像に関する研究	19
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—3— (性腺機能その2)	24
安達昌功	

希少難病の健康管理を目的とした症候群カードの作成	26
山内泰子	

III. 資料	31
---------	----

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	39
--------------------	----

V. 研究成果に関する刊行物・別刷	43
-------------------	----

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

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

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

当研究グループでは Exome 解析により Young-Simpson 症候群の原因遺伝が *KAT6* であることを明らかにし、これまで 5 例の典型例に置いて *KAT6B* exon 18 に病因と考えられる変異を検出してきた。今回、変異が検出されなかった Young-Simpson 症候群において再度 Exome 解析を行い、これまで変異が検出されなかった *KAT6B* exon 16 に non-sense 変異を検出した。これで典型例 7 例全てに *KAT6B* の変異を検出したことになる。変異解析で得られた確定症例を中心として、ヒストン修飾異常症としての発症メカニズム、内分泌学低特性、患者家族への情報の還元の検討と疾患理解の一つの方法としての「症候群カード」の作成、本症候群を含めた先天異常疾患の地域ベースでのサポート体制の在り方、類似症例の臨床像の異同、などをまとめた。依然として病態の解明は今後の課題であり、症例をさらに増やして遺伝子型－表現型の相関関係を明らかにし、さらに iPS 細胞やモデル動物による病態の解析が重要と考えられた。

分担研究者

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
近藤達郎 総合発達医療福祉センター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 臨床第一部長
安達昌功 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内分泌代謝科 部長
山内 泰子 川崎医療福祉大学医療福祉学部医療福祉学科 准教授

研究協力者

町田治郎 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整形外科 部長
黒田友紀子 同 遺伝科 医師
大橋育子 同 遺伝科 医師
成戸卓也 同 研究員
井田一美 同 研究員
西川智子 同 認定遺伝カウンセラー
榎本啓典 JA とりで総合医療センター小児科 医師
富永牧子 昭和大学横浜市北部病院小児科 医師

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）。わが国からも報告があり（Masuno, Am J Med Genet, 1999; Kondoh, Am J Med Genet, 2000）、Masunoら（1999）、Kondohら（2000）により、疾患の全体像が明確にされた。その病因・病態は長く不明であったが、Clayton-Smithら（2011）らによって Exome 解析により責任遺伝子が *KAT6B/MYST4* と同定された。さらに Genitopatellar 症候群も *KAT6B/MYST4* の変異を原因とすることが判明し（Simpson et al., 2012; Campeau et al., 2012）、病因解明が進んだ。我々の研究グループも、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」以後、exome による責任遺伝子の同等に至ったが、残念ながら後塵を拝する結果となった（平成 23 年度報告書）。これまで、典型例 7 例のうち遺伝子解析を行った 6 例中 5 例に *KAT6B* exon 18 に病因と考えられる変異を検出した。しかし、典型例と考えられた 1 例では *KAT6B/MYST4* の exon 18 に変異を認めず、遺伝子型－表現型を考える上での課題となっていた。

今回、最終年度として、1) ヤング・シンプソン症候群の診断基準に基づいた正しい診断による疑い例再評価－exome 解析の再度導入、2) 遺伝子診断に基づいた臨床症状の再評価、医療管理指針の見直し、3) 遺伝子型－表現型の相関の解明、4) 遺伝子診断に基づく正しい情報の公開還元、などを課題として取り組んだ。

B. 研究方法

1) ヤング・シンプソン症候群変異未検出例における探索的 Exome 解析（黒澤）

対象は、典型例と考えられながら *KAT6B* exon 18 に変異が検出されなかった女性で、臨床評価及び症状は、これまで報告されて期。診断基準：1) 精神遅滞、2) 眼症状、3) 骨格異常、4) 内分泌学的異常、5) 外性器異常、6) 除外診断、の 6 項目のうち、5) 以外は満たしている。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。父母の exome 解析を同時に行う trio 解析の方法を採用した。exome 解析に関する方法論の概要は、ほぼ昨年と同様である。

SureSelect Human All Exon 50MB Kit

(Agilent) を用いてライブラリー作成（自動化）し、HiSeq2000 で解析を行った。得られたデータの処理には各種パイプラインを構築した。今回、データ解析は国立遺伝学研究所、理化学研究所、こども医療センターの 3 つの施設で行い、結果の確定を行った。

2) ヒストン修飾異常症としてのヤング・シンプソン症候群と Rubinstein-Taybi 症候群の臨床像の比較検討（升野）

遺伝子解析診断確定症例 5 例の臨床症状と Rubinstein-Taybi 症候群症例の臨床特徴を比較し、文献的考察を加えた。

3) 先天性奇形症候群の地域ベースでのサポート体制に関する研究（近藤）

平成 24 年 12 月 2 日（日）に長崎大学医学部記念講堂で開催した企画を中心にとめた。シンポジウムは、長崎大学市民公開講座として周知された。当日来られた

方々にアンケート調査おこなった。

4) Young-Simpson 症候群と類似した特徴を有した 16p13.3 重複症候群の女兒例の臨床像に関する研 (水野)

