

201231093A

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）

分子診断に基づくヌーナン症候群の診断・  
治療ガイドライン作成と新規病因遺伝子探索  
（H23-難治-一般-115）

平成24年度 総括・分担研究報告書  
研究代表者 松原 洋一

平成25年（2013）3月

# 目次

---

## I. 総括研究報告

- 分子診断に基づくヌーナン症候群の診断・治療ガイドライン作成と新規病因遺伝子の探索  
松原 洋一 ..... 1

## II. 分担研究報告

1. 分子診断に基づくヌーナン症候群の診断・治療ガイドライン作成と新規病因遺伝子の探索  
松原 洋一 ..... 7
2. 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  
緒方 勤 ..... 11
3. ヌーナン症候群におけるモヤモヤ病  
黒澤 健司 ..... 17
4. 新規遺伝子変異を同定したNoonan症候群3例の臨床像  
岡本 伸彦 ..... 21
5. 新規病因遺伝子変異を有するNoonan症候群患者の臨床像に関する研究  
水野 誠司 ..... 25
6. ヌーナン症候群類縁疾患の臨床像とケアに関する研究  
大橋 博文 ..... 29
7. Noonan症候群の遺伝子型の多様性の同定: SWI/SNF複合体異常症とのオーバーラップ  
川目 裕 ..... 33
8. 精神運動発達遅滞症例のCGHマイクロアレイ解析  
呉 繁夫 ..... 37
9. 遺伝学的検査に伴う偶発的所見の回付に関する  
一般及び専門家の意見・考え方に関する研究  
栗山 進一 ..... 39

## III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... 43

## IV. 研究成果の刊行物・別刷 ..... 49



# I . 総括研究報告

## 分子診断に基づくヌーナン症候群の診断・治療ガイドライン作成と 新規病因遺伝子の探索

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

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) 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。今年度は、ヌーナン症候群の診断基準と診療指針を作成した。また、患者家族及び医療者向けの公開シンポジウムを開催した。さらに次世代遺伝子解析装置を用いることによって、新規病因遺伝子候補を同定した。現在、機能解析による検証を実施中である。

#### <研究分担者>

松原洋一・東北大学・教授  
緒方 勤・浜松医科大学・教授  
黒澤健司・神奈川県立こども医療センター・科長  
岡本伸彦・大阪府立母子保健総合医療センター・科長  
水野誠司・愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・研究員  
大橋博文・埼玉県立小児医療センター・科長  
川目 裕・お茶の水女子大学・教授  
呉 繁夫・東北大学・教授  
栗山進一・東北大学・教授

#### <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  
横谷 進・国立成育医療研究センター・部長  
永井敏郎・獨協医科大学・教授  
坂爪 悟・獨協医科大学・講師  
長谷川奉延・慶應義塾大学・准教授  
苅部明彦・宮城大学・教授

#### 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、研究代表者ら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。

今年度は、まずヌーナン症候群の診断基準と診療指針を作成した。次に、患者家族及び医療者向けの公開シンポジウムを開催した。さらに次世代遺伝子解析装置を用いることによって、新規病因遺伝子候補を同定した。

## B. 研究方法

### 1) ヌーナン症候群の診断基準と診療指針の作成

わが国でのヌーナン症候群の臨床および研究において中心的な役割を果たしていると思われる分担研究者および研究協力者が討議をおこなうとともに、英国及び米国で発表されている診断基準を参考にして、ヌーナン症候群の診断基準と診療指針を作成した。

### 2) ヌーナン症候群公開シンポジウムの開催

医療関係者・患者家族を対象にヌーナン症候群シンポジウムを開催した。

### 3) 診療支援と遺伝子診断

従来型のキャピラリーシークエンサーによる遺伝子診断の提供を行うとともにデスクトップ型次世代シークエンサーを用いた網羅的遺伝子解析による診断システムの構築をおこなった

### 4) ヌーナン症候群の新規病因遺伝子の同定

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に対し、次世代シークエンサーを用いた網羅的な病因遺伝子探索をおこなった。

なお、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) ヌーナン症候群の診断基準と診療指針の作成(松原、黒澤・岡本・水野・大橋・川目・緒方、青木、新堀、横谷、長谷川、永井、坂爪、荻部)

分担研究者および研究協力者が討議をおこなうとともに、英国及び米国で発表されている診断基準を参考にして、ヌーナン症候群の診断基準と診療指針を作成した。最終的にまとめられたものを図1に示す。

### 2) ヌーナン症候群公開シンポジウムの開催(松原、黒澤・岡本・水野・大橋・川目・緒方、青木、新堀、横谷、長谷川、永井、坂爪、荻部)

平成24年8月18日(土)に東京国際フォーラムにて、医療関係者・患者家族を対象にヌーナン症候群シンポジウムを開催した(ず2)。研究班の4人がヌーナン症候群の概説、

遺伝子、からだの成長、成長曲線について講演を行った。ヌーナン症候群類縁疾患家族会である「おでこちゃんクラブ」よりメッセージや患者さん家族の写真が届き、スライド上映とともに紹介した。

### 3) 診療支援と遺伝子診断

これまでに東北大学遺伝病学分野にはヌーナン症候群類縁疾患550例の診断依頼があった。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、338人/550人(61%)には変異が同定されなかった。

現在ヌーナン症候群と類縁疾患の原因遺伝子は10を超えており、これらの全遺伝子を迅速に網羅的に解析するために、デスクトップ型次世代シークエンサーを用いた網羅的遺伝子解析による診断システムを構築した。

### 4) ヌーナン症候群の新規病因遺伝子の探索(松原、青木、新堀)

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に対し、次世代シークエンサーHiSeq2000を用いた網羅的な病因遺伝子探索をおこなった。その結果、新規病因遺伝子候補を同定した。現在、機能解析による検証を実施中である。

### 5) 分担研究者によるその他の研究

緒方は、臨床診断クライテリアの作成、PTPN11 遺伝子の遺伝子型-表現型解析、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。黒澤は、ヌーナン症候群にモヤモヤ病を合併した女兒について解析した。

岡本と水野は、新規遺伝子変異による Noonan 症候群の臨床像を詳細に分析し、他の遺伝子型と比較を行った。

大橋は、ヌーナン症候群の成長曲線の作成のためのデータ収集をおこなうとともに、ヌーナン類縁疾患として重要なコストロ症候群の摂食特性とケアのあり方について検討を行った。

