

201231088A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

過剰運動<hypermobility>症候群類縁疾患における

病態解明

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 渡邊 淳

平成25年(2012)年5月

目 次

I.	平成 24 年度研究班構成員名簿	3
II.	総括研究報告	
	過剰運動<hypermobility>症候群における病態解明	
	渡邊 淳	5
III.	分担研究報告	11
	1. 過剰運動<hypermobility>症候群における診断システムの確立、解析	
	島田 隆	12
	2. 当施設受診症例の臨床的研究	
	古庄知己	16
	3. 過剰運動<hypermobility>症候群類縁疾患の分子遺伝学的解析	
	松本直通・三宅紀子	21
	4. テネイシン X 欠損患者の血清におけるプロテオミクス解析の試み	
	松本健一	29
IV.	研究成果の刊行に関する一覧表	33

I 平成 24 年度研究班構成員名簿

過剰運動<hypermobility>症候群類縁疾患における病態解明研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	渡邊 淳	日本医科大学医学部生化学・分子生物学、付属病院 遺伝診療科	准教授
研究分担者	古庄知己	信州大学付属病院 遺伝子診療部	講 師
	松本健一	島根大学総合科学研究支援センター	教 授
	松本直通	横浜市立大学医学研究科環境分子医科学・人類遺伝 学・ゲノム医学	教 授
	島田 隆	日本医科大学医学部生化学・分子生物学	教 授
研究協力者	畠山未来	お茶の水女子大学大学院ライフサイエンス専攻遺 伝カウンセリング領域	大学院生
	芳賀信彦	東京大学医学部附属病院リハビリテーション科	教授
	池川志郎	理化学研究所ゲノム医科学研究センター骨関節疾 患研究チーム	チームリー ダー
	浅原弘嗣	国立成育医療研究センター研究所 システム発 生・再生医学研究部	部 長
	角田 隆	日本医科大学付属病院 整形外科	病院講師
	坏 宏一	日本医科大学付属病院 集中治療室	病院講師
	中西一浩	日本医科大学付属病院 緩和ケア科	教授
	バニャー・ タン・ナイ ン	日本医科大学医学部生化学・分子生物学	ポスト・ドク ター
	永山 寛	日本医科大学付属病院 神経内科	講師
	二神生爾	日本医科大学付属病院 消化器内科	病院講師

II 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告

「Hypermobility（過剰運動）症候群類縁疾患における病態解明」

研究代表者 渡邊淳 日本医科大学准教授

研究要旨：過剰運動<hypermobility>症候群（ICD-9 分類728.5, ICD-10 分類M35.7）は、複数の関節過可動を来す症候群である。診療現場での認知度は低いが、平成22年度に行った過剰運動症候群に関わる類縁疾患の全国調査からは、関節可動性とそれに伴う脱臼と疼痛の改善が課題の中心であり、疼痛管理により患者のQOLは向上すると考えられた。平成23年度は、過剰運動症候群による症状に関連する診療科の課題の抽出と、原因として考えられるテネイン欠損症のTNXB遺伝子解析系を構築し変異を同定した。24年度は、症候群全体やテネイン欠損症の臨床像を明確にし、疾患原因の絞り込みを中心に行った。

A. 研究目的

過剰運動<hypermobility>症候群（ICD-9 分類728.5, ICD-10 分類 M35.7）は、全身にわたる複数の関節過可動を来す症候群である。本症候群は、乳幼児から青年期に関節周辺の不定愁訴から発症し、全身の複数の関節過可動から関節脱臼、亜脱臼、関節の変形へと進行することがある。関節症状だけ、あるいは関節以外の皮膚症状、自律神経症状を有することがある。他の結合組織疾患である Ehlers-Danlos 症候群や Marfan 症候群などの類似性も高く、特定疾患調査研究指定でないことから、これまで全国調査が行われたことはなく、本邦における過剰運動症候群の実態（患者数、診療状況）は全くわかっていない。そのため、診療現場での認知度はきわめて低く、病型に合った適切な診療指針も確立されていない。平成22年度の研究では、日本で初めて過剰運動症候群における診療実態の把握を行った。日本医科大学を受診した29名の内、8割は女性であり、青年期より原因不明の複数の関節過可動が進行する。関節症状以外に疼痛、自律神経症状、消化器症状を呈している者も多くみられた。一方で、男性のみの家系もあり原因が複数あることが示唆され

た

今年度継続して、過剰運動症候群類縁疾患として、独立して調査研究を行うことは、本邦において本症候群の認知度の向上に繋がり、本症候群の位置づけを本邦において高めることになり、疾患を周知ならびに分類できることで、予防対策を確立し、的確な治療への結びつくことが期待される。

B. 研究方法

本研究（平成23-24年度）は、平成22年度に行った過剰運動<hypermobility>症候群の実態調査ならびに診療指針構築に基づき、本症候群の「臨床像・自然歴の解明」、「原因の解明」、「診断方法の確立」の3つめざし、診断、治療を目指した本症候群の病態解明を目標とする。