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眼瞼裂狭小と精神遅滞を有する 3 歳女兒。遺伝学的検査としてのマイクロアレイ解析の結果及び過去の報告情報を交えて考察した。

5) ヤング・シンプソン症候群の内分泌学的特性の検討-3- (性腺機能その 2) (安達)

自験の症例につき、詳細な性腺機能の検討を行った。こども医療センターで診断された症例を抽出し、診療録より性腺機能に関連する臨床症状及び検査所見をまとめた。

6) 希少難病の健康管理を目的とした症候群カードの作成 (山内)

疾患についての情報が少ない稀少疾患の患者家族や関わる方々の支援には何が求められているか、チーム医療の一員である認定遺伝カウンセラーの視点から研究することが目的であった。患者会は患者家族にとって研究成果を含む新たな情報を得る上に、同じ疾患をもつ子供たちとその家族と話ができる場となり、

「YOUNG-SYMPSON SYNDROME CARE CARD」を考案に至った。試作段階で患者家族の意見を頂き、利便性に配慮した (携帯しやすいカードサイズ)。

(倫理面への配慮)

解析にあたっては施設内倫理審査を経たのちに、本人あるいは代諾者 (主に親) の

文書による同意を得て行った。

C・D. 研究結果と考察

1) ヤング・シンプソン症候群変異未検出例における探索的 Exome 解析 (黒澤)

最終的に *TRPC4AP* を得たが、*TRPC4AP* の機能が臨床症状と結びつかず、再度の検証を行った。その結果、*HLA-DQB1* (劣性ホモ変異)、*KAT6B* (de novo)、*OLFMI* (複合ヘテロ) の 3 つの変異に絞り込んだ。さらにこども医療センターでも GATK を中心とした pipeline の整備により追加再検討を行った結果、*KAT6B* を含む 112 の Predicted damaging に絞り込むことができた。最終的に、*KAT6B* exon 16 c.C2473T (Q825X) の従来変異が報告されないエクソン領域の新しい変異であることが判明した。現在まで 27 例において *KAT6B* の変異が報告され、表現型としては

Say-Barber/Biesecker/Young-Simpson 症候群が 15 例 (Clayton-Smith et al., 2011; Szakszon et al., 2013)、Genitopatellar 症候群が 11 例 (Simpson et al., 2012; Campeau et al., 2012)、Noonan 症候群様表現型例が 1 例 (Kraft et al., 2011) となっている。

Young-Simpson 症候群

(Say-Barber/Biesecker/Young-Simpson 症候群) と Genitopatellar 症候群では、顔貌などの表現型は極めて共通するものの、長い拇指趾、涙管異常などは、Young-Simpson 症候群に有意に多いとされる。また、変異の局在も両症候群で異なり、

Young-Simpson 症候群が Ser-rich および Met-rich な transcriptional activation 領域 (*KAT6B* exon 18, 3' 末端側) に集中しているのに対して、Genitopatellar 症候群は Asp/Glu-rich な Acidic region (同 exon 18, 5' 側) に集中している。Exon 18 以外の領域

では、exon 3 (表現型は SBBYSS) に 1 例、exon 15 (表現型は、atypical SBBYSS) に 1 例、intron 3 (表現型は Noonan-like) に 1 例のみである。Exon 16 での変異は、本例が最初である。Young-Simpson 症候群類縁疾患である X 連鎖 Ohdo 症候群も exome 解析により *MED12* が原因遺伝子であることが判明した (van-Silfout et al., 2013)。現在まで、解析を行った全ての症例でこれらの *KAT6B* および類縁疾患責任遺伝子で説明がなされるわけではなく、依然として臨床症状を共通に持ちながら、変異未同定症例が少なくない。今後、類縁疾患の責任遺伝子同定は勿論、変異がなぜこうした複雑な病態をもたらすのかをモデル動物や iPS 細胞を用いて解析を進めることが課題となる。

2) ヒストン修飾異常症としてのヤング・シンプソン症候群と Rubinstein-Taybi 症候群の臨床像の比較検討 (升野)

ヒストンアセチル化異常を原因とするヤング・シンプソン症候群と

Rubinstein-Taybi 症候群の臨床症状の比較をおこなった。まったく原因遺伝子が異なりながらその臨床特徴に多くの共通点があり、新しい疾患概念の可能性が考えられた。RSTS では腫瘍発生もあり、ヤング・シンプソン症候群の医療管理上共通点を考慮に入れることは重要と思われた。今後、iPS 細胞での解析や次世代シーケンサーを用いた解析が課題となる。

3) 先天性奇形症候群の地域ベースでのサポート体制に関する研究 (近藤)

今回、「ハンディを負った方々が地域社会で幸せに生活するために」というテーマでシンポジウムを開催した。様々な障害の

種類での現状は、幸せに暮らせるまでには至っていないと言う意見も少なくないが、まずまずと思われている方も散見された。今後、何か問題なのかを明確にしつつ、このような試みを進めていく必要があると思われる。