川目は、青木・新堀らと共に、Noonan 症候群類縁症候群の診断を受けている女兒において、SWI/SNF 複合体を構成する遺伝子である *ARID1B* 遺伝子に病的変異を生殖細胞系列に認めた。本知見は、SWI/SNF 複合体を構成する遺伝子変異が、Noonan 症候群の臨床所見を引き起こすことを示唆し、遺伝的異質性の広がり性を示すものと考えられた。

栗山は、遺伝学的検査に伴う偶発的所見の回付に関する一般及び専門家の意見・考え方について検討を行った。

## D. 考察

本研究班で作成したヌーナン症候群の診断基準と診療指針は、パンフレットとして印刷した後、国内の大学病院、小児病院、地域

基幹病院の小児科に配布する予定である。これによって、より多くの患者が正しく診断され、また早期の医療介入とケアが可能になるものと期待される。

また、ヌーナン症候群の新規病因遺伝子の同定は、遺伝子診断に寄与するとともに、疾患発症メカニズムの解明と分子標的治療への道を開くものと思われる。今後、機能解析やモデル動物作成が重要である。

ヌーナン症候群公開シンポジウムをはじめ開催し、参加者らの熱心な意見交換が行われた。本研究班終了後も何らかの形で研究の進歩を患者家族や医療関係者に還元していくことが重要と考えられた。

#### E. 結論

ヌーナン症候群の診断基準と診療指針を作成した。今後、わが国におけるヌーナン症候群患者に対する診療水準の向上に役立つものと思われる。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
(各分担研究報告書を参照のこと)
2. 学会発表  
(各分担研究報告書を参照のこと)

#### G. 知的所有権の取得状況

なし

(図1) ヌーナン症候群の診断基準と診療指針

## ヌーナン症候群の 診断基準と診療指針

平成25年(2013年)2月作成

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業) 研究班  
分子診断に基づく  
ヌーナン症候群の診断・治療ガイドライン作成と  
新規病因遺伝子探索

研究代表者／松原 洋一

### ヌーナン症候群の診断基準

#### (1)臨床診断

臨床診断項目	A型診断項目	B型診断項目
1. 顔貌 (A-1) 高鼻勾背症*	(A-2) 顔面顔貌異常、顔面型顔容で心顔容並びまたはヌーナン症候群に特徴的な顔面像*	(B-1) 本症候群を示唆する顔貌
2. 心臓	(A-3) 肺動脈弁閉鎖不全、左室性心不全、心嚢周囲液	(B-2) 左冠以外の心疾患
3. 身長	(A-4) 3歳～5歳時身長(1.185)以下	(B-3) 10歳～12歳時身長(1.335)以下
4. 胸骨	(A-5) 陥胸/漏斗胸	(B-4) 広い胸骨
5. 家系歴	(A-6) 第一近親者に診断済みのヌーナン症候群の患者あり	(B-5) 第一近親者にヌーナン症候群が疑われる患者あり リン/腫瘍形成のうち1つありかつ
6. その他	(A-7) 発達遅滞、学習障害、リン/腫瘍形成のすべて	(B-6) 発達遅滞、学習障害 リン/腫瘍形成のうち1つありかつ

上記の身体特徴のうち、以下の(a)～(e)のいずれかの条件を満たす場合には、臨床診断としてヌーナン症候群と診断する。

- (a) (A-1)と、(A-2)～(A-6)のうち1項目または(B-2)～(B-6)のうち2項目が該当
- (b) (A-1)と、(A-2)～(A-6)のうち2項目または(B-2)～(B-6)のうち3項目が該当
- (c) (A-1)と、(A-2)～(A-6)のうち3項目または(B-2)～(B-6)のうち4項目が該当
- (d) (A-1)と、(A-2)～(A-6)のうち4項目または(B-2)～(B-6)のうち5項目が該当
- (e) (A-1)と、(A-2)～(A-6)のうち5項目または(B-2)～(B-6)のうち6項目が該当

\*1/身長は性別、年齢に依る標準偏差(2SD)より低いこと、または年齢別の百分位( percentile)で25以下であることを示す。

\*2/家族歴の情報は、診断済みの患者の遺伝子検査結果、あるいは臨床診断による診断を指す。

#### (2)遺伝子診断

ヌーナン症候群の約70%が遺伝子変異が同定される。同定されれば、遺伝子診断を実施することが望ましい。\*

(a)以下のいずれかの遺伝子にヌーナン症候群の原因と考えられる遺伝子変異\*\*が認められた場合には、(1)の臨床診断に併せて遺伝子診断を実施し、疑念を解消しつつヌーナン症候群であること、またヌーナン症候群と診断する。

PP1N1, SOS1, RAF1, MEAS1

(b)以下のいずれかの遺伝子にヌーナン症候群の原因と考えられる遺伝子変異\*\*が認められた場合には、(1)の臨床診断に併せて遺伝子診断を実施し、疑念を解消しつつヌーナン症候群であること、またヌーナン症候群と診断する。

KRAS, SHOC2, CELF1, BRAF

\*1/ヌーナン症候群の原因遺伝子変異が同定されている(N19)2項目28例

\*2/家族歴の情報は、診断済みの患者の遺伝子検査結果、あるいは臨床診断による診断を指す。

#### (3)鑑別診断

上記の(1)および(2)のいずれの形質においても、下記の疾患を鑑別し、個別に診断することが必要である

①心顔容 (cardio-facio-cutaneous syndrome)  
特徴的な身体所見: 陥胸/漏斗胸並び/またはRAFA, MEK1/2, KRAS遺伝子のいずれの異常  
②カスティング (Casting syndrome)  
特徴的な身体所見: 陥胸/漏斗胸並び/またはKRAS遺伝子の異常  
③ジャコブ症候群 (JACOBS syndrome)  
特徴的な身体所見: 陥胸/漏斗胸並び/またはRAF1またはBRAF遺伝子の異常