1. <臨床像・自然歴解明>（日本医科大学渡邊、信州大学古庄）

罹患者が集積している病院（日本医科大学、信州大学）ならびに調査施設の罹患者診療情報を中心に経過を精査し、本症候群の臨床像・自然歴を明確にした。

2. <原因遺伝子の解明>

平成22 -24 年度に集積した患者さんの臨床症状とゲノムDNA（罹患者60名、30家系）を用いて、原因・関連遺伝子を探索する。原因遺伝子を探索として、候補遺伝子、探索遺伝子の2つのアプローチを行う。

1) 候補遺伝子アプローチ（日本医科大学渡邊/島田、島根大学松本）：罹患者60名

近年、hypermobility で劣性遺伝形式をとる場合にTenascin-X 欠損を来す報告がなされた

(Schalkwijk J et al. N Engl J Med 345:1167-1175, 2001)。平成22年度は、本研究の罹患者に対して分担研究者である松本（島根大学）が開発したTenascin-X タンパク検出法を用いて解析したが、欠損する罹患者はいなかった。さらにゲノムレベルでTenascin-X 遺伝子解析するシステムを構築した。平成23年度は症状、遺伝子解析結果の相関を検討する。また、研究協力者（浅川、池川）の指導の下にMKX、TNMD などの最近同定された腱、靭帯の分化で中心的な役割をなす遺伝子解析システムを構築し解析を行う。

2) 探索遺伝子アプローチ（横浜市立大学松本）：罹患者20家系

疾患遺伝子の単離を目指し、疾患情報や家族情報が得られているゲノムDNAを用いて、家系内の罹患者・非罹患者リンケージ解析や次世代シーケンサーを用いたExome解析を行う。

1)、2) それぞれのアプローチで構造異常が判明した遺伝子を同定した際には、病因かどうかなを確認するために遺伝子機能解析系を構築し構造異常による機能変化の有無を検討する。

倫理面への配慮

本研究には診療情報を扱う臨床研究の側面と遺伝子解析研究の2つの側面があり、それぞれに該当するガイドラインを遵守するとともに、当該倫理委員会の承認を得て行った。

1. 本研究は、過剰運動<hypermobility> 症候群類縁疾患における診療の実態を調査するものである。ヒトを対象とした臨床研究であるため、疫学研究に関する倫理指針、臨床研究に関する倫

理指針（厚生労働省）などを遵守するとともに、日本医科大学付属病院倫理委員会において承認を得た。具体的には、診療施設から臨床情報を収集する際に、結果の公表方法を含めた十分な説明を行い、同意を得ること、プライバシーの保護に留意することである。

2. 本研究は、(1) 過剰運動<hypermobility>症候群類縁疾患の確定診断としての遺伝子解析、そして、(2)原因遺伝子単離を目的とした遺伝子解析を含む。ヒトを対象とした遺伝子研究であるため、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（厚生労働省・文部科学省・経済産業省）、医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取り扱いのためのガイドライン（厚生労働省）などを遵守するとともに、日本医科大学遺伝子研究倫理審査委員会において承認を得た。新たに遺伝子解析を行う患者・家族に対しては、研究代表者またはそのガイダンスを受けた患者主治医が患者・家族に十分な説明を行い、同意を得ることを原則とした。

C. 研究結果

1) <臨床像・自然歴説明>

（信州大学 古庄 項 も参照）

過剰運動<hypermobility>症候群は様々な診療科に関わることから、本年度は関わる診療科（整形外科、緩和ケア科（麻酔科）、循環器内科、消化器内科、神経内科）の方を研究協力者に加え、診療システムの構築を検討した。3年間の中で、症状の進行については急激に進行する方から変化しない方まで様々であった。

日本において本症候群の周知はなく、整形外科・リハビリテーション領域において診断基準を関連学会等と連携し公開していく。本年度は本症候群の関連疾患であるエーラスダンロス症候群の第一回国際シンポジウムが開催され、本症候群もテーマの一つに取り上げあげられている。本研究の成果報告ならびに情報交換を踏まえた海外の研究動向を踏まえ、診療指針（合併症のスクリ

ーニング方法、予防法、治療法、遺伝カウンセリング)の確立を検討した。

2) <原因遺伝子の解明>

候補遺伝子アプローチ

過剰運動<hypermobility>症候群に関わる診断システムの確立、解析

(島根大学 松本 項参照)

欧米では、過剰運動<hypermobility>症候群の約5-10%に血清テネイシンX (TNXB)の低値を認めている(Zweers et al, 2005)。研究協力者である島根大学の松本博士が血清テネイシンを測定したが(主に日本医科大学の受診者を中心に)、関節可動性亢進で皮膚所見がみられる方に欠損を同定した。続けて、テネイシンX 遺伝子の遺伝子解析システムで解析を進めたところ、1塩基欠失による早期に終始コドン来す例を同定した。

探索遺伝子アプローチ

(横浜市立大学 松本・三宅の項参照)

罹患者ならびに家族由来のゲノムDNAを用いた、ゲノム・遺伝子解析を複数のアプローチから取り組んだ。特に、臨床症状から本症候群と診断された典型例27症例にエキソーム解析を行い、現在のところ原因遺伝子同定には至っていないが、4症例以上に共通する優先順位の高い38遺伝子の各バリエーションに対して病原性を予測し、病原性が低いものを除外したところ27遺伝子が候補として残った。血清テネイシンスクリーニングにより、日本における初めてのテネイシン欠損症を発見した昨年度に引き続き変異同定を成功し、細胞内でのタンパクを網羅的に解析し変動するタンパクを同定した。

D. 考察

過剰運動<hypermobility>症候群は、関節の可動更新(過可動、不安定性)を中心とする症候群であるが、疼痛、立ちくらみ、消化器症状などの症状を伴い、特に関節症状とともに疼痛対策が課題の中心であることが明らかになった。家系調査からは複数の原因があることが示唆された。そ

の中で、本年度は欧米で報告されているテネイシン欠損の本邦例を同定した。テネイシン欠損の過剰運動<hypermobility>症候群での位置づけを検討し、他の原因についても更なる検討を進める。

本疾患は日本において周知されておらず、結合組織疾患の所見として医師に広く知られている皮膚症状が少ない一方で、関節症状・疼痛・消化器症状などの症状に幅が広く、関わる診療科も多く、連携を踏まえた診療システムの構築が必要である。

本研究において、日本における過剰運動(hypermobility)症候群の存在を明らかにし、研究班を構築することで欧米研究者との連携ができるようになった。研究期間内での臨床像・自然歴の変化は経時的に追うことができるようになり、臨床像の異なる患者群があることが判明した。本邦第一例のテネイシン欠損例を発見した。原因同定までは至っていないが、絞り込みはできており、複数の原因も考慮すると引き続いた検討が必要である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

渡邊 淳, 佐々木元子, 島田 隆.

Ehlers-Danlos 症候群. 小児科臨床 (in press)

渡邊淳, 島田隆. Ehlers-Danlos 症候群. 先天異常ハンドブック (遠藤文夫編) 中山書店. 410-411, 2013

渡邊淳, 島山未来, 島田隆. 過剰運動症候群. 日本臨牀別冊 新領域別症候群シリーズ 20 先天代謝異常症候群(第2版) 下-病因・病態研究, 診断・治療の進歩- 日本臨牀社 727-730, 2012

Masuno M, Watanabe A, Banyar Than Naing, Shimada T, Fujimoto W, Ninomiya S, Ueda Y, Kadota K, Kotaka T, Kondo E, Yamanouchi Y, Ouchi K, Kuroki Y. Ehlers-Danlos Syndrome, Vascular Type: A Novel Missense Mutation in the *COL3A1* Gene. *Congenital Anomalies* 52, 207-210, 2011

2. 学会発表

Watanabe A, Naing BT, Sasaki M, Akutsu K, Kosaihiira S, Gemma A, Shimada T. An intronic mutation affecting pre-mRNA splicing in the *COL3A1* gene as novel mechanisms causing vascular Ehlers-Danlos syndrome. American Society of Human Genetics Meeting 2012 (San Francisco, CA, USA, Nov 6-10, 2012)

Naing BT, Watanabe A, Hatamochi A, Morisaki H, Shimada T. Phenotype differences in patients with nonsense mutations of *COL3A1* causing nonsense-mediated mRNA decay in vascular Ehlers-Danlos Syndrome. First International Symposium on the Ehlers-Danlos Syndrome. (Ghent, Belgium, Sep 8-11, 2012)

Watanabe A, Naing BT, Shimada T. A novel gene therapy strategy for vascular Ehlers-Danlos syndrome. First International Symposium on the Ehlers-Danlos Syndrome. (Ghent, Belgium, Sep 8-11, 2012)

Watanabe A, Hatakeyama M, Tsunoda R, Matsumoto K, Kawame H, Shimada T. Hypermobility Syndrome in Japan. First International Symposium on the Ehlers-Danlos Syndrome. (Ghent, Belgium, Sep 8-11, 2012)

Watanabe A, Hatakeyama M, Tsunoda R, Matsumoto K, Kawame H, Shimada T. The first case of Tenascin-X deficient type Ehlers-Danlos syndrome in Japan. European Human Genetics Conference 2012 (Nuremberg, Germany, June 24-24, 2012)

渡邊 淳 エーラスダンロス症候群. 第一回桜山臨床病理症例検討会～名古屋市立大学 web CPC～平成24年7月24日 名古屋市立大学

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

III 分担研究報告

分担研究報告書

過剰運動<hypermobility>症候群類縁疾患における病態解明

分担研究課題：過剰運動<hypermobility>症候群に関わる診断システムの確立、解析

分担研究者 島田 隆 日本医科大学医学部生化学・分子生物学

研究要旨：過剰運動<hypermobility>症候群（ICD-9 分類 728.5, ICD-10 分類 M35.7）は、複数の関節過可動を来す症候群である。診療現場での認知度は低く、これまで全国調査が行われたことはなく、本邦における過剰運動症候群の実態（患者数、診療状況）は全くわかっていない。Tenascin-X 欠損である関節過可動と皮膚脆弱性を伴う方を同定し、*TNXB* 変異部位を同定した。過剰運動症候群は複数の原因があることが推定され、原因の解明としては、候補遺伝子アプローチだけでは難しく、新たなアプローチについて検討が必要と考えられ、今後の病態解明に基づく研究の進展が期待される。

A. 研究目的

過剰運動<hypermobility>症候群は、関節過可動を主症状とし、他に、全身性難治性疼痛、自律神経・消化器・心血管症状、精神的問題を有する深刻な例もある。少数例にテネイシン X 遺伝子 (*TNXB*) の変異が見出されているが、大多数の例では原因不明である。そのため、診断は臨床症状からなされるが、わが国の医療現場での認知度はきわめて低いため、正確な診断をされていない例が多いと推測される。正確な診断、病態に即した治療法の開発には、原因遺伝子の究明が必須であるが、過剰運動<hypermobility>症候群では、少数例において *TNXB* 遺伝子変異が発見された後、研究が進展していない。この理由の一つは、本症の遺伝的異質性によるためと推測される。この仮説が正しいとすれば、遺伝的に共通のサブタイプの探索が原因究明には重要なアプローチといえる。

B. 研究方法

過剰運動<hypermobility>症候群は優性遺伝形式をとり、家族歴を有すると従来考えられて

いた。近年、劣性遺伝形式をとる場合に Tenascin-X 欠損を来す報告がなされた (Schalkwijk J et al. N Engl J Med 345: 1167-1175, 2001)。Tenascin-X 遺伝子などの関連遺伝子をゲノムレベルで解析するシステムを構築する。

C. 研究結果

欧米では、過剰運動<hypermobility>症候群の約 5-10% に血清テネイシン X (*TNXB*) の低値を認めていた (Zweers et al, 2005)。研究協力者である島根大学の松本博士が血清テネイシンを測定したが（主に日本医科大学の受診者を中心に）、関節過可動ならびに皮膚脆弱性を来す方で欠損を来していた（松本項参照）。*TNXB* 遺伝子解析では、exon 25 の fibronectin type III repeat 領域に 1 塩基 欠失をホモ接合で来し、早期に終始コドンになる。本変異の臨床症状への関わり、過剰運動<hypermobility>症候群における本遺伝子の位置づけについては更なる検討を進めたところ、関節の脱臼はほとんどなく皮膚の脆弱性症状が強くみられていた。ほかの脱臼を呈している過剰運動<hypermobility>症候群の方に血清テネイシン X スクリーニン

グを行ったところ、血清テネイシン X の欠損は見られなかった。

E. 結論

過剰運動<hypermobility>症候群では原因も含め不明な点が多い。本研究では、日本医において過剰運動<hypermobility>症候群の方がいることを明らかにした。今回、本症候群を1つのカテゴリーとして「臨床像・自然歴の解明」、「原因の解明」、「診断方法の確立」を中心とした研究を継続して進め、患者間でも症状に幅があること、テネイシン欠損は見られなかった。原因の解明としては、複数の原因があることが推定され、候補遺伝子アプローチだけでは難しく、新たなアプローチについて検討が必要である。本症候群は1施設あたりの罹患者は少ないが統括して検討することで、本症候群の実態がさらに明らかになる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 論文発表

渡邊 淳, 佐々木元子, 島田 隆.

Ehlers-Danlos 症候群. 小児科臨床 (in press)

渡邊淳, 島田隆. Ehlers-Danlos 症候群. 先天異常ハンドブック (遠藤文夫編) 中山書店. 410-411, 2013

渡邊淳, 島山未来, 島田隆. 過剰運動症候群. 日本臨床別冊 新領域別症候群シリーズ 20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下—病因・病態研究, 診断・治療の進歩— 日本臨床社 727-730, 2012

Masuno M, Watanabe A, Banyar Than Naing, Shimada T, Fujimoto W, Ninomiya S, Ueda Y, Kadota K, Kotaka T, Kondo E, Yamanouchi Y, Ouchi K, Kuroki Y. Ehlers-Danlos Syndrome, Vascular Type: A Novel Missense Mutation in the *COL3A1* Gene. *Congenital Anomalies* 52, 207-210, 2011

2. 学会発表

Watanabe A, Naing BT, Sasaki M, Akutsu K, Kosaihiira S, Gemma A, Shimada T. An intronic mutation affecting pre-mRNA splicing in the *COL3A1* gene as novel mechanisms causing vascular Ehlers-Danlos syndrome. American Society of Human Genetics Meeting 2012 (San Francisco, CA, USA, Nov 6-10, 2012)

Naing BT, Watanabe A, Hatamochi A, Morisaki H, Shimada T. Phenotype differences in patients with nonsense mutations of *COL3A1* causing nonsense-mediated mRNA decay in vascular Ehlers-Danlos Syndrome. First International Symposium on the Ehlers-Danlos Syndrome. (Ghent, Belgium, Sep 8-11, 2012)

Watanabe A, Naing BT, Shimada T. A novel gene therapy strategy for vascular Ehlers-Danlos syndrome. First International Symposium on the Ehlers-Danlos Syndrome. (Ghent, Belgium, Sep 8-11, 2012)

Watanabe A, Hatakeyama M, Tsunoda R, Matsumoto K, Kawame H, Shimada T.

Hypermobility Syndrome in Japan.
First International Symposium on the
Ehlers-Danlos Syndrome. (Ghent,
Belgium, Sep 8-11, 2012)

European Human Genetics Conference
2012 (Nuremberg, Germany, June 24-24,
2012)

Watanabe A, Hatakeyama M, Tsunoda R,
Matsumoto K, Kawame H, Shimada T. The
first case of Tenascin-X deficient type
Ehlers-Danlos syndrome in Japan.

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

本邦における Hypermobility (過剰運動) 症候群 診断基準
(改訂版ブライトン診断基準 (Grahame, 2000) を改訂)

必須項目：

- ・ 複数の関節で不安定性
(可動域の亢進・関節過可動) がある
(バイトンスコア 9 点満点中 4 点以上)
- ・ 2 箇所以上の関節での、原因不明の複数回の脱臼・亜脱臼がある
- ・ 3 カ月以上続く慢性的な関節痛がある

特記事項：

- ・ 皮膚の弛緩・過伸展は必ずしも見られない
- ・ エーラス・ダンロス症候群と診断されている方も含む
- ・ 関節の手術を行った後、数ヶ月程度で関節の不安定性が再発する際に本疾患が疑われる
- ・ マルフアン症候群、ロイスディエツ症候群などの症候性疾患、染色体異常症などを除く

平成24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）
分担研究報告書

過剰運動＜hypermobility＞症候群類縁疾患における病態解明

分担研究課題：当施設受診症例の臨床的研究

分担研究者 古庄知己 信州大学医学部附属病院遺伝子診療部

研究要旨：エーラスダンロス症候群（Ehlers-Danlos Syndrome；EDS）は、皮膚の過伸展性、関節弛緩など結合組織の脆弱性を持つ先天性疾患の総称であり、全体としての頻度は1/5000人程度と推定されている。6大病型の一つである関節型EDSは、関節過動性を主症状とし、一般に最も軽症のEDS病型と認識されているが、全身性難治性疼痛、自律神経・消化器・心血管症状、精神的問題を有する深刻な例もある。信州大学医学部附属病院遺伝子診療部では、これまでに関節症状（過伸展、反復性脱臼、動揺）、慢性疼痛、皮膚症状（過伸展、脆弱性、易出血性）、自律神経症状（起立性低血圧）といった関節型EDSの主要症状に加えて、発達障害（Asperger症候群）、神経症状（嚥下障害、深部腱反射亢進、意識消失）、耳鼻科症状、内分泌症状、および進行性の経過といった特徴を兼ね備えた関節型EDSの1つのサブグループと位置づけられる患者をフォローしている。平成24年度、病状が進行した患者もいれば、小康状態また軽快傾向の患者もいた。発達障害が診療を困難にし、正確な病状把握をしにくい患者もいた。また、平成24年度、TNXB変異を有する1患者を見出した。臨床的には血管型が最も疑われる内臓脆弱性を呈する成人患者であった。

A. 研究目的

エーラスダンロス症候群（Ehlers-Danlos Syndrome；EDS）は、皮膚の過伸展性、関節弛緩など結合組織の脆弱性を持つ先天性疾患の総称であり、全体としての頻度は1/5000人程度と推定されている。1997年、Villefrancheで開催された専門家による命名会議において、古典型（Classical type）、関節型（Hypermobility type）、血管型（Vascular type）、後側彎型（Kyphoscoliosis type）、多発関節弛緩型（Arthrochalasia type）、皮膚脆弱型（Dermatosparaxis type）の6病型に分類された。いずれも、コラーゲン分子そのもの、または修飾酵素の遺伝子変異により生じる（Am J Med Genet 77:31-37, 1998）。

関節型EDSは、関節過動性を主症状とし、一般に最も軽症のEDS病型と認識されているが、全身性難治性疼痛、自律神経・消化器・心血管症状、精神的問題を有する深刻な例もある。頻度

は1/5000～20,000とされる。少数例にテネインX遺伝子（TNXB）の変異が見出されているが、大多数の例では原因不明である。そのため、診断は臨床症状からなされるが、わが国の医療現場での認知度はきわめて低いため、正確な診断をされていない例が多いと推測される。

Beightonの基準で4/9以上の関節過動および4つ以上の関節の3か月以上の疼痛を特徴とするhypermobility syndromeという疾患があるが、現在は関節型EDSと同一疾患と位置づけられることが多い。

正確な診断、病態に即した治療法の開発には、原因遺伝子の究明が必須であるが、少数例においてTNXB遺伝子変異が発見された後、研究が進展していない。この理由の一つは、本症の遺伝的異質性によるためと推測される。この仮説が正しいとすれば、遺伝的に共通のサブタイプの探索が原因究明には重要なアプローチとい

える。

信州大学医学部附属病院は、EDS、マルファン症候群を中心に、遺伝性結合組織疾患患者の包括的診療を行う、わが国有数の施設である。これまでに、関節型 EDS を 6 家系見出したが、そのうち 5 家系は、深部腱反射亢進などの神経症状および発達障害を伴い、その後急速に多系統の合併症が重症化する、という特異なサブグループを構成する。本分担研究は、これらの症例の経過を追い、臨床的検討を継続することを目的とする。

さらに、本分担研究では、*TNXB* 変異を有する患者の探索にも取り組んだ。

B. 研究方法

平成 24 年度において、当診療部でフォロー中の関節型 EDS のなかで、深部腱反射亢進などの神経症状および発達障害を伴い、その後急速に多系統の合併症が重症化する特異なサブグループに属する 5 家系の臨床症状を分析した。

当診療部でフォロー中の EDS 患者のなかで、既知の病型に合致しない患者を対象に、*TNXB* 変異スクリーニングを行った。

なお、本研究は、信州大学医学部 医倫理委員会において承認された「先天性結合組織疾患の病態解析」の一環として行われた。

C. 研究結果

重症関節型 EDS 患者の臨床症状

家系 1

- ・ 発端者 (25 歳女性) : 重度関節過伸展・反復性脱臼・動揺、重症慢性疼痛、皮膚中等度過伸展・易出血性・脆弱性、重度起立性低血圧、軽度呼吸不全、重度過敏性腸炎、重度排尿障害、滲出性中耳炎様症状、中等度嚙下障害、重度深部腱反射亢進、重度意識消失、重度易疲労感、発達障害 (Asperger 症候群)、症状は

急速進行性。神経内科医による精査が行われるが、異常なし。平成 24 年度、呼吸困難感、疼痛、倦怠感など自覚症状は増悪しているが、栄養状態は改善している。発達障害に伴う極度のこだわり、不安感、対人関係の困難さのため、診療は困難をきわめている。

- ・ 母 (51 歳) : 中等度の関節過伸展、軽度の脱臼、中等度慢性疼痛、症状は進行性。

家系 2

- ・ 発端者 (30 歳女性) : 中等度の関節過伸展・反復性脱臼・動揺、重症慢性疼痛、軽度皮膚過伸展・脆弱性・易出血性、中等度起立性低血圧、気胸の既往・上気道炎後の咳遷延、便秘・胃食道逆流、耳管開放と狭窄とを反復・滲出性中耳炎、甲状腺機能亢進症の既往、軽度嚙下困難、軽度深部腱反射亢進、意識消失、中等度疲労感、学校適応障害の既往、症状は進行性。神経内科医による精査が行われるが、異常なし。平成 24 年度、関節痛および不安定性により、長時間歩行が困難となり、車椅子生活になった。
- ・ 妹 (24 歳) : 肩・顎関節脱臼の反復・股関節のずれ、慢性疼痛。
- ・ 甥 (4 歳) : 全身関節弛緩・反復性脱臼。

家系 3

- ・ 発端者 (29 歳女性) : 中等度関節過伸展・反復性脱臼・動揺、中等度慢性疼痛、軽度皮膚過伸展、中等度起立性低血圧、中等度深部腱反射亢進、軽度意識消失、中等度易疲労感、発達障害 (Asperger 症候群)、症状は進行性。平成 24 年度、関節痛、不安定性のため、就労不能となった。
- ・ 兄 (30 歳) : 反復性肩関節脱臼、手指関節過伸展、手首痛。

家系 4

- ・ 発端者 (40 歳女性) : 中等度関節過伸展・反復性脱臼・動揺、重症慢性疼痛、軽度皮膚過伸展・易出血性・脆弱性、耳鳴り・低音域の聴力低下、甲状腺機能亢進症の既往、中等度深部腱反射亢進、中等度易疲労感、症状は進行性。平成 24 年度の臨床情報は得られなかった。

家系 5

- ・ 発端者 (12 歳男児) : 重度関節過伸展・反復性脱臼・動揺、中等度皮膚過伸展・易出血性、中等度嚥下障害、発達障害 (Asperger 症候群)、症状は急速進行性。神経筋疾患専門医療機関で、筋生検、筋電図、神経伝導速度、脳 MRI 施行されるが、異常なし。平成 24 年度、運動能力が改善し、座位がとれるようになった。
- ・ 姉 (17 歳) : 軽度関節過伸展、発達障害 (Asperger 症候群)。
- ・ 母 (44 歳) : 軽度関節過伸展、重症慢性疼痛、易疲労感、発達障害 (Asperger 症候群様)、症状は進行性。平成 24 年度、身体障害者手帳を取得した。

TNXB 変異を有する患者の探索

血管型 EDS 様症状を有する 1 成人患者において、TNXB 変異 (エクソン 35 の欠失) が検出された。

ファロー四徴症を有し、12 歳時に根治術が行われた。それまで低身長であったが、術後にキャッチアップし、現在 162.4cm である。

27 歳頃から結膜出血を反復している。

33 歳、胆石にて開腹手術、出血は多かったが、輸血は行われなかった。

41 歳、イレウスにて緊急手術、出血が止まらない、腸が裂けやすい、縫合しにくいという特徴があった。

43 歳、右血気胸を発症し、ドレーン、胸腔鏡下

ブラ切除術が行われた。

46 歳、大腸憩室炎を発症、入院および抗生剤投与で軽快した。

54 歳、血流障害を伴ったイレウスを発症、腸切除術が行われた。腸組織診断にて、EDS の可能性が疑われ当科に受診の運びとなった。

臨床的には、血管型 EDS の可能性が高いと考え、COL3A1 の直接シーケンスおよび MLPA 解析、TNXB の MLPA 解析が行われた。

結果、エクソン 35 の欠失がヘテロ接合性に認められた。現在、病的変異といえるか、検討中である。

D. 考察

当科診療中の患者のなかで、関節症状 (過伸展、反復性脱臼、動揺)、慢性疼痛、皮膚症状 (過伸展、脆弱性、易出血性)、自律神経症状 (起立性低血圧) といった関節型 EDS の主要症状に加えて、嚥下障害、深部腱反射亢進、意識消失などの神経症状、および、発達障害 (Asperger 症候群) を呈し、進行性の経過をたどるといった特徴を兼ね備えたサブグループは確かに存在すると考えられる。

平成 24 年度臨床情報を入手できた 4 人では、病状が進行し車椅子生活になった者 (家系 2、発端者)、就労が困難になった者 (家系 3、発端者; 家系 5、母)、病状の一部は改善していた者 (家系 1、発端者)、全体として軽快傾向になった者 (家系 5、発端者) もいた。

家系 1 の発端者、家系 3 の発端者、家系 5 の発端者、その姉は、専門家より発達障害の診断を得ていた。とりわけ家系 1 の発端者は、こだわりや不安が極度の強く、診療を円滑に進めるのは困難であった。

おそらく国内 2 例目となる TNXB 遺伝子変異患

者を見出した。臨床症状からは内臓脆弱性を有し血管型 EDS が最も類似していた。TNXB 遺伝子変異例は関節型 EDS のみならず、他の EDS 患者においてもスクリーニングするプログラムの開発が期待される。

E. 結論

関節型 EDS のなかには、関節症状（過伸展、反復性脱臼、動揺）、慢性疼痛、皮膚症状（過伸展、脆弱性、易出血性）、自律神経症状（起立性低血圧）といった主要症状に加えて、発達障害（Asperger 症候群）、神経症状（嚥下障害、深部腱反射亢進、意識消失）、耳鼻科症状、内分泌症状など多彩な症状を呈し、進行性の経過をたどるサブグループがある。症状の経過は症例により様々である。診療においては発達障害の管理が重要である。

当施設で初めて経験した TNXB 遺伝子欠損症は、臨床的には血管型に類似した所見を有していた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kosho T, Kuniba H, Tanikawa Y, Hashimoto Y, Sakurai H. Natural history and parental experiences of children with trisomy 18 based on a questionnaire given to a Japanese Trisomy 18 Parental Support Group. Am J Med Genet A (in press).

Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kawame H, Homma T, Tanabe S, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Ohta T, Niikawa N, Mizuno S, Kaname T, Naritomi K, Narumi

Y, Wakui K, Fukushima Y, Miyatake S, Mizuguchi T, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: detailed description of 21 patients and a review of the literature. Am J Med Genet A (in press).

Kosho T. Discovery and delineation of dermatan 4-O-sulfotransferase-1 (D4ST1)-deficient Ehlers-Danlos syndrome. In: Current Genetics in Dermatology (Oiso N, Kawada A, eds), InTech.

Miyake N, Kosho T, Matsumoto N. Ehlers-Danlos syndrome associated with glycosaminoglycan abnormalities. In: Progress in heritable soft tissue disease, Springer (in press).

Tsurusaki Y[#], ***Kosho T**[#] (# denotes equal contribution), Hatasaki K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Doi H, Saitsu H, **Miyake N**, ***Matsumoto N** (*: co-correspondence). Exome sequencing identifies an *OFDI* mutation in a family of X-linked lethal congenital malformation syndrome: delineation of male Oral-facial-digital syndrome type 1. Clin Genet 83(2): 135-144, 2012.

Kondo E, Nishimura T, **Kosho T** (corresponding author), Inaba Y, Mitsuhashi S, Ishida T, Baba A, Koike K, Nishino I, Nonaka I, Furukawa T, Saito K. Recessive RYR1 mutations in a patient with severe congenital nemaline myopathy with ophthalmoplegia identified through massively parallel sequencing. Am J Med Genet A. 2012 Apr;158A(4):772-8

Motobayashi M, Nishimura-Tadaki A, Inaba Y, **Kosho T** (corresponding author), Miyatake S, Niimi T, Nishimura T, Wakui K, **Fukushima Y, Matsumoto N**, Koike K. Neurodevelopmental features in 2q23.1 microdeletion syndrome: Report of a new patient with intractable seizures and review of literature. Am J Med Genet Part A 158 (4): 861-868, 2012.

古庄知己. きこえと遺伝子 2 (宇佐美真一編), 金原出版, 2012.

古庄知己. 結合組織疾患-Marfan 症候群と Ehlers-Danlos 症候群. 内分泌・糖尿病・代謝内科 34 (3): 210-220, 2012.

古庄知己. Marfan 症候群, Ehlers-Danlos 症候群. 小児内科増刊号・小児疾患の診断治療基準第 4 版 (編集:『小児内科』『小児外科』編集委員会), 東京医学社(東京) 44: 850-853, 2012.

古庄知己. エーラスダンロス症候群. 別冊日本臨床・新領域別症候群シリーズ No.20・先天異常症候群第 2 版 (下), 日本臨床社, 721-726, 2012.

2. 学会発表

古庄知己, 清水健司, 岡本伸彦, 三宅紀子, 大橋博文, 松本直通, 福嶋義光. D4ST1 欠損に基づく Ehlers-Danlos 症候群の診断基準および健康管理指針の構築. 第 35 回日本小児遺伝学会 (平成 24 年 4 月 19 日 於 久留米大学筑水会館, 久留米).

古庄知己, 福嶋義光, 三宅紀子, 松本直通, 水本修二, 菅原一幸, 坂翔太, 野村義宏, 岳鳳鳴, 佐々木克典, 中山淳, 岡田尚巳, 武田伸一. デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 の欠損による新型 Ehlers-Danlos 症候群の発見, 疾患概念の確立, 遺伝子治療の開発. 第 110 回信州整形外科懇談会 (平成 24 年 8 月 18 日 於 信州大学医学部附属病院).

Kosho T, Mizumoto S, Kobayashi M, Fujita Y, Nakayama J, Miyake N, Nomura Y, Hatamochi

A, Fukushima Y, Sugahara K, Matsumoto N. Pathophysiological features of dermatan 4-O-sulfotransferase 1 (D4ST1)-deficient Ehlers-Danlos syndrome (DD-EDS). American Society of Human Genetics 62nd Annual Meeting, San Francisco, Nov 6-10, 2012.

招待講演「デルマタン硫酸 4-O-硫酸基転移酵素 (D4ST-1) 欠損による新型エーラスダンロス症候群の発見および疾患概念の確立～根治療法の開発をめざして～」古庄知己 国立精神・神経医療研究センター神経研究所内セミナー(平成 24 年 4 月 20 日 於 研究所 3 号館セミナールーム, 小平).

招待講演「整形外科疾患は遺伝性・先天性疾患の宝庫～代表的疾患から古庄型 EDS まで～」古庄知己 信州大学医学部整形外科学教室・整形外科セミナー (平成 24 年 9 月 3 日 於 信州大学医学部附属病院).

招待講演「デルマタン硫酸 4-O-硫酸基転移酵素 (D4ST-1) 欠損による新型エーラスダンロス症候群の発見および疾患概念の確立」古庄知己 第 36 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会・市民公開シンポジウム (平成 24 年 6 月 9 日～10 日 於 信州大学医学部附属病院, 松本)

招待講演「EDS の臨床～基本的なこと, 新しいこと～」古庄知己 2012 年度 JEFA 総会 (2012/6/30, 於 横浜市浦舟地域ケアプラザ)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

平成24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）
分担研究報告書

過剰運動<hypermobility>症候群類縁疾患における病態解明

分担研究課題：過剰運動<hypermobility>症候群類縁疾患の分子遺伝学的解析

研究分担者 松本直通・三宅紀子 横浜市立大学大学院医学研究科環境分子医科学

研究要旨：過剰運動<hypermobility>症候群類縁疾患の責任遺伝子同定を目的とする。まず、臨床症状から本症候群と診断された典型例 27 症例にエキソーム解析を行い、2 症例以上に共通してバリエーションを認める遺伝子を抽出した。2 症例以上に共通してバリエーションを認めた遺伝子は、505 遺伝子であった。その中で、まず 4 症例以上に共通する優先順位の高い 38 遺伝子の各バリエーションに対して病原性を予測し、病原性が低いものを除外したところ 27 遺伝子が候補として残った。そのうち 3 遺伝子に関しては家系内 segregation に矛盾することが判明し、候補から除外された。現在のところ、責任遺伝子の同定には至っていない。

A. 研究目的

関過剰運動<hypermobility>症候群類縁疾患は、時に脱臼・亜脱臼、変形性関節症、慢性疼痛等の深刻な合併症を呈し、著しい QOL 低下をきたす場合がある。本症候群の責任遺伝子を同定し疾病病態を解明することはきわめて重要である。本年度は、本症候群患者である典型例 27 症例に対してエキソーム解析を行い共通する遺伝子変異と、機能的候補遺伝子に関して詳細に検討を行い責任遺伝子の同定を目指した。

B. 研究方法

本症候群と診断された、典型例 27 症例に対して次世代シーケンサーを用いたエキソーム解析を施行した。常染色体優性遺伝形式を想定し、患者に共通して変異を有する遺伝子を抽出することとした。

まず、患者及び両親検体の末梢血細胞から、ゲノム DNA を抽出し、double strand DNA として 3 microgram を Covaris S2 (Covaris 社) を使用して、target size 200 bps として断片化を行った。エキソン領域のゲノム分画は、SureSelect All Human Exome kit 50Mb Kit、SureSelect All Human Exome v4 kit (51Mb) もしくは SureSelect All Human Exome v4+UTRs kit (71Mb) (いずれも Agilent 社) を用いてゲノム分画を行い、Genome Analyzer IIx (108 cycles x2, pair end) もしくは HiSeq2000 (101 cycles x2, pair end, 7 index reads) (いずれも Illumina 社) で塩基解読を行った。

一次解析 (Image analysis, Base calling) は CASAVA (Illumina 社) で行い、quality の情報の付いた塩基配列情報である fastq.txt ファイルを出力させた。

二次解析は以下の流れで行った。

1. Mapping: Novoalign
(<http://www.novocraft.com/main/index.php>)
2. Remove duplicate: Picard tool
(<http://picard.sourceforge.net/command-line-overview.shtml#MarkDuplicates>)
3. Variant call: Genome Analysis Toolkit: GATK
(<http://www.broadinstitute.org/gatk/>)
4. Annotation: ANNOVAR
(<http://www.openbioinformatics.org/annovar/>)

さらに以下の設定により候補となるバリエーションを抽出した。

1. exon および exon-intron border +/-2 塩基
2. Synonymous 変異以外
3. Segmental Duplication を含まない変異
4. dbSNP135 以外