4) Young-Simpson 症候群と類似した特徴を有した 16p13.3 重複症候群の女児例の臨床像に関する研 (水野)

眼瞼裂狭小精神遅滞の女児例を経験し、マイクロアレイ解析にて 16p13.3 領域の中間部重複を認め 16p13.3 重複症候群と診断した。過去の報告例より本症は眼瞼裂狭小と眼瞼下垂、関節拘縮の頻度が高く、ヤング・シンプソン症候群を始めとする眼瞼裂狭小精神遅滞の症候群の鑑別診断の一つであると考えられた。母指の形態の違いが両症候群の鑑別のポイントである。

5) ヤング・シンプソン症候群の内分泌学的特性の検討-3- (性腺機能その 2) (安達)

ヤング・シンプソン症候群における性腺機能低下症は、女性に比し男性でより高頻度であった (女性 50%、男性 100%)。自験の男性では、4 名全員が生下時より停留精巣を呈していた。このうち成人年齢となった 1 名では、明らかな中枢性性腺機能低下の所見を呈していた。自験女性の 2 名では、1 例が続発性無月経で 14 歳時より治療中であった。内分泌検査では、原発性卵巣機能低下症を示唆する所見であった。他の 1 例は現在 22 歳で、不定期な月経を認めている。多数例での長期的な性腺機能の検討が必要である。

6) 希少難病の健康管理を目的とした症候

群カードの作成（山内）

ヤング・シンプソン症候群の本人やその家族を対象として実施された3回の患者・家族会「ヤング・シンプソン症候群の会」におけるアンケートを通じて明らかになった問題の解決策として、希少疾患の患者家族や関わる方々の支援を目的に「YOUNG-SIMPSON SYNDROME CARE CARD」を作成した。現状から希少疾患の患者家族に生じている困難な点を取り上げ、具体的な対策を実施でき、さらに研究班で得られた最新の情報が不可欠であった。医療ばかりでなく、よりふつうに生活するために必要な支援を実行できたことは、本研究の目的を達成したと考えられる。継続した支援が必要である。

E. 結論

Exome解析を行い、これまで変異が検出されなかった *KAT6B* exon 16 に non-sense 変異を検出した。これで典型例7例全てに *KAT6B* の変異を検出した。変異解析で得られた確定症例を中心として、内分泌学低特性、患者家族への情報の還元、検討と疾患理解の一つの方法としての「症候群カード」の作成、本症候群を含めた先天異常疾患の地域ベースでのサポート体制の在り方、類似症例の臨床像の異同、などをまとめた。依然として病態の解明は今後の課題であり、症例をさらに増やして遺伝子型-表現型の相関関係を明らかにし、さらに iPS 細胞やモデル動物による病態の解析が重要と考えられた。

F. 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;52:78-81.

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.

2. 学会発表

黒澤健司、富永牧子、榎本啓典、石川亜貴、
齋藤敏幸、永井淳一、和田敬仁、小坂仁、
古谷憲孝、升野光雄 マイクロアレイ染色
体検査の需要の推定 第35回日本小
児遺伝学会 2012.4.19. 久留米

黒澤健司、富永牧子、和田敬仁、鮫島希代
子、石川亜貴、高野亨子、井合瑞江、小
坂仁、山下純正 小児病院におけるマイ
クロアレイ CGH 染色体検査の問題点
第54回日本小児神経学会
2012.5.17-19. 札幌

Yamanouchi Y, Nishikawa T, Enomoto K,
Furuya N, Mizuno S, Kondo T, Adachi M,
Muroya K, Masuno M, Kurosawa K.
Support for patients with Young-Simpson
syndrome, their families and other peoples
concerned: Study of patients and family
group meetings. 62nd American Society of
Human Genetics, San Francisco
2012.11.6-10.

Kurosawa K, Enomoto K, Kondoh T, Mizuno

S, Adachi M, Muroya K, Yamanouchi Y,
Nishikawa T, Furuya N, Tominaga M,
Kuroda Y, Naruto T, Ida K, Sengstag T,
Manabe R, Masuno M. Trio-exome
sequencing identifies mutations of the
gene encoding the histone
acetyltransferase KAT6B/MYST4 in
individuals with the Young-Simpson
syndrome. 62nd America Society of
Human Genetics, San Francisco

2012.11.6-10.