### ヌーナン症候群の診療指針

先天性心疾患	小児心臓病専門医による精密(心エコーを含む)心臓評価、必要に応じて外科的治療、拡大心臓病の管理(肥厚性心臓病)に注意。
発育不全/体重増進不良/成長遅滞	成長、発育の遅延、遅延の程度により、医療機関へ相談し、必要に応じて栄養サポート、内分泌科の管理、必要に応じて成長ホルモンの補充を考慮。
発達遅滞/学習障害	発達遅滞、学習障害、必要に応じて、行動療法、作業療法、理学療法、言語療法、個別化された教育プログラム、必要に応じて心理的サポート。
低身長	成人身長が標準的な場合、平均以下の場合は小児内分泌科専門医による管理、必要に応じて成長ホルモンの補充を考慮。
血液学的異常	血液学的異常(貧血、血小板減少症、白血球減少症、骨髄腫瘍、骨髄炎、骨髄腫瘍、骨髄腫瘍、骨髄腫瘍、骨髄腫瘍、骨髄腫瘍)の発症に注意。
腎奇形	臨床検査、必要に応じて腎臓病専門医による管理。
呼吸器系	一般的な治療。
眼科異常	眼科専門医による管理とフォローアップ(眼球振盩、視野の異常など)。
聴力障害	定期的な聴力検査、必要に応じて補聴器の使用を考慮。
神経学的異常	神経学的異常(けいれん、運動障害など)が認められた場合は、神経科専門医による管理、必要に応じて物理療法、作業療法、言語療法。
皮膚症状	皮膚科治療(日光照射、保湿剤など)。
骨格系異常	骨格系異常のモニタリング、必要に応じて外科的治療。
歯科異常	歯科治療、必要に応じて歯科医師(矯正歯科、歯科専門家など)、小児歯科専門医に注意。
リンパ浮腫	一般的な治療。
甲状腺異常	甲状腺機能の定期的な評価(必要に応じて)。
遺伝カウンセリング	遺伝カウンセリング(患者、家族)の提供、本人が身体的に満足した場合、次世代への遺伝的リスクの提供、遺伝子検査など)。
不妊	男性患者でも不妊のリスク、必要に応じて専門医へ紹介。
妊娠	胎児が罹患している場合、胎児異常(羊水過多、胎児肺水腫、胎児心臓異常など)の可能性、必要に応じて出生前診断(遺伝カウンセリングが必要)、分娩時の医療サポートに注意。

(図2) ヌーナン症候群シンポジウムの開催

## 第1回 ヌーナン症候群 シンポジウムのご案内

このたび、厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「分子診断に基づくヌーナン症候群の診断・治療ガイドライン作成と新規病関連遺伝子探索」研究班では、ヌーナン症候群の患者さまとご家族、医療関係者、研究者を交えたシンポジウムを開催することになりました。

今回のシンポジウムでは、ヌーナン症候群についての最新の情報をご提供するとともに、患者さまやご家族が疑問や不安に思っておられることについて、共に考えていきたいと思っております。ぜひ奮ってご参加くださるようお願いいたします。

**日時** 平成24年8月18日(土) 15:00~17:00

**会場** 東京国際フォーラム ガラス棟 G409会議室  
(東京都千代田区丸の内3-5-1) 裏面地図参照

**参加費** 無料(定員80名)

**申込方法** 裏面にある参加申込書にご記入の上、郵送、FAXまたはモバイルサイトよりお申し込みください。締切は7月31日(火)です。

**プログラム**

(1)ヌーナン症候群とは	黒澤健司(神奈川県立こども医療センター)
(2)ヌーナン症候群と遺伝子	青木洋子(東北大学)
(3)ヌーナン症候群とからだの成長	緒方 勤(浜松医科大学)
(4)ヌーナン症候群の成長曲線作成	榎谷 進(国立成育医療研究センター)
(5)全体討論	

**主催**  
厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)  
「分子診断に基づくヌーナン症候群の診断・治療ガイドライン作成と新規病関連遺伝子探索」  
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)、  
緒方 勤(浜松医科大学)、川目 裕(お茶の水女子大学)、栗山進一(東北大学)、 呉 繁夫(東北大学)、  
黒澤健司(神奈川県立こども医療センター)、水野誠司(愛知県心身障害者コロニー中央病院) 五十音順

**共催**  
内閣府先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
「RAS/MAPKシグナル伝達異常症の原因・病態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**  
「成育稀少疾患の症例登録と長期予後追跡」  
研究代表者 深見真妃(国立成育医療研究センター)  
研究分担者 松原洋一(東北大学)





## Ⅱ. 分担研究報告

## 分子診断に基づくヌーナン症候群の診断・治療ガイドライン作成と 新規病因遺伝子の探索

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

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) ヌーナン症候群の遺伝子診断を提供する、2) 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、診断基準と診療ガイドラインを作成する、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、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、全国の診断希望患者に遺伝子診断を提供するとともに、パーソナルシーケンサーを用いた診断法の検討を行った。また、わが国の実態に即した診断・診療ガイドラインを作製した。夏には初めてヌーナン症候群シンポジウムを開催した。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行っている。新しい診断基準と診療ガイドラインを作成したことにより、遺伝子診断の需要が増す可能性があるため、遺伝子解析基盤の充実が今後重要になると考えられた。

### <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  
井上晋一・東北大学・助教  
井泉瑠美子・東北大学・大学院生  
守谷充司・東北大学・大学院生  
矢尾板全子・東北大学・大学院生

本研究の目的は、1) ヌーナン症候群の遺伝子診断の実施とその基盤の整備を行うこと、2) これまでに研究班で行ってきたヌーナン症候群の分子診断と実態調査の結果に基づいて、ヌーナン症候群の診断基準と診療ガイドラインを作成する、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、4) 医療機関・患者への情報提供を行うことである。

### 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 コステ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)。

### B. 研究方法

#### 1) 医療機関への診断支援 (松原、青木、新堀)

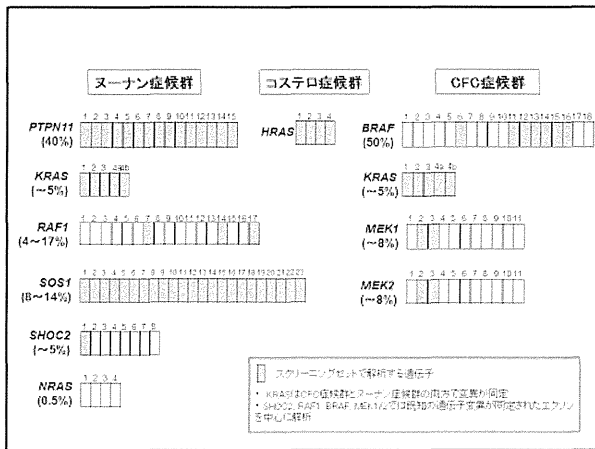
全国調査を実施する過程で、医療機関からの診断支援の要望がある症例について、臨床症状および患者写真 (主治医が両親からの許諾を得られた場合に限る) の提供を受け、分担研究者の協力を得て臨床診断を行った。その結果に基づいて、適切と考えられる遺伝子解析の候補遺伝子を選択した。

#### 2) 遺伝子解析 (青木、新堀、井泉、矢尾板、守谷)

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。

まず、図 1 に示した遺伝子の各エクソンをシーケンシングし、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 (図 1)



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。

### 3) 臨床症状・分子診断を加味した診断基準と診断ガイドラインの作成 (青木・松原)

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。また、前年度に翻訳した英国のヌーナン症候群診療ガイドライン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・診療ガイドラインを作成する。

### 4) 新規遺伝子の同定 (松原、青木、新堀)

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を集積している。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おこなった。

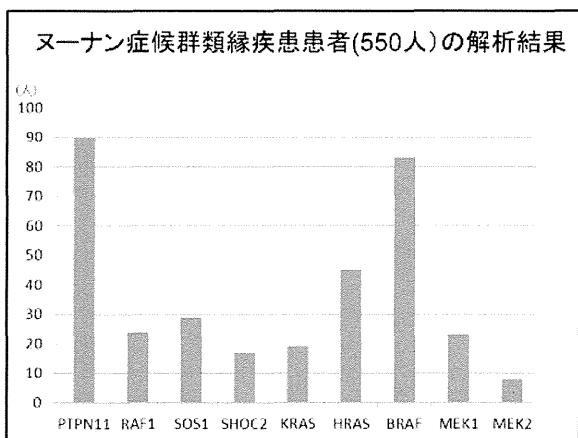
### 5) 医療機関・患者への情報提供 (ホームページの設立、シンポジウムの開催) (青木、松原、井上)

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、シンポジウム開催を行う。

本研究は「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」「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

(図 2)



### 1) 診療支援と遺伝子診断

これまでに当科にはヌーナン症候群類縁疾患 550 例の診断依頼があった。これらの全体の遺伝子診断結果を図 2 に示す。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、338 人/550 人 (61%) には変異が同定されなかった。

(図 2)

現在ヌーナン症候群と類縁疾患の原因遺伝子は10 を超えており、これらの全遺伝子を迅速に網羅的に解析するために、デスクトップ型次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析にも着手している。

### 2) 臨床症状・分子診断を加味したヌーナン症候群の診断基準と診療指針の作成

昨年本研究班で英国の診療指針邦訳ガイドラインを翻訳した。この診療指針と、van der Burgt による診断指針を参考にして、我が国におけるヌーナン症候群の診断基準と診療指針を作成した。van der Burgt の診断基準に比べて本研究班が独自に付け加えた点として①van der Burgt の診断指針で最も重きを置く基準が「典型的な顔貌」であるが、この判定には dysmorphology (臨床奇形診断学) に習熟した専門医による判定が必要なこと、②現在遺伝子診断による確定診断が可能であることから、遺伝子診断は 2013 年時点で保険収載されていないが、可能であれば遺伝子診断を実施することが望ましいこと、③鑑別診断を挙げた点、以上の 3 点である。いずれも我が国の医療事情とこれまでの本研究班の遺伝子解析研究から、診断基準に重要と判断した。ヌーナン症候群の診断基準と診療指針は、全国の大学病院を含む主要病院小児科に郵送した。

### 3) ヌーナン症候群シンポジウムの開催

### 第1回 ヌーナン症候群シンポジウムのご案内

このたび、厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「分子診断に基づくヌーナン症候群の診断・治療ガイドライン作成と新規原因遺伝子探索」研究班では、ヌーナン症候群の患者さまとご家族、医療関係者、研究者を交えたシンポジウムを開催することになりました。

今回のシンポジウムでは、ヌーナン症候群についての最新の情報をご提供するとともに、患者さまやご家族が疑問や不安に思っておられることについて、共に考えていきたいと思います。ぜひ喜んでご参加くださるようご案内いたします。

日時	平成24年8月18日(土) 15:00~17:00
会場	東京国際フォーラム カラオケ G+0.9会議室 (東京都千代田区丸の内3-5-1) 裏面地区8階
参加費	無料(定員80名)
申込方法	裏面にある参加申込書にご記入の上、郵送、FAXまたはホームページよりお申し込みください。締切は7月31日(火)です。
プログラム	(1)ヌーナン症候群とは 岡澤健司(徳島川内立こども医療センター) (2)ヌーナン症候群と遺伝子 青木洋子(東北大学) (3)ヌーナン症候群とからだの成長 橋野 勲(浜松医科大学) (4)ヌーナン症候群の成長曲線作成 橋野 進(国立成育医療研究センター) (5)全体討論

**主催**  
厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)  
「分子診断に基づくヌーナン症候群の診断・治療ガイドライン作成と新規原因遺伝子探索」  
研究代表者 松原博一(東北大学)

**研究分担者** 大塚博文(埼玉小児医療センター)、岡澤健司(大塚博文母子保健総合医療センター)、橋野 進(浜松医科大学)、川田 祐(滋賀医科大学)、奥山一(東北大学)、青木洋子(東北大学)、黒澤雄司(徳島川内立こども医療センター)、水野雄司(愛知県心身障害者総合センター) 五十音順

**共催**  
内閣府先端研究開発基金助成金(難治性・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活性化・抑制の発現とその治療戦略」  
研究代表者 青木洋子(東北大学)

**成育医療研究開発院**  
「成育障害の発現・診断と治療支援プログラム」  
研究代表者 深見真由(国立成育医療研究センター)  
研究分担者 松原博一(東北大学)

8月18日(土)に東京国際フォーラムにてヌーナン症候群シンポジウムを行った。研究班の4人がヌーナン症候群の概説、遺伝子、からだの成長、成長曲線

について講演を行った。ヌーナン症候群類縁疾患家族会である「おでこちゃんクラブ」よりメッセージや患者さん家族の写真が届き、スライド上映とともに紹介した。医療関係者・患者家族を含め約 50 名の参加を得た。

#### 4) 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、HiSeq2000 機種を用いた。これまでに候補遺伝子群が選定され、順次その解析が進行中である。

#### D. 考察

これまでに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た。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 500 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デスクトップ型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整備していく予定である。