G. 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

なし

II. 分担研究報告

ヤング・シンプソン症候群のエクソーム解析

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

当研究グループでは Exome 解析により Young-Simpson 症候群の原因遺伝が *KAT6* であることを明らかにし、これまで 5 例の典型例に置いて *KAT6B* exon 18 に病因と考えられる変異を検出してきた。今回、変異が検出されなかった Young-Simpson 症候群において再度 Exome 解析を行い、これまで変異が検出されなかった *KAT6B* exon 16 に non-sense 変異を検出した。変異が位置するドメインからむしろ Genitopatellar 症候群の表現型が予想されるはずであったが、Young-Simpson 症候群の表現型を呈したことは、*KAT6B* の複雑な機能を表しているものとも推察できる。症例をさらに増やして遺伝子型－表現型の相関関係を明らかにし、さらに iPS 細胞やモデル動物による病態の解析が今後の課題と考えられた。

共同研究者

成戸卓也 神奈川県立こども医療センター遺伝科
井田一美 同 遺伝科
黒田友紀子 同 遺伝科
大橋育子 同 遺伝科
榎本啓典 JA とりで総合医療センター小児科
真鍋理一郎 独立行政法人理化学研究所オミックス基盤研究領域
吉武和敏 国立遺伝学研究所生命情報研究センター
池尾一穂 同

形症候群として最初に報告された（Young & Simpson, 1987）。わが国からも報告があり（Masuno, Am J Med Genet, 1999; Kondoh, Am J Med Genet, 2000）、Masuno ら（1999）、Kondoh ら（2000）により、疾患の全体像が明確にされた。その病因・病態は長く不明であったが、Clayton-Smith ら（2011）らよって Exome 解析により責任遺伝子が *KAT6B/MYST4* と同定された。さらに Genitopatellar 症候群も *KAT6B/MYST4* の変異を原因とすることが判明し（Simpson et al., 2012; Campeau et al., 2012）、病因解明が進んだ。我々の研究グループも、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」以後、exome による責任遺伝子の同等に至ったが、残念ながら後塵を拝する結

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

果となった（平成 23 年度報告書）。これまで、典型例 7 例のうち遺伝子解析を行った 6 例中 5 例に *KAT6B* exon 18 に病因と考えられる変異を検出した。しかし、典型例と考えられた 1 例では *KAT6B/MYST4* の exon 18 に変異を認めず、遺伝子型－表現型を考える上での課題となっていた。今回、改めて上記変異未検出の典型例 1 家系において exome 解析を行い、従来検出されていた exon 18 ではなく、これまで全く報告のない exon 16 に病因と考えられる non-sense 変異を検出したので、その解析プロセスも合わせてまとめた。

B. 研究方法

対象は、典型例と考えられながら *KAT6B* exon 18 に変異が検出されなかった女性で、臨床評価及び症状は、これまで報告されて期。診断基準：1) 精神遅滞、2) 眼症状、3) 骨格異常、4) 内分泌学的異常、5) 外性器異常、6) 除外診断、の 6 項目のうち、5) 以外は満たしている。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。父母の exome 解析を同時に行う trio 解析の方法を採用した。参照するべき日本人の全 exome における多型情報が乏しいことが理由である。解析に用いるゲノム DNA は、QIAamp DNA Blood Mini kit を用いて自動抽出し、ライブラリー作成は自動化によった。exome 解析に関する方法の概要は、ほぼ昨年と同様である。ターゲット領域エクソンの濃縮は、SureSelect Human All Exon 50MB Kit (Agilent) を用いてライブラリー作成（自動化）し、HiSeq2000 で解析を行った。得られたシーケンス情報のアライメントは Burrows-Wheeler Aligner (BWA) を用い、さらに解析として Samtools Pipeup、

Picard tools、BedTools package、Genome Analysis Toolkit (GATK)、snpEff、などを用いた。Coverage は少なくとも 20 以上と設定して解析を進めた。今回、データ解析は国立遺伝学研究所、理化学研究所、こども医療センターの 3 つの施設で行い、結果の確定を行った。

（倫理面への配慮）解析にあたっては施設内倫理審査を経たのちに、本人あるいは代諾者（主に親）の文書による同意を得て行った。

C. 研究結果

Trio として QC pass となった SNPs は、16,978 あり、このうち RefSeq exon にマップされるものは 4,476 で、trio では 18 SNPs に絞り込むことができた。さらに not in dbSNP137 で 134 (同 3)、Predicted damaging (non-synonymous/stop gained/stop lost/start gained) で 84 (同 1) に絞り込み、最終的に *TRPC4AP* に至った。しかし、*TRPC4AP* の機能が臨床症状と結びつかず、再度の検証を行った。その結果、*HLA-DQB1* (劣性ホモ変異)、*KAT6B* (de novo)、*OLFMI* (複合ヘテロ) の 3 つの変異が候補となった。以上を踏まえ、さらにこども医療センターでも GATK を中心とした pipeline の整備により追加再検討を行った (患者データのみで、trio 解析とせず) 結果、*KAT6B* を含む 112 の Predicted damaging に絞り込むことができた。最終的に、*KAT6B* exon 16 c.C2473T (Q825X) の従来変異が報告されないエクソン領域の新しい変異であることが判明した。この変異は *KAT6B/MYST4* の Asp/Glu-rich の Acidic ED domain に相当する。

D. 考察

現在まで 27 例において *KAT6B* の変異が報告され、表現型としては Say-Barber/Biesecker/Young-Simpson 症候群が 15 例 (Clayton-Smith et al., 2011; Szakszon et al., 2013)、Genitopatellar 症候群が 11 例 (Simpson et al., 2012; Campeau et al., 2012)、Noonan 症候群様表現型例が 1 例 (Kraft et al., 2011) となっている。

Young-Simpson 症候群

(Say-Barber/Biesecker/Young-Simpson 症候群) と Genitopatellar 症候群では、顔貌などの表現型は極めて共通するものの、長い拇指趾、涙管異常などは、Young-Simpson 症候群に有意に多いとされる。また、変異の局在も両症候群で異なり、

Young-Simpson 症候群が Ser-rich および Met-rich な transcriptional activation 領域

(*KAT6B* exon 18, 3'末端側) に集中しているのに対して、Genitopatellar 症候群は Asp/Glu-rich な Acidic region (同 exon 18, 5'側) に集中している。Exon 18 以外の領域では、exon 3 (表現型は SBBYSS) に 1 例、exon 15 (表現型は、atypical SBBYSS) に 1 例、intron 3 (表現型は Noonan-like) に 1 例のみである。Exon 16 での変異は、本例が初めてである。これまで、我々の研究グループでは、SBBYSS の臨床特徴に人懐こい、人に対して親和性のある行動パターンを挙げてきたが、本例はややことなる行動特性を示している。また、genitopatellar 症候群と同じ Acidic region に変異を認めながら、膝蓋骨の異常を見ていない。症例を増やして、さらに臨床像と遺伝子型との相関関係を明らかにすることが重要である。

今回再度 trio exome 解析を行い、責任となる変異同定を達成することができた。こうした原因未定の多発奇形・発達遅滞症例の病因解明として exome 解析が極めて有

用な手段であることが確認できた。

Young-Simpson 症候群類縁疾患である X 連鎖 Ohdo 症候群も exome 解析により *MED12* が原因遺伝子であることが判明した

(van-Silfout et al., 2013)。現在まで、解析を行った全ての症例でこれらの *KAT6B* および類縁疾患責任遺伝子で説明がなされるわけではなく、依然として臨床症状を共通に持ちながら、変異未同定症例が少なくない。今後、類縁疾患の責任遺伝子同定は勿論、変異がなぜこうした複雑な病態をもたらすのかをモデル動物や iPS 細胞を用いて解析を進めることが課題となる。

E. 結論

変異が検出されなかった Young-Simpson 症候群において Exome 解析を行い、これまで変異が検出されなかった *KAT6B* exon 16 に non-sense 変異を検出した。変異が位置するドメインからむしろ Genitopatellar 症候群の表現型が予想されるはずであったが、Young-Simpson 症候群の表現型を呈したことは、*KAT6B* の複雑な機能を表しているものとも推察できる。症例をさらに増やして遺伝子型-表現型の相関関係を明らかにし、さらに iPS 細胞やモデル動物による病態の解析が今後の課題と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

石川亜貴、榎本啓典、古谷憲孝、室谷浩二、朝倉由美、安達昌功、黒澤健司
CHARGE 症候群 26 例の臨床的検討 日
児誌 2012;116:1357-1364.

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.* 2012;42:380-382.
- 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;52:78-81.
- Kurosawa K, Masuno M, Kuroki Y. Trends in occurrence of twin births in Japan. *Am J Med Genet Part A* 2012;158A:75-77.
- 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* 2012;52:106-110.
- Enomoto K, Kishitani Y, Tominaga M, Ishikawa A, Furuya N, Aida N, Masun M, Yamada K, Kurosawa K. Expression Analysis of a 17p Terminal Deletion, including YWHAE, but not PAFAH1B1, associated with normal brain structure on MRI in a young girl. *Am J Med Genet Part A* 2012;158A:2347-2352.
- 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.
- Asakura Y, Muroya K, Sato T, Kurosawa K, Nishimura G, Adachi M. First case of a Japanese girl with Myre syndrome due to a heterozygous SMAD4 mutation. *Am J Med Genet A.* 2012;158:1982-6.
- ## 2. 学会発表
- 黒澤健司、富永牧子、榎本啓典、石川亜貴、齋藤敏幸、永井淳一、和田敬仁、小坂仁、古谷憲孝、升野光雄 マイクロアレイ染色体検査の需要の推定 第35回日本小児遺伝学会 2012.4.19. 久留米
- 富永牧子、榎本啓典、石川亜貴、古谷憲孝、安達昌功、小坂仁、升野光雄、黒澤健司 小児病院におけるマイクロアレイ CGH の臨床導入 第115回日本小児科学会 2012.4.20-22. 福岡
- 黒澤健司、富永牧子、和田敬仁、鮫島希代子、石川亜貴、高野亨子、井合瑞江、小坂仁、山下純正 小児病院におけるマイクロアレイ CGH 染色体検査の問題点 第54回日本小児神経学会 2012.5.17-19. 札幌
- 黒田友紀子、榎本啓典、富永牧子、古谷憲孝、齋藤敏幸、永井淳一、升野光雄、黒澤健司 知的障害、肥満を認めた 17p13.1-p13.2 重複の女兒例 第57回日本人類遺伝学会 2012.10.24-27. 東京
- 大城亜希子、富永牧子、古谷憲孝、黒田友紀子、井合瑞江、升野光雄、黒澤健司 Down 症候群責任領域を含む 2.6Mb の 21q22 部分欠失の一男児例 第57回日本人類遺伝学会 2012.10.24-27. 東京
- 井田一美、成戸卓也、富永牧子、黒田友紀子、古谷憲孝、中川栄二、後藤雄一、升野光雄、黒澤健司 MID1 遺伝子の一部を含む Xp22.2 に 310kb の微細欠失を認めた Opitz/BBB 症候群の1家系 第57回日本人類遺伝学会 2012.10.24-27. 東京
- 榎本啓典、菅原祐之、保立麻美子、元吉八重子、畠井芳穂、水谷修紀、黒澤健司 ま