今回、日本におけるヌーナン症候群の診断基準と診療指針を作成し、全国の病院に配布した。今後これらのガイドラインを用いた診療が行われることが予測されるが、遺伝子診断の需要が増すことが想像され、今後更なる遺伝子診断体制の基盤整備が必要になると考えられる。

初めてヌーナン症候群シンポジウムを行い医療関係者や患者・家族との交流も深まった。日本において唯一の患者会である「おでこちゃんクラブ」との連携もできてきたが、未だに一般の患者さんたちにとっては発達遅延や摂食障害に対する具体的な対処法についての情報が少ないため、今後も継続してシンポジウムやホームページを通じた情報提供が必要であると考えた。

#### E. 結論

本研究班の成果として日本における「ヌーナン症候群の診断基準と診療指針 (ver 1.0)」を作成し全国の病

院へ配布した。この診断基準と診療指針は、海外の診断基準と診療ガイドラインを参考にし、日本の医療事情に即して作製したものである。診断基準には遺伝子診断による診断を補助診断としているが、ヌーナン症候群の包括的遺伝子診断を行っているのは日本では当研究室のみであり、今後遺伝子診断の依頼が急増することが予測される。今後は遺伝子診断の基盤の整備が必要である。本研究班終了後の検査提供体制について行政的な措置 (保険適用など) が必要と考えられる。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表 (研究代表者、研究分担者に下線)

1. Abe Y, Aoki Y, Kuriyama S, Kawame H, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Ogata T, Kure S, Niihori T, Matsubara Y, Costello and CFC syndrome study group in Japan. Prevalence and clinical features of Costello syndrome and cardio-facio-cutaneous syndrome in Japan: Findings from a nationwide epidemiological survey. Am J Med Genet Part A. 158A:1083-1094, 2012.

2. Saito Y, Aoki Y, Muramatsu H, Makishima H, Maciejewski JP, Imaizumi M, Rikiishi T, Sasahara Y, Kure S, Niihori T, Tsuchiya S, Kojima S, Matsubara Y. Casitas B-cell lymphoma mutation in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. Leuk Res. Aug;36(8):1009-15. 2012

##### 2. 学会発表

1) 第 115 回日本小児科学会学術集会 2012 年 4 月 20-22 日 久留米 口演

齋藤由佳、青木洋子、村松秀樹、今泉益栄、力石健、笹原洋二、呉繁夫、新堀哲也、小島勢二、松原洋一  
Noonan 症候群類縁疾患と小児血液腫瘍における CBL の分子遺伝学的解析

2) 日本人類遺伝学会第 57 回大会 2012 年 10 月 24-27 日 東京 口演

齋藤由佳、青木洋子、村松秀樹、今泉益栄、力石健、笹原洋二、呉繁夫、新堀哲也、小島勢二、松原洋一  
Noonan 症候群類縁疾患と小児血液腫瘍における CBL の分子遺伝学的解析

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

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、臨床診断クライテリアの作成、PTPN11 遺伝子の遺伝子型-表現型解析、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) van der Burgt のクライテリアは、臨床遺伝医・小児遺伝医の関与のもとに、臨床診断に使用しようというコンセンサスが得られつつある。(2) 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 変異が出血傾向を伴い易いこと、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。(3) 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が開始された。(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、男児外性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評価が正確に行えないことが挙げられる。

また、ヌーナン症候群では、遺伝子診断が、研究代表者の松原らのグループを含め、精力的に行われている。現在までに、8 個以上の責任遺伝子が同定され、遺伝子型-表現型解析が行われている。特に PTPN11 異常の遺伝子型-表現型解析は、この変異が変異陽性患者の約 2/3 を占めることから極めて重要である。しかし、同時に全ての既知の遺伝子を解析しても遺伝子変異が検出される患者は、約 60%に留まる。したがって、未知の責任遺伝子が残されていると推測される。

われわれは、このヌーナン症候群に関する研究班において、臨床的診断基準の作成、PTPN11 異常の遺伝子型-表現型解析（特に成長パターン）、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ている。

### B. 研究方法

- 文献解析:ヌーナン症候群の文献解析から臨床診

断クライテリアの設定を行った。また、種々の遺伝子変異に特徴的な症状の解析を行った。

- 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の作成: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。なお、浜松医科大学において「先天性奇形症候群における遺伝的原因の探索」が承認されている（浜松医科大学第 23-1 12 号）

### C. 研究結果

- 文献上の臨床診断クライテリア: van der Burgt の臨床診断クライテリアが最もよく用いられていることが判明した。このため、これを翻訳し、臨床遺伝専門医の評価を受けている（最後の表 1 参照）。そして、現在までに、このクライテリアが最も適切なものであり、臨床的に使用するものとして妥当であるという合意が得られつつある。しかし、最も重要な所見である「典型的な顔貌」が、

主観的評価に過ぎないことに臨床診断上の曖昧さが残るこのために、先天奇形の診断に携わってきた臨床遺伝医・小児遺伝医が臨床診断に関与することの重要性が指摘されている。

- 本邦患者 45 例の臨床的および分子遺伝学的解析：本研究により、初めて JMML や出血傾向などの血液学的異常が PTPN11 変異に特異的であることが判明した。しかし、臨床的に問題となるような大出血の既往は認められなかった。また、低身長を主訴として受診した患者は男児 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：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 (表 2)。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。
- 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。さらに、国内の臨床医の印象としても、同じ傾向が感じられた。
- 疾患特異的成長曲線作成の開始：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、ヌーナン症候群患者特異的成長曲線の作成が開始された。既に、中心となる成育医療研究センターにおいて倫理委員会の承認が得られ、それに続いてほとんどの施設において倫理委員会の承認後にデータ集積が開始されている。
- 海外の成長ホルモン治療の現状と安全性の解析：成長ホルモン治療が、おおむね成人身長を約 9 cm 増加させることが判明した。また、留意点として、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。
- ヌーナン症候群患者会設立への貢献と患者会における講演：研究代表者の松原が中心となり、第一回のヌーナン症候群患者会が開催され、「ヌーナン症候群と体の成長」という演題で講演を行った (図 1)。