れな合併症を伴う TSC2-PKD1 隣接遺伝子症候群の一例 第 57 回日本人類遺伝学会 2012.10.24-27. 東京

Yamanouchi Y, Nishikawa T, Enomoto K, Furuya N, Mizuno S, Kondo T, Adachi M, Muroya K, Masuno M, Kurosawa K. Support for patients with Young-Simpson syndrome, their families and other peoples concerned: Study of patients and family group meetings. 62nd America Society of Human Genetics, San Francisco 2012.11.6-10.

Kurosawa K, Enomoto K, Kondoh T, Mizuno S, Adachi M, Muroya K, Yamanouchi Y, Nishikawa T, Furuya N, Tominaga M, Kuroda Y, Naruto T, Ida K, Sengstag T, Manabe R, Masuno M. Trio-exome sequencing identifies mutations of the gene encoding the histone acetyltransferase KAT6B/MYST4 in individuals with the Young-Simpson syndrome. 62nd America Society of Human Genetics, San Francisco

2012.11.6-10.

Kuroda Y, Saito T, Nagai J, Ida K, Naruto T, Masuno M, Kurosawa K. Microdeletion of 19p13.3 in a girl with Peutz-Jeghers syndrome, intellectual disability, hypotonia, and dysmorphic features. 62nd America Society of Human Genetics, San Francisco 2012.11.6-10.

Enomoto K, Sugawara Y, Hotate H, Motoyoshi Y, Hatai Y, Mizutani S, Kurosawa K. TSC2-PKD1 contiguous deletion syndrome with aortic stenosis and severe myopia. 62nd America Society of Human Genetics, San Francisco 2012.11.6-10.

G. 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

なし

ヒストン修飾異常症としてのヤング・シンプソン症候群と Rubinstein-Taybi 症候群の臨床像の比較検討

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・シンプソン症候群原因遺伝子産物 KAT6B/MYST4 は、MOZ/MORF 複合体の一部をなし、histone acetyltransferase 活性を有する。一方、Rubinstein-Taybi 症候群原因遺伝子産物 CREBBP も同様にヒストンアセチル化を担う。今回、我々は上述の知見からヤング・シンプソン症候群と Rubinstein-Taybi 症候群の臨床像を比較し、ヒストンアセチル化異常症の特徴の抽出を試みた。骨格異常、精神遅滞、特徴的な行動特性を示すこと、男児例での外性器異常、鼻中隔に特徴を有す特異的顔貌、脳梁欠損低形成など中枢神経系の異常など、まったく異なる奇形症候群でありながら、特徴を示す領域が極めて共通していることがわかった。これらがすべてヒストンアセチル化異常症の特徴としてあげべきか現時点では確定できないが、長期にわたる自然歴研究が重要であることは明らかである。RSTS では腫瘍発生が医学管理上重要であるが、ヤング・シンプソン症候群では今のところ報告がない。さらにまた、他のヒストンアセチル化を担う転写因子を原因とする例の可能性も視野に入れる必要がある。次世代シーケンサーによる網羅的解析や iPS 細胞を用いた機能解析がこうしたヒストンアセチル化異常症の全貌を明らかにしてくれるかもしれない。

共同研究者

山内泰子 川崎医療福祉大学医療福祉学部
医療福祉学科准教授

A. 研究目的

ヤング・シンプソン症候群は、1987 年の症例報告に始まり、日本からの追加報告（Masuno, Am J Med Genet, 1999; Kondoh, Am J Med Genet, 2000）により、疾患の全体像が明確にされた。その病因・病態は長く不明であったが、Clayton-Smith ら（2011）

らよって Exome 解析により責任遺伝子が KAT6B/MYST4 と同定され、後に Genitopatellar 症候群も KAT6B/MYST4 が原因であることが判明した（Simpson et al., 2012; Campeau et al., 2012）。KAT6B/MYST4 は、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 *KAT6B* が

Say-Barber-Biesecker-Young Simpson 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 *CREBBP* を原因とする Rubinstein-Taybi 症候群発症の関連性も示唆されるかもしれない。今回、我々は上述の知見からヤング・シンプソン症候群と Rubinstein-Taybi 症候群の臨床像を比較し、ヒストンアセチル化異常症の特徴の抽出を試みた。