#### D. 考察

本研究の成果は以下のようにまとめられる。第一に、van der Burgt のクライテリアが、臨床遺伝医・小児遺伝医の関与のもとに、臨床診断使用しようというコンセンサスが得られつつある。したがって、今後、この方針が用いられると思われる。これは、ヌーナン症候群における遺伝子診断が、多数の遺伝子解析を要しながらも 60% 程度の患者でしか変異を検出できていないことから、現場におけるヌーナン症候群の診断に極めて有用であると思われる。第二に、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

が出血傾向を伴い易いことが世界で初めて判明した。た、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。さらに、男女差が認められた身長項目は、低身長を主訴として受診する患者が男児において女児よりも多いことで説明される。第 3 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。現在身長データの蓄積が進みつつあり、ヌーナン症候群成長曲線の作成へと結実すると期待される。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こと期待される。最後に、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

臨床診断クライテリアの作成、本邦ヌーナン症候群患者 45 例の遺伝子型-表現型解析と成長障害の評価、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. 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* 76 (1): 78-87, 2012.
2. Sugihara S\*, Ogata T, Kawamura T, Urakami T, Takemoto K, Kikuchi N, Takubo N, Tsubouchi K, Horikawa R, Kobayashi K, Kasahara Y, Kikuchi T, Koike A, Mochizuki T, Minamitani K, Takaya R, Mochizuki H, Nishii A, Yokota I, Kizaki Y, Mori T, Shimura N, Mukai T, Matsuura N, Fujisawa T, Ihara K, Kosaka K, Kizu R, Takahashi T, Matsuo S, Hanaki K, Igarashi Y, Sasaki G, Soneda S, Teno S, Kanzaki S, Saji H, Tokunaga K, Amemiya S, The Japanese Study Group of Insulin Therapy for Childhood and Adolescent Diabetes (JSGIT): Genetic characteristics on HLA-cass II and class I among Japanese type 1A and type 1B diabetic children and their families. *Pediatr Diabetes* 13 (1): 33-44, 2012.
3. 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* 20 (9): 928–932, 2012.
4. Oto Y\*, Obata K, Matsubara K, Kozu Y, Tsuchiya T, Sakazume S, Yoshino A, Murakami N, Ogata T, Nagai T: Growth hormone secretion and its effect on height in pediatric patients with different genotypes of Prader-Willi syndrome. *Am J Med Genet A* 158A (6): 1477–1480, 2012.
  5. Fuke-Sato T, Yamazawa K, Nakabayashi K, Matsubara K, Matsuoka K, Hasegawa T, Dobashi K, Ogata T\*: Mosaic upd(7)mat in a patient with Silver-Russell syndrome: correlation between phenotype and mosaic ratio in the body and the placenta. *Am J Med Genet A* 158A (2): 465–468, 2012.
  6. Stoppa-Vaucher S, Ayabe T, Paquette J, Patey N, Francoeur D, Vuissoz J-M, Deladoëy J, Samuels ME, Ogata T, Deal CL\*: 46, XY gonadal dysgenesis: new *SRY* point mutation in two siblings with paternal germ line mosaicism. *Clin Genet* 82 (6): 505–513, 2012.
  7. Abe Y, Aoki Y\*, Kuriyama S, Kawame H, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Ogata T, Kure S, Niihori T, Matsubara Y: Prevalence and clinical features of Costello syndrome and cardio-facio-cutaneous syndrome in Japan: Findings from a nationwide epidemiological survey. *Am J Med Genet A* 158A (5): 1083–1094, 2012.
  8. Koyama Y\*, Homma K, Fukami M, Miwa M, Ikeda K, Ogata T, Hasegawa T, Murata M: Two-step biochemical differential diagnosis of classical 21-hydroxylase deficiency and cytochrome P450 oxidoreductase deficiency in Japanese infants using uUrinary Pregnanetriolone / Tetrahydrocortisone Ratio and 11 $\beta$ -hydroxyandrosterone by Gas chromatography - mass spectrometry. *Clin Chem* 58 (4): 741–747, 2012.
  9. Sekii K\*, Itoh H, Ogata T, Iwashima S: Deterioration of myocardial tissue Doppler indices in a case of fetal hydrothorax as a promising indication for clinical intervention before the development of nonimmune hydrops fetalis. *Arch Gynecol Obstet* 286 (4): 1079–1080, 2012.
  10. Kalfa N, Fukami M, Philibert P, Audran F, Pienkowski C, Weill G, Pinto C, Manouvrier S, Polak M, Ogata T, C Sultan C\*: Screening of *MAMLD1* mutations in 70 Children with 46,XY DSD: Identification and functional analysis of two new mutations. *PLoS One* 7 (3): e32505, 2012.
  11. Qin X-Y, Miyado M, Kojima Y, Zaha H Akanuma H, Zeng Q, Yoshinaga J, Yonemoto J, Fukami M, Ogata T, Sone H\*: Identification of novel low-dose bisphenol A targets in human foreskin fibroblast cells derived from hypospadias patients. *PLoS ONE* 7 (5): e36711, 2012.
  12. Sekii K\*, Ishikawa T, Ogata T, Itoh H, Iwashima S: Fetal myocardial tissue Doppler indices before birth physiologically change in proportion to body size adjusted for gestational age in low-risk term pregnancies. *Early Hum Dev* 88 (7): 517–523, 2012.
  13. Fukami M\*, Tsuchiya T, Takada S, Kanbara A, Asahara H, Igarashi A, Kamiyama Y, Nishimura G, Ogata T: Complex genomic rearrangements in the *SOX9* 5' region in a patient with Pierre Robin sequence and hypoplastic left scapula. *Am J Med Genet A* 158A (7): 1529–1534, 2012.
  14. Ogata T\*, Fukami M, Yoshida R, Nagata E, Fujisawa Y, Yoshida A, Yoshimura Y: Haplotype analysis of *ESR2* in Japanese patients with spermatogenic failure. *J Hum Genet* 57 (7): 449–452, 2012.
  15. Qin X-Y, Kojima Y, Mizuno K, Ueoka K, Massart F, Spinelli C, Zaha H, Okura M, Yoshinaga J, Yonemoto J, Kohri K, Hayashi Y, Ogata T, Sone H\*: Association of variants in genes involved in environmental chemical metabolism and risk of cryptorchidism and hypospadias. *J Hum Genet* 57 (7): 434–441, 2012.
  16. Hiura H, Okae H, Miyauchi N, Sato F, Sato A, Van De Pette M, John RM, Kagami M, Nakai K, Soejima H, Ogata T, Arima T\*: Characterization of DNA methylation errors in patients with imprinting disorders conceived by assisted reproduction technologies. *Hum Reprod* 27 (8): 2541–2548, 2012.
  17. Nagasaki K, Iida T, Sato H, Ogawa Y, Kikuchi T, Saitoh A, Ogata T\*, Fukami M: *PRKARIA* mutation affecting cAMP-mediated G-protein-coupled receptor signaling in a patient with acrodysostosis and hormone resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 97 (9): E1808–1813, 2012.
  18. Kagami M, Matsuoka K, Nagai T, Yamanaka M, Kurosawa K, Suzumori N, Sekita Y, Miyado M, Matsubara K, Fuke T, Kato F, Fukami M, Ogata T\*: Paternal uniparental disomy 14 and related disorders: placental gene expression analyses and histological examinations. *Epigenetics* 7 (10): 1142–1150, 2012.
  19. Moritani M, Yokota I, Tsubouchi K, Takaya R, Takemoto K, Minamitani K, Urakami T, Kawamura T, Kikuchi N, Itakura M, Ogata T, Sugihara S, Amemiya S: Identification of INS and KCNJ11 gene mutations in type 1B diabetes in Japanese children with onset of diabetes before 5 yr of age. *Pediatr Diabetes*
  20. Suzuki-Suwanai A, Ishii T, Haruna H, Yamataka A, Narumi S, Fukuzawa R, Ogata T, Hasegawa T\*: A report of two novel NR5A1 mutation families: possible clinical phenotype of psychiatric symptoms of anxiety and/or depression. *Clin Endocrinol* (accepted).
  21. Miyado M, Nakamura M, Miyado K, Morohashi K, Sano S, Nagata E, Fukami M, , Ogata T\*: *Maml1* deficiency significantly reduces mRNA expression levels of multiple genes expressed in mouse fetal Leydig cells but permits normal genital and reproductive development. *Endocrinology* (accepted).
  22. Sekii K\*, Itoh H, Ogata T, Iwashima S\*: Possible contribution of fetal size and gestational age to myocardial tissue Doppler velocities in preterm fetuses. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* (accepted).
  23. Nagasaki K\*, Tsuchuya S, Saitoh A, Ogata T, Fukami M: Neuromuscular symptoms in a patient with familial pseudohypoparathyroidism type Ib diagnosed by methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification. *Endocr J* (accepted).