B. 研究方法

本研究班での遺伝子解析で診断が確定したヤング・シンプソン症候群症例 5 例の臨床症状と研究分担者が直接解析および医療管理に関わった Rubinstein-Taybi 症候群 (Masuno et al., 1994, 1998; petrij et al., 1995; Murata et al., 2001) 症例の臨床特徴を比較し、文献的考察を加えた。

(倫理面への配慮) 解析にあたっては施設内倫理審査を経たのちに、本人あるいは代諾者 (主に親) の文書による同意を得て行った。

C. D. 研究結果と考察

Rubinstein-Taybi 症候群 (RSTS) は、特徴的顔貌、中等一重度精神遅滞、橈側に屈曲した幅広い拇指趾、低身長などを特徴とする先天奇形症候群で、発生頻度は 3-5 万出生に 1 例とされる。低身長を呈し、最終身長は男性患者が 150cm である。精神遅滞は個人差が大きく、IQ/DQ は 30~50

で、言語理解に比べて表出言語が遅れる。

特徴的な顔貌の所見としては、小頭、大泉門開大、太い眉毛、長い睫毛、眼瞼裂斜下、幅広い鼻梁、鼻翼より下方に伸びた鼻中隔、尖った頤、耳介変形があげられる。副歯や高口蓋など口腔所見も特徴的である。骨格では、膝蓋骨脱臼、脊柱後彎・側彎、頸椎異形成・癒合があり、頸椎脱臼の危険性がある。皮膚は多毛で、前頭部の火焰母斑やケロイド形成が目立つ。石灰化上皮腫も多い。泌尿生殖器異常として、停留精巣や重複腎盂尿管、膀胱尿管逆流症もある。中枢神経系では、脳梁欠損・低形成、てんかんを合併することもある。また、斜視、緑内障・白内障、屈折異常も合併する。二次性徴の発来は一般集団とほぼ同じである。生命予後は良好で、合併症管理を積極的に行う必要がある。悪性腫瘍は 5% に合併し、注意を要す。原因遺伝子は 16p13.3 にマップされる *CREBBP* (cAMP response element-binding protein (CREB)-binding protein gene) / *CBP* と 22q13.2 にマップされる *E1A-binding protein p300 (EP300)* で、臨床的診断例の 10% に 16p13.3 の微細欠失、30-50% に *CREBBP* 遺伝子内変異、3% に *EP300* の変異が検出される。変異による *CREBBP* あるいは *EP300* のハプロ不全が原因である。*CREBBP*、*EP300* いずれの変異でも、臨床像に違いはない。*CBP* は、*CREB* に特異的に結合する核内転写 coactivator として最初に同定され、一方の *p300* はアデノウイルス *E1A oncoprotein* と相互作用を行うタンパクとして同定された。*CBP/p300* の機能障害が RSTS の多様な臨床症状をもたらす理由として 2 つのメカニズムが推測されている。一つは、*c-FOS*、*c-JUN*、*NF-κβ* や、主要抑制因子 *p53*、*E2F*、*RB*、*RUNX* など 300 以上の転

写因子の cofactor として機能していることがあげられ、もう一つは、CBP/p300 が HAT 活性を持っていることがあげられる。cbp^{-/-} mice は胎生致死であるが、ヘテロ接合 cbp^{+/-} は長期記憶と認知障害を呈し、RSTS 患者と共通した神経学的所見が指摘されている。Wang ら (2010) は、cbp ハプロ不全が皮質前駆細胞の分化の異常をもたらすことを示し、cbp が胎生期の皮質でニューロンやグリアの遺伝子プロモーター領域に結合し、ヒストンのアセチル化を促進していることを確認した。しかもここでは、非定形プロテインキナーゼ C とが関わっていた。

RSTS の臨床症状は複雑で多岐にわたる。骨格異常、特に疾患の特徴の幅広い指は同じく先天奇形症候群の Saethre-Chotzen 症候群の原因である TWIST との相互作用が影響していることも指摘される。疾患の複雑さは、原因タンパクの機能の多面性が理由と考えられる。

一方、ヤング・シンプソン症候群もヒストンアセチル化を担う KAT6B の異常であり、RSTS 原因遺伝子 CREBBP の変異同様に機能喪失 (殆どが non-sense 変異か frameshift 変異) である。骨格異常、精神遅滞、特徴的な行動特性を示すこと、男児例での外性器異常、鼻中隔に特徴を有す特異的顔貌、脳梁欠損低形成など中枢神経系の異常など、まったく異なる奇形症候群でありながら、特徴を示す領域が極めて共通している。これらがすべてヒストンアセチル化異常症の特徴としてあげるべきものか現時点では確定できないが、ヤング・シンプソン症候群の遺伝子レベルで明らかとなる症例の蓄積と長期にわたる自然歴研究はその答えを与えてくれるかもしれない。RSTS では腫瘍発生が医学管理上重

要であるが、ヤング・シンプソン症候群では今のところ報告がない。慎重なケアが必要である。また、診断が未定が多発奇形症例に他のヒストンアセチル化を担う転写産物の異常症例が存在するののかも極めて興味深い。次世代シーケンサーによる網羅的解析や iPS 細胞を用いた機能解析がこうしたヒストンアセチル化異常症の全貌を明らかにしてくれるかもしれない。

E. 結論

ヒストンアセチル化異常を原因とするヤング・シンプソン症候群と Rubinstein-Taybi 症候群の臨床症状の比較をおこなった。まったく原因遺伝子が異なりながらその臨床特徴に多くの共通点があり、新しい疾患概念の可能性が考えられた。RSTS では腫瘍発生もあり、ヤング・シンプソン症候群の医療管理上共通点を考慮に入れることは重要と思われた。今後、iPS 細胞での解析や次世代シーケンサーを用いた解析が課題となる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kurosawa K, Masuno M, Kuroki Y.

Trends in occurrence of twin births in Japan. Am J Med Genet A. 2012;158A(1):75-77. (査読有)

Enomoto K, Kishitani Y, Tominaga M,

Ishikawa A, Furuya N, Aida N, Masuno M, Yamada K, Kurosawa K. Expression analysis of a 17p terminal deletion, including YWHAЕ, but not PAFAH1B1, associated with normal brain structure on MRI in a young girl. Am J Med Genet A. 2012; 158A(9):2347-2352. (査読有)

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)*. 2012; 52(2):78-81. (査読有)

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) (p11.23;p12.3). *Congenit Anom (Kyoto)*. 2012; 52(2):106-110. (査読有)

Masuno M, Watanabe A, Naing BT, Shimada T, Fujimoto W, Ninomiya S, Ueda Y, Kadota K, Kotaka T, Kondo E, Yamanouchi Y, Inoue M, Ouchi K, Kuroki Y. Ehlers-Danlos syndrome, vascular type: A novel missense mutation in the *COL3A1* gene. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2012; 52(4):207-210. (査読有)

升野光雄. 多科連携における不育症への小児科の役割－出生前対応を含む－. *周産期医学* 42(8):1021-1025, 2012.

升野光雄. ダウン症候群 (21-トリソミー症候群). 今日の治療指針 2013 年版, 山口 徹, 北原光夫, 福井次矢編, 医学書院, 東京, 1238- 1239, 2013.

2. 学会発表

Enomoto K, Furuya N, Adachi M, Mizuno S, Yamanouchi Y, Masuno M, Kondoh T, Kurosawa K. Follow-up

and management of Young-Simpson syndrome. 60th Annual Meeting, The American Society of Human Genetics, Washington DC, 2010.11.2-6

Kurosawa K, Enomoto K, Kondoh T, Mizuno S, Adachi M, Muroya K, Yamanouchi Y, Nishikawa T, Furuya N, Tominaga M, Kuroda Y, Naruto T, Ida K, Sengstag T, Manabe R, Masuno M. Trio-exome sequencing identifies mutations of the gene encoding the histone acetyltransferase KAT6B/MYST4 in individuals with the Young-Simpson syndrome. 62nd Annual Meeting, The American Society of Human Genetics, San Francisco, 2012.11.6-10

Yamanouchi Y, Nishikawa T, Enomoto K, Furuya N, Mizuno S, Kondo T, Adachi M, Muroya K, Masuno M, Kurosawa K. Support for patients with Young-Simpson syndrome, their families and other peoples concerned: Study of patients and family group meetings. 62nd Annual Meeting, The American Society of Human Genetics, San Francisco, 2012.11.6-10

富永牧子、榎本啓典、石川亜貴、古谷憲孝、安達昌功、小坂 仁、升野光雄、黒澤健司. 小児病院におけるマイクロアレイ CGH の臨床導入. 第 115 回日本小児科学会学術集会 (2012 年 4 月 22 日、福岡)

牧 優子、山内泰子、升野光雄、黒木良和. 岡山県の保健所設置市における保健師の遺伝に関する相談の実態－遺伝医療と地域保健との連携についての検討－. 第 36 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会 (2012 年 6 月 8 日、松本) 山内泰子、升野光雄、峠 和美、大西敬子、

黒木良和．地域における臨床医の遺伝医療に関する意識調査．日本人類遺伝学会第57回大会(2012年10月26日、東京)

升野光雄、黒澤健司、松井 潔、片岡 愛、田上幸治、大山牧子、柴崎 淳、相田典子、小河原昇、山本敦子、二宮伸介、山内泰子、黒木良和．メビウス症候群の小児期の臨床像と医療管理．日本人類遺伝学会第57回大会(2012年10月27日、東京)

Kuroda Y, Saito T, Nagai J, Ida K, Naruto T, Masuno M, Kurosawa K. Microdeletion of 19p13.3 in a girl with Peutz-Jeghers syndrome, intellectual disability, hypotonia, and dysmorphic features. 62nd

Annual Meeting, The American Society of Human Genetics, San Francisco, 2012.11.6-10

升野光雄、山内泰子、赤池洋人、荻田聡子、尾内一信．川崎医科大学附属病院小児科遺伝外来 ～8年間の概要～．第85回日本小児科学会岡山地方会(2012年12月2日、岡山)

G. 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

なし