24. Ohishi A\*, Ueno D, Matsuoka, H, Kawamoto, F, Ogata T: Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and adrenal hemorrhage in a Filipino neonate with hyperbilirubinemia. *Am J Perinatol Reports* (in press).
25. Fuke T, Mizuno S, Nagai T, Hasegawa T, Horikawa R, Miyoshi Y, Muroya K, Kondoh T, Numakura C, Sato S, Nakabayashi K, Tayama C, Hata K, Sano S, Matsubara K, Kagami M, Tamazawa K, Ogata T\*: Molecular and clinical studies in 138 Japanese patients with Silver-Russell syndrome. *PLoS ONE* (accepted).
26. Ayabe T, Matsubara K, Ogata T, Ayabe A, Murakami N, Nagai T, Fukami M\*: Birth seasonality in Prader-Willi syndrome resulting from chromosome 15 microdeletion. *Am J Med Genet A* (accepted).
27. Fukami M\*, Shozu M, Ogata T: Molecular bases and phenotypic determinants of aromatase excess syndrome. *Int J Endocrinol* 2012: 584807, 2012.
28. Ogata T\*, Sano S, Nagata E, kato F, Fumaki M: *MAMLD1* and 46,XY disorders of sex development. *Semi Reprod Med* 30 (5): 410–416, 2012.
29. Fukami M, Homma K, Hasegawa T, Ogata T\*: Backdoor pathway for dihydrotestosterone biosynthesis: implications for normal and abnormal human sex development. *Dev Dyn* 2012 Oct 16. doi: 10.1002/dvdy.23892. [Epub ahead of print].

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



表1. Van der Burgt のヌーナン症候群診断基準

症状	A = 主症状	B = 副次的症状
1 顔貌	典型的な顔貌	示唆的な顔貌
2 心臓	肺動脈狭窄および／または典型的な心電図所見	その他の異常
3 身長	3 パーセントイル未満	10 パーセントイル未満
4 胸郭	鳩胸／漏斗胸	広い胸郭
5 家族歴	第1度近親者に確実なNSあり	第1度近親者にNSの可能性
6 その他	次の全てを満たす(男性):精神遅滞、停留精巢、リンパ管形成異常	精神遅滞、停留精巢、リンパ管形成異常のうち1つ

確実なNS:1Aと、2A~6Aのうち1項目、または2B~6Bのうち2項目;1Bと、2A~6Aのうち2項目または2B~6Bのうち3項目。

表2. ヌーナン症候群におけるPTPN11変異の有無による身長パターンの比較

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)	...

### 第1回 ヌーナン症候群シンポジウムのご案内

このたびは、厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「分子診断に基づくヌーナン症候群の診断・治療ガイドライン作成と診断的疾患探索」研究員として、ヌーナン症候群の患者とそのご家族、医療関係者、研究者を交えたシンポジウムを開催することになりました。

今回のシンポジウムでは、ヌーナン症候群についての最新の情報をご提供するとともに、患者さまやそのご家族が疑問や不安に思われることについて、共に考えていきたいと思います。ぜひご出席ください。

**日時** 平成24年8月18日(土) 15:00~17:00

**会場** 東京国際フォーラム ガラス棟 6409会議室  
1東京都千代田区丸の内3-6-1 表参道地区事務所

**参加費** 無料(定員80名)

**申込方法** 表裏にある参加申込書にご記入の上、郵送、FAXまたはメール(リイメイル)お申し込みください。締切は7月31日(火)です。

**プログラム** (1)ヌーナン症候群とは 黒澤健司(神奈川県立こども医療センター)  
(2)ヌーナン症候群と遺伝子 吉木洋子(東北大学)  
(3)ヌーナン症候群とからだの成長 植方 敦(浜松医科大学)  
(4)ヌーナン症候群の成長曲線作成 櫻谷 進(国立成育医療研究センター)  
(5)全体討論

**主催**  
厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)  
「分子診断に基づくヌーナン症候群の診断・治療ガイドライン作成と診断的疾患探索」  
研究員代表者 松原洋一(東海大学)  
研究分担者 大橋桂文(埼玉県立小児医療センター)、岡本知彦(大阪府立小児医療総合センター)、  
植方 敦(浜松医科大学)、田口 聡(神戸大学)、栗山 浩一(東北大学)、湯 智美(東北大学)、黒澤健司  
(神奈川県立こども医療センター)、水野裕史(京都府立医科大学)、山本 隆(国立成育医療研究センター) 五十嵐 浩

**共催**  
内閣府先発創制誘致基金助成事業(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
研究員代表者 藤原伸太郎(産業技術総合研究所 遺伝的発現とその制御機構)  
研究員代表者 吉木洋子(東北大学)

**後援**  
成育医療研究開発費  
「成育障害の早期診断と長期予後追跡」  
研究員代表者 深見真由美(国立成育医療研究センター)  
研究員代表者 松原洋一(東海大学)

## ヌーナン症候群におけるモヤモヤ病

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

### 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、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。合併症は多岐にわたり、稀な合併症も含めると、ほぼ全臓器にわたると考えられる。今回、Noonan 症候群にモヤモヤ病を合併した女児で PTPN11 変異を検出した。同様合併例は現在まで 5 例の報告があり、偶然の一致というより稀な合併症の一つとして考慮すべきである。これは、同じ RAS-MAP 系異常を原因とする神経線維腫症 1 型 (NF1) でもモヤモヤ病が合併症の一つに挙げられている事実に基づく。最近同定されたモヤモヤ病易罹患責任遺伝子 RNF213 の解析を進めることにより、RAF-MAP 系と血管発生のメカニズムの解明が期待される。

### 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。その合併症は多岐にわたり、稀な合併症も含めると、ほぼ全臓器にわたると考えられる。今回 Noonan 症候群に代表的な脳血管異常症であるモヤモヤ病を合併した症例につき、PTPN11 遺伝子変異を検出した。同様報告例も散見されるため、Noonan 症候群とモヤモヤ病につき検討を加えた。

### B. 研究方法

遺伝子解析は、東北大学遺伝病学講座で Noonan 症候群責任遺伝子スクリーニングのプロコルに従い解析を進めた。Noonan 症候群とモヤモヤ病の関連については、文献的考察を中心にまとめた。

（倫理面への配慮）

検討にあたっては全ての個人情報 は 潜在化させた。

### C. 研究結果

#### 【症例報告】

症例は 9 歳の女児で、低身長 (-3SD)、特徴的顔貌、特徴的皮膚所見（カールした頭髪、しわの多い手掌、色素沈着、肥大型心筋症を呈し、定期フォローと診断の確定を主訴に来院。血液凝固系では、以前より紫斑が出やすい傾向があった。在胎 40 週、出

生体重 3230 g、身長 48.5cm で出生。羊水過多なし。発達はほぼ正常であるが、学校成績はやや下位であった。頭部 MRA でモヤモヤ病を検出。同胞姉も、身体所見から Noonan 症候群を疑われたが、モヤモヤ病は検出されなかった。

【遺伝子解析結果】同胞いずれにも、PTPN11、exon 3 の c.317A>C (p.D106A) のミスセンス変異を検出した。この変異は過去に報告のある変異であった (Tartaglia et al., 2002)。この変異は、N-SH2 と C-NH2 ドメインとをつなぐ重要な領域と考えられている。Tartaglia らの 54 例解析でも、3 例検出されていることから再現性の高い (recurrent) 変異と考えられた。

#### D. 考察

現在まで、Noonan 症候群にモヤモヤ病を合併した報告は 5 例あり (Hung et al., 2011; Yamashita et al., 2004; Tang et al., 1999; Schuster et al., 1999; Ganesan et al., 1997)、アジア人種は 3 例 ((Hung et al., 2011; Yamashita et al., 2004; Tang et al., 1999) であった。他に動静脈奇形、動脈瘤の報告もある。また、このうち PTPN11 の変異を確認したのは 1 例のみである (Hung et al., 2011)。報告例のみで、体系的な脳血管スクリーニングの調査研究がないので、Noonan 症候群の合併症としての頻度は明らかにされていない。しかし、中枢神経学的所見・症状を見た場合 (Ganesan et al.: 9 歳男児、脱力・痙攣; hung et al.: 9 歳女児、繰り返す頭痛; Yamashita et al.: 12 歳男児、歩行障害、不随意運動、言語障害; Schuster et al.: 7 歳女児、頭痛・脱力) には、MRA 精査は考慮すべきと考えられる。

発症メカニズムについては、凝固系異常とそれに伴う脳血管動態の変化 (Schuster et

al., 1999)、胎生期の血管発生の途絶 (hung et al. 2011)、などの仮説が出されているが、明確な検証はなされていない。

ごく最近になり、モヤモヤ病の責任遺伝子が RNF213 と同定された (Kamada et al., 2011)。特に高い頻度で認められる変異として R4859K があげられるが、一般集団にもこの変異は認められる。Zebrafish での RNF213 の変異の影響に関する研究では、血管異常が報告されている (Liu et al., 2011) が、現在まで RNF213 の明確な機能は明らかにされていない。非常に興味深いのは、Noonan 症候群同様の RAS-MAP 系の異常疾患である神経線維腫症 1 型 (NF1) も、モヤモヤ病を合併しやすい疾患として認識されていることである。残念ながら、本例では RNF213 の遺伝子解析がなされておらず、両遺伝子変異の複合に由来するものか、あるいは PTPN11 そのものの影響によるものか確認できない。今後の課題である。

#### E. 結論

Noonan 症候群にモヤモヤ病を合併した女児例に PTPN11 変異を検出した。現在まで 5 例の報告があり、偶然の一致というより稀な合併症の一つとして考慮すべきである。最近同定されたモヤモヤ病易罹患責任遺伝子 RNF213 の解析を進めることにより、RAF-MAP 系と血管発生のメカニズムの解明が期待される。

#### F. 研究危険情報

なし。

#### G. 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.

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 PFAH1B1,  
associated with normal brain structure on  
MRI in a young girl. *Am J Med Genet  
Part A* 2012;158A:2347-2352.

## 2. 学会発表

黒澤健司、富永牧子、榎本啓典、石川  
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

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.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし