

disability)と記述される一つの疾患群である。しかし、診断のつかないこの一群は、具体的な診断名がないために疾病統計に表れることがなく、具体的な発生頻度の評価や病態把握もなされない。さらに、多発奇形に由来する多くの合併症を有し、また発達遅滞に対しては養育・教育環境の整備が必要であり、患者および患者家族の負担は病名のある希少難病の場合と差はない。本研究では、こうした症例が集中する小児病院の受診患者集団を対象として、MCA/DD・IDの発生頻度を検討した。さらにこうしたMCA/DD・IDに対して、マイクロアレイ染色体検査が診断手段としてどれほど有効であるのか解析集計を行い、マイクロアレイ染色体検査の潜在的な需要についても検討を加えた。

B. 研究方法

[MCA/DD・ID発生頻度の評価]

対象は、神奈川県立こども医療センター遺伝外来初診症例で、観察期間は1999年から2010年までの12年間に及んだ。臨床診断および評価は、MCA/DD・IDの診断医療管理に経験が豊富な小児科専門医・臨床遺伝専門医によった。評価としては症状を手掛かりとした臨床診断の他に、臨床診断に基づく種々の遺伝学的検査(染色体標準G分染法、遺伝子シーケンス解析、サブテロメアFISHスクリーニング、High resolution melting解析スクリーニング、マイクロアレイ染色体検査など)を組み合わせで診断解析を進めた。診断分類としては、1)既知症候群(身体所見他から臨床診断が可能、既知症候群が診断として強く疑われる、初診時に診断が確定している、標準G分染レベルでの異常を含まない:例—Apert症候群、22q11.2欠失症候群)、2)

染色体異常症(身体所見で診断が可能、染色体標準G分染法で確定が可能、初診時に診断が染色体検査で確定している:例—Down症候群、5p-症候群)、3)

MCA/DD・ID(臨床症状の組み合わせ、あるいは染色体標準G分染法から診断が得られない、症状から既知症候群が想定できない)、4)その他(遺伝カウンセリング、セカンドオピニオンなど)、の4つの範疇に受診症例を分類した。当センターの制度特性として、遺伝カウンセリングを目的とした来談者以外は全て紹介受診であった。紹介は、院内併診と院外からの紹介によった。

[マイクロアレイ染色体検査の需要に関する評価]

マイクロアレイ染色体検査の適応は、ACMGのガイドライン(Manning et al., 2010)を基本とし、主にMCA/DD・IDを対象(臨床症状の組み合わせから特定既知症候群が想定できず、標準染色体G分染で異常を認めない)とした。2011年4月から2013年2月までに提出された864例のうち、上記適応を満たした院内症例557例であった。マイクロアレイ染色体検査で得られたゲノムコピー数変異(CNV: Copy number variant)は、「臨床的意義不明」「臨床的意義なし」「臨床的意義あり」と、担当小児科医にわかりやすくするために3つに分類し報告した。解析は、マイクロアレイ解析システム(Agilent Technologies)を用いてデータ解析はGenomic Workbench(同)によった。データ解析設定としてderivative log ratio spread > 0.20を基本とした。臨床的意義あるCNVが検出された場合には、FISHあるいは定量PCR法による罹患者および両親解析による診断の確

定を基本とした。

(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

[MCA/DD・ID 発生頻度の評価]

【図 1】調査の 12 年間は増加傾向にあり、2005 年以降は遺伝外来初診は年間 300-400 例となった。この増加傾向に貢献している疾患範疇としては、その他(主に遺伝カウンセリング)が大きい、MCA/DD・ID も同様に増加を押し上げていることが判明した。一方で、染色体異常症は 2007 年から 2008 年にピークに達するものの、以後は低下傾向をみ、この傾向が主に Down 症候群の受診状況と一致することが分かった。また、既知症候群は増加傾向が目立ってきた 2005 年以降も以前と同じく一貫して一定数の受診状況を示した。

[マイクロアレイ染色体検査の需要に関する評価]

557 例のうち、臨床的意義ある変異は 78 例(14%)に検出された。また、臨床的意義不明が 30 例(5.4%)で検出された。臨床的意義ある変異には、既知症候群である Angelman 症候群が 1 例、Smith-Magenis 症候群が 3 例含まれていた。既にメンデル遺伝病として記述のある疾患あるいは既知症候群として認知されている疾患でありながら、今回 CNV による疾患として検出された症例が 10 例に認められた。

D. 考察

過去 12 年間に遺伝外来受診状況は変化しつつあり、特に遺伝カウンセリングの需

要が高まった。これは一般社会のニーズと連動した傾向といえる。一方で、既知症候群の受診この 12 年間ほぼ一定であった。また、染色体異常症(主に Down 症候群症例)は、増加しつつあったが 2008 年以降減少傾向に転じ、これは県内での Down 症候群の発生状況を反映したものであることが判明している。以上から、遺伝外来受診状況は、神奈川県内の小児遺伝性疾患・先天異常の発生状況を反映し、さらに医療ニーズも反映していることが推察される。MCA/DD・ID が増加傾向にあるのは紹介医療機関や親の認識の変化(MCA/DD・ID の診断として遺伝的視点での検討と遺伝学的検索が有用でありこと)が大きいと思われ、年間 100-120 例は染色体異常症とほぼ一致することが分かる。つまり比率から推定すると Down 症候群が 600-800 出生に 1 例なので、この場合での MCA/DD・ID は、約 500 出生に 1 例と推察される。実際には、重症例ほど外来受診が得られず、生物学的淘汰も働くので、上記の推定値は最低の数値と考えられる。通常遺伝外来におけるマイクロアレイ染色体検査の需要の推定値である。

今回、対象集団はことなるものの、実際にマイクロアレイ染色体検査適応と判断した MCA/DD・ID 557 例に解析を施行し、14%に臨床的意義ある CNV を検出した。この検出率は、これまでの報告(Miller et al., 2010; Hochstenbach et al., 2009; Cooper et al., 2011; Hayashi et al., 2011)とほぼ一致した値であった。つまり、一定基準の適応を用いることにより 14-15%の症例で一定した診断が得られることを意味する。我々の今回の報告に加え、上述のそれぞれ解析プラットフォームが異なる報告でも一致した検出率(診断率)が得られること

は、マイクロアレイ染色体検査が臨床検査としての普遍性を意味している。また、特定の領域の CNV による疾患

(Smith-Magenis 症候群など)を除くと、検出された臨床的意義ある CNV は全例それぞれが異なる領域の CNV であった。つまり、この MCA/DD・ID が極めて遺伝的異質性の高い個々の症例から構成され、この全ゲノムを対象とするマイクロアレイ染色体検査が唯一で確実な検査手段であることがわかった。以上を考慮すると、マイクロアレイ染色体検査は、早急に臨床検査として導入すべきあると考えられた。

E. 結論

神奈川県立こども医療センター遺伝外来受診状況を手掛かりとして、MAC/DD・ID の発生頻度を検討し、この MCA/DD・ID を対象としたマイクロアレイ染色体検査の検出率と需要を明らかにした。MCA/DD・ID は少なくとも 500 出生に 1 例で、この推測値は最小見積もりとみなされた。マイクロアレイ染色体検査を 557 例で解析を行い、14%に臨床的意義ある CNV を検出し、診断の確定が可能であった。この検出率はプラットフォームに関わらずこれまでの海外の報告とも一致した。陽性症例のうち Smith-Magenis 症候群以外に recurrent CNV はほとんどなく、MCA/DD・ID は遺伝的異質性が極めて高く、結果として全ゲノムを対象とするマイクロアレイ染色体検査での解析が診断検査として最も確実であることが分かった。以上から、マイクロアレイ染色体検査は早急に臨床検査として導入すべきあると考えられた。

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 PFAFH1B1, 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

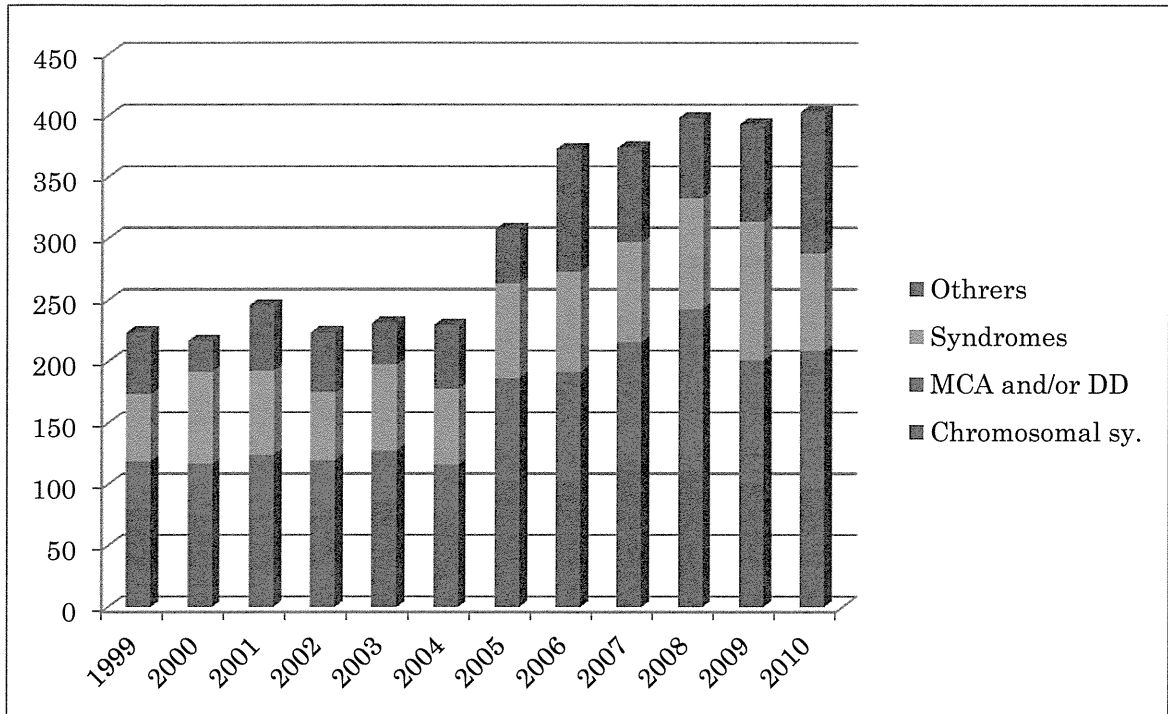


図 1 . 病因別の遺伝外来受診状況の変化

次世代シーケンサーによる染色体欠失検出の試み

研究分担者 小崎 健次郎

慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター 教授

研究要旨

遺伝子変異は、影響を受ける領域の大きさによって分類される。単塩基から数十塩基の変異、数百塩基～数千塩基の変異、100000塩基以上の欠失や重複など、変異の大きさによって検出に最適な分析法が異なる。単塩基から数十塩基の変異については次世代シーケンサーの実用化にともない、比較的容易に検出されるようになった。さらに大きい欠失や重複の検出にはマイクロアレイ染色体検査が用いられる。患者の症状から遺伝子変異の型・大きさを予見することは困難であるため、シーケンシングないしマイクロアレイ染色体検査を行い、変異が同定されなければ、もう片方の分析を行うという serial analysis を行うことが一般的である。このことは検査コストの増加や検査プロトコルの複雑化の原因となっている。本研究では、次世代シーケンサーを用いて点変異の検出に並行して、欠失や重複の検出が可能かどうかを検討した。染色体の欠失の検出に次世代シーケンサーが利用できることが示された。特異度については評価が不十分であるものの、疾患原因の候補遺伝子の推定などの探索的な検討には有用であると期待された。

A. 研究目的

遺伝子の異常は、その大きさによって分類される。一塩基置換や数塩基の欠失・重複は Sanger 法により検出される。単一エクソンより大きな欠失は MLPA 法、100キロベースを超えるような欠失は FISH 法で検出される。患者の症状から遺伝子変異の型・大きさを予見することは困難であるため、シーケンシングないしマイクロアレイ染色体検査を行い、変異が同定されなければ、もう片方の分析を行うという serial analysis を行うことが一般的である。このことは検査コストの増加や検査プロトコルの複雑化の原因となっている。近年、一塩基置換や数塩基の欠失は次世代シーケンサーによって比較的簡便に検出できるようになった。次世代シーケンサーは技術的な制約からアーチファクトとして点変異が発生する。これを避けるために同じ塩基を多重に読み取る原理となっている。同じ塩基を読む回数を読み深度と称する。欠失ないし重複のある部分は欠失・重複の無い領域と比較して読み深度が減少ないし増加する。読み深度の増減を統計的に評

価し、欠失・重複を判定できる可能性が期待されている。点変異の解析のために次世代シーケンサーから得られる出力を用いて単一エクソンより大きな欠失や、100キロベースを超えるような欠失が検出できれば、遺伝子診断の臨床応用に大きく貢献出来る。本研究では、塩基レベルで log 比を評価することにより gc 含量によるバイアスを避けるという原理にもとづくアルゴリズムにより遺伝子欠失の検出を試みた。

B. 研究方法

全遺伝子の翻訳領域をアジレント社 SureSelect を用いて濃縮した後、イルミナ社 MiSeq によりシーケンシングを行った。シーケンス断片をソフトウェア bwa を用いてヒトの参照配列 (hg19) に整列させた。さらに、ソフトウェア GATK により局所的な整列を行った。完全に重複して PCR のアーチファクトと考えられる断片についてはソフトウェア Picard を用いて除去したのち、各塩基あたりの読み深度を評価した。正常検体由来の読み深度

の平均値を求め、検体の読み深度と比較した。

分析のアルゴリズムに Li らの Contra プログラムを用いた。対話的に解析を進めるための独自のスクリプトを作成した。

分析のパラメータはデフォルトの値を用いた。

Li J, Lupat R, Amarasinghe KC, Thompson ER, Doyle MA, Ryland GL, Tothill RW, Halgamuge SK, Campbell IG, Gorringer KL. *Bioinformatics*. 2012 15:28:1307-13.

CONTRA: copy number analysis for targeted resequencing.

得られた領域は bed ファイル形式に変換し、ゲノムデータ表示ソフトウェア igv により表示した。既知のコピー数多型 (欠失・挿入) を、公的データベース

(<http://projects.tcag.ca/variation/downloads/variation.hg19.v10.nov.2010.txt>)

より入手し、同時に表示させた。

例えば、chr16_del.sorted.bed を contra の出力、既知のコピー数多型のある領域を

variation.h19.sorted.bed とした場合

```
bedtools subtract -a chr16_del.sorted.bed -b
```

```
variation.h19.sorted.bed >
```

```
chr16_del_nocnp.sorted.bed
```

として結果を得た。

C. 研究結果

アレイ CGH 検査で 16 番染色体短腕に欠失を認める患者について次世代シーケンサーを用いた解析結果を示す。Contra による解析によっても、16 番染色体上に欠失を証明することができた (付図)。

一方で、アレイ CGH では欠失の無い範囲についても欠失が示唆された。アレイ CGH 検査をゴールドスタンダードと考えるならば、Contra による解析結果の特異度が低いと予測される。

D. 考察

染色体の欠失の検出に次世代シーケンサーが利用できることが示された。特異度については評価が不十分であるものの、疾患原因遺伝子の推定などの探索的な検討には有用であると期待された。一方で特異度の点からは臨床応用のためには解決すべき課題を認めた。特に正常対照を増やし、統計的な検出力を高めること、点変異の検出とシームレスに実施できるようなパイプラインとすること、などと思われる。

Contra と同じ目的で用いられるプログラムとして隠れマルコフモデルを用いたアルゴリズム等 (XHMM) も新たに発表されており、各プログラムのパフォーマンスの比較が必要と思われる。

E. 結論

染色体の欠失の検出に次世代シーケンサーが利用できることが示された。特異度については評価が不十分であるものの、疾患原因の候補遺伝子の推定などの探索的な検討には有用であると期待された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nishina S, Kosaki R, Yagihashi T, Azuma N, Okamoto N, Hatsukawa Y, Kurosawa K, Yamane T, Mizuno S, Tsuzuki K, Kosaki K. Ophthalmic features of CHARGE syndrome with CHD7 mutations. *Am J Med Genet A*. 2012;158(3):514-518.

Kosaki R, Kaneko T, Torii C, Kosaki K. EEC syndrome-like phenotype in a patient with an IRF6 mutation. *Am J Med Genet A*. 2012;158(5):1219-1220.

Takenouchi T, Nakazawa M, Kanemura Y, Shimozato S, Yamasaki M, Takahashi T, Kosaki K. Hydrocephalus with Hirschsprung disease: severe end of X-linked hydrocephalus spectrum. *Am J Med Genet A*. 2012;158(4):812-5.

Tanaka R, Takenouchi T, Uchida K, Sato T, Fukushima H, Yoshihashi H, Takahashi T, Tsubota K, Kosaki K. Congenital corneal staphyloma as a complication of Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A*. 2012;158(8):2000-2002.

Yagihashi T, Kosaki K, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Takahashi T, Sato Y, Kosaki R. Age-dependent change in behavioral feature in Rubinstein-Taybi syndrome. *Congenit Anom*. 2012;52(2):82-86.

Nomura T, Takenouchi T, Fukushima H, Shimozato S, Kosaki K, Takahashi T. Catastrophic Autonomic Crisis With Cardiovascular Collapse in Spinal Muscular Atrophy With Respiratory Distress Type 1. *J Child Neurol*. 2012 Aug 16.

Takenouchi T, Enomoto K, Nishida T, Torii C, Okazaki T, Takahashi T, Kosaki K. 12q14 microdeletion syndrome and short stature with or without relative macrocephaly. *Am J Med Genet A*. 2012;158A(10):2542-4

Takenouchi T, Okuno H, Kosaki R, Ariyasu D, Torii C, Momoshima S, Harada N, Yoshihashi H, Takahashi T, Awazu M,

Kosaki K. Microduplication of Xq24 and Hartsfield syndrome with holoprosencephaly, ectrodactyly, and clefting. *Am J Med Genet A*. 2012;158A(10):2537-41.

Takenouchi T, Yagihashi T, Tsuchiya H, Torii C, Hayashi K, Kosaki R, Saitoh S, Takahashi T, Kosaki K. Tissue-limited ring chromosome 18 mosaicism as a cause of Pitt-Hopkins syndrome. *Am J Med Genet A*. 2012;158A(10):2621-3.

Osumi T, Miharuru M, Fuchimoto Y, Morioka H, Kosaki K, Shimada H. The germline TP53 mutation c.722 C>T promotes bone and

liver tumorigenesis at a young age. *Pediatr Blood Cancer*. 2012;15;59(7):1332-3.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

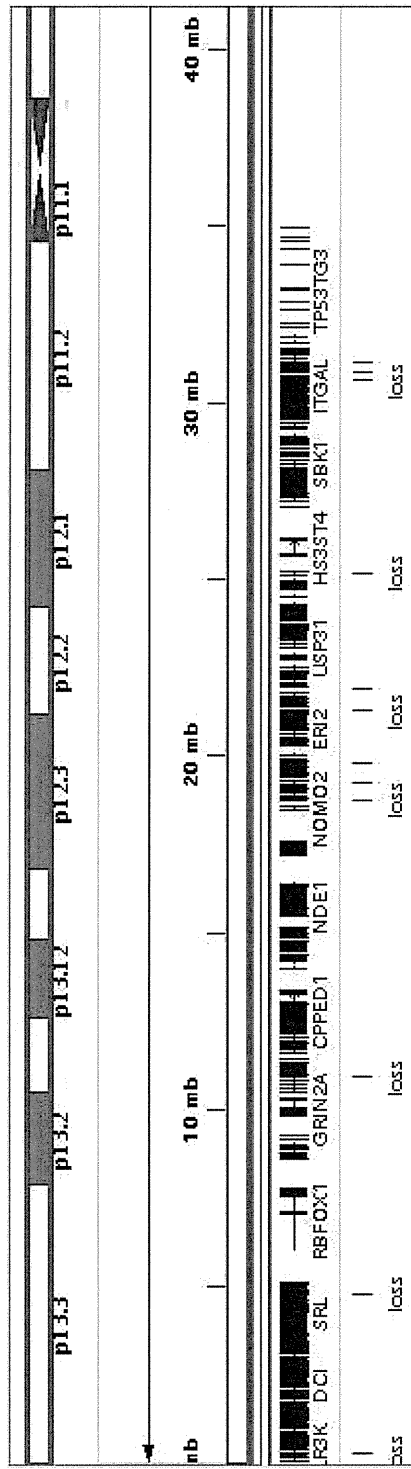
なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



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）
分担研究報告書

診断未定多発奇形・発達遅滞の診断アルゴリズムの確立

研究分担者 小崎 里華
国立成育医療研究センター 遺伝診療科 医長

研究要旨

診断が困難である多発奇形・発達遅滞の症例を対象に、新規診断技術マイクロアレイ CGH を用いて有用性を明らかにし、診断のアルゴリズムを確立した。また、診断確定された症例においては、臨床症状と遺伝学的異常の関係について検討し、医療実態の把握・自然歴の把握を行った。今後、個別の症例特性の解析および医療実態の把握と自然歴解析をめざす。

A 研究目的

診断そのものが困難である多発奇形・発達遅滞の診断アルゴリズムを確立し、本疾患の診断技術の一つとして注目されるマイクロアレイ CGH の有用性を明らかにする。診断未定例の症例登録を行い、「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化事業」と連携を図り、発生頻度の推定も行う。

B 研究方法

診断未確定の多発奇形・精神運動発達遅滞児が集積された診療症例を対象に、アレイ CGH, MLPA 法などの新規診断技術を用いて、確定診断のために遺伝学的解析を行った。解析に用いたアレイは Agilent 社 human genome 180K をプラットフォームとし、UCSC hg18(NCBI Build 36.1 March 2006), 解析は Agilent Genomic Workbench で行った。Cut off 基準や CNV の判定においては、ACMG ガイドライン (Genet Me13;680-685,2011)等を参照し、国際基準に沿って解析を行い、検査の質の保証につとめた。

また「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化事業」と連携のため、通常アレイ CGH で解析さ

れるサイズの遺伝子欠失が次世代シーケンサーによって検出可能かどうかの検討を開始した。解析のためにはコンピュータプログラム Contra を使用している。分子遺伝学的に診断が確定された症例については、国内外のデータベースの検索を通じて近縁症例を収集し、臨床症状と遺伝学的異常の関係について検討した。

検査実施において、分担研究者の所属施設の倫理委員会にて承認されている。

C 研究結果

本年度、マイクロアレイ CGH 解析を行った対象は 49 症例、解析終了 37 症例、結果陽性 6 症例であった (2012 年 4 月 - 2013 年 3 月)。眼球の発生に関わる遺伝子の 2 重欠失の症例、18 番環状染色体モザイクによる Pitt-Hopkins 症候群症例、全前脳胞症 - 裂手・裂足症 (Hartsfield 症候群) が Xq24 重複により発症することなどを国際誌に発表することが出来た。

「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化事業」と連携のため、通常アレイ CGH で解析されるサイズの遺伝子欠失が次世代シーケンサーによって

検出精度の検討を開始した。アレイ CGH により検出された欠失範囲を次世代シーケンサーの結果のビューアーである igv で表示させるスクリプトを作成した。

D 考察

分担研究者が所属する施設は、国内有数の小児専門病院であり、遺伝医療を専門とした独立した診療科を有する。小児専門病院の入院患者の約 1/3 が先天異常をもつ児である。また、大都市圏ではあるが、集約的に症例が集積されている。先天異常のうち、多発奇形・発達遅滞の診断と医療管理は専門知識が不可欠である。

これらの症例を対象に新規診断技術であるマイクロアレイ CGH を施行し、診断の確定を行った。陽性症例は国内外の PubMed, 細胞遺伝データベース等の検索においても、同様の症例は世界においても数症例であり、いずれも発症頻度が極めて低い、稀少疾患であることが判明した。

ただし、新規技術を用いて診断された点から、未診断例のバイアスが加わるが、common disease ではないことは十分に予測される。

診断確定された症例においては、医学的情報すなわち合併症の予測、予後など今後の医療実態の把握・自然歴による医療管理の方向性を示すことが可能となる。また、次子再発率の予測などは、患児の両親にとって、遺伝カウンセリング上、重要な科学的根拠が得られたことは、特記すべきことである。患者家族への情報提供、社会心理支援など医療福祉面への連携構築に繋がったと考える。さらに、類縁疾患症例の蓄積により、非典型症例から、新規原因遺伝子探索への臨床研究の基盤整備を行った。今後は次世代シーケンサーによる遺伝子診断が普及すると予測される。現在、次世代シーケンサーとアレイ CGH は並行して実施されている。次世代シーケンサーの解析アルゴリズムの改良によって、現在、アレイ CGH によって検出されているような大きな欠失も次世代シーケン

サーにより検出可能となることが期待される。来年度は、新しいアルゴリズムの検証を計画している。

今後、個別の症例特性の解析および医療実態の把握と自然歴解析を目指す。

E 結論

多発奇形・発達遅滞の診断技術の一つとして注目されるマイクロアレイ CGH を用いて、診断を確定し、臨床的有用性を明らかにした。今後、新規遺伝子探索、医療実態の把握へ向けての研究基盤整備を行った。

F 健康危険情報

なし

G 研究発表

1. 論文発表

Takenouchi T, Nishina S, Kosaki R, Torii C, Furukawa R, Takahashi T, Kosaki K. Concurrent deletion of BMP4 and OTX2 genes, two master genes in ophthalmogenesis. *Eur J Med Genet.* 56(1):50-3.2013

Takenouchi T, Yagihashi T, Tsuchiya H, Torii C, Hayashi K, Kosaki R, Saitoh S, Takahashi T, Kosaki K. Tissue-limited ring chromosome 18 mosaicism as a cause of Pitt-Hopkins syndrome. *Am J Med Genet A.* 158(A)(10):2621-3.2012

Takenouchi T, Okuno H, Kosaki R, Ariyasu D, Torii C, Momoshima S, Harada N, Yoshihashi H, Takahashi T, Awazu M, Kosaki K. Microduplication of Xq24 and Hartsfield syndrome with holoprosencephaly, ectrodactyly, and clefting. *Am J Med Genet A.* 158(A)(10):2537-41.2012

Kosaki R, Nagao K, Kameyama K, Suzuki M,

Fujii K, Miyashita T. Heterozygous tandem duplication within the PTCH1 gene results in nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Am J Med Genet A*. 158(7):1724-28.2012

Yagihashi T, Kosaki K, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Takahashi T, Sato Y, Kosaki R, Age-dependent change in behavioral feature in Rubinstein-Taybi syndrome. *Congenit Anom (Kyoto)*. 52(2):82-6.2012

Kosaki R, Kaneko T, Torii C, Kosaki K. EEC syndrome-like phenotype in a patient with an IRF6 mutation. *Am J Med Genet A*. 158A(5):1219-20, 2012

Nishina S, Kosaki R, Yagihashi T, Azuma N, Okamoto N, Hatsukawa Y, Kurosawa K, Yamane T, Mizuno S, Tsuzuki K, Kosaki K. Ophthalmic features of CHARGE syndrome with CHD7 mutations. *Am J Med Genet A*. 158A(3):514-8.2012

Okamoto N, Hayashi S, Masui A, Kosaki R, Oguri I, Hasegawa T, Imoto I, Makita Y, Hata A, Moriyama K, Inazawa J. Deletion at chromosome 10p11.23-p12.1 defines characteristic phenotypes with marked midface retrusion. *J Hum Genet*. 57(3):191-6.2012

2. 学会発表

岡田 朋美 大柴 葉子 佐々木 愛子 谷口 公介 杉林 里佳 住江 正大 和田 誠司 柿島 裕樹 小須賀 基通 小崎 里華 小澤 伸晃 左合 治彦:羊水検査において FISH 法 (AneuVysion) と G-band 法で異なった核型結果が得られた 2

症例 第 57 回日本人類遺伝学会 2012.10.26

藤田 秀樹 小崎 里華: 当院で経験した未診断の発達遅滞・先天性多発奇形症例のアレイ CGH 解析 (続報) 第 57 回日本人類遺伝学会 2012.10.26

和田 友香 花井 彩江 佐々木 愛子 藤田 秀樹 小崎 里華: 近四倍体と 18 トリソミーのモザイクの 1 女児例 第 57 回日本人類遺伝学会 2012.10.26

藤田秀樹 小崎里華 : アレイ CGH で 1q24-q25 領域に欠失を認めた精神運動発達遅滞児についての検討 第 52 回 日本先天異常学会 2012. 7. 6

武内俊樹 下郷幸子 山崎麻美 小崎里華 小崎健次郎 高橋高雄: L1CAM 変異により発症した先天性水頭症と Hirshsprung 病の合併例 第 54 回 日本小児神経学会総会 2012.4.19

柳橋達彦 小崎健次郎 小崎里華 吉橋博史 井原正博 高橋孝雄: Williams 症候群における欠失範囲の大きさと発達遅滞の重症度との関係 第 115 回 日本小児学会学術集会 2012.4.22

一宮優子 石黒精 中館尚也 前川貴伸 小崎里華 藤田秀樹 阪井裕一 : TPO 受容体作動薬が有効であった 3p12-13 欠失の難治性慢性 ITP 第 115 回 日本小児学会学術集会 2012.4.22

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

I その他

なし

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）
分担研究報告書

診断未定多発奇形・発達遅滞の発生頻度・診断ならびに患児家族支援に関する研究

研究分担者 大橋 博文
埼玉県立小児医療センター遺伝科 科長

研究要旨

1) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の発生頻度の推定。埼玉県立小児医療センターにおける平成23年度の遺伝科初診341例を検討した。染色体異常症が130例、診断不明(MCA/MR)が66例(19%)であった。ダウン症を除いた場合にはMR/MCAは27%を占めた。2) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の遺伝学的検査実態評価。同センターでの遺伝学的検査の実施状況を検討した。染色体検査(FISHを含む)の総数は275件(異常検出率27%)、遺伝子検査(シーケンス解析)は88件(異常32%)、全サブテロメアMLPA解析40例(異常13%)、遺伝子内エキソン単位の欠失・重複MLLPA解析40例(異常率14%)、MS-MLPA解析34例(異常26%)、マイクロアレイ解析76例(異常11%)であった。3) 臨床現場への研究成果の活用としての先天異常症候群集団外来による患児・家族支援。本年度に計14疾患の“先天異常症候群集団外来”を行った。参加家族数は平均12であった。アンケート(回収率67%)では、とてもよかった71%、よかった28%をあわせて99%、どちらでもないは1名のみであった。

研究協力者

清水 健司 (埼玉県立小児医療センター遺伝科)

活用としての先天異常症候群集団外来による患児・家族支援。

A. 研究目的

多発奇形・発達遅滞例の確定診断を行うことは、その後に疾患特異的自然歴情報に基づいた健康管理の前提となる。しかし、種々の遺伝学的検査法の進歩によっても未だに臨床診断ならびに遺伝学的確定診断のなされない診断未定患者が多く存在する。本年度の分担研究として、診断未定多発奇形・発達遅滞の発生頻度・診断ならびに患児家族支援に関する次の3点について行うこととした。

1) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の発生頻度の推定。2) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の遺伝学的検査実態評価。3) 臨床現場への研究成果の

B. 研究方法

1) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の発生頻度の推定

埼玉県という比較的人口の多い県(人口約700万人;年間出生数約6万人)の第三次小児医療施設である埼玉県立小児医療センターにおける直近の平成23年度1年間の遺伝科初診の統計を参考として集計した。

2) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の遺伝学的検査実態評価

埼玉県立小児医療センターでは遺伝検査室を設置して当センターに受診する患者の遺伝学的診断

を一元的に行っている。平成 23 年度の遺伝学的検査の実施の実態を検討した。

3) 臨床現場への研究成果の活用としての先天異常症候群集団外来による患児・家族支援

埼玉県立小児医療センターでは、同じ疾患をもつ患児・家族が一緒に集まって、情報の提供と共有、そして患者家族間の交流を通じた心理支援（ピアカウンセリング）を目指した“先天異常症候群集団外来”に取り組んでいる。この集団外来が患者・家族の支援にどのように貢献しているのかについて、本年度の集団外来参加家族へアンケート調査を行った。アンケートの内容は、今の気持ちとして、外来に参加してよかったか？、目的を果たすことができたか？、役に立つ情報が得られたか？、次回の集団外来に参加したいか？という観点から、とてもそう思う、そう思う、どちらでもない、そう思わない、全くそう思わない、の5段階の中から選択し、さらに具体的な気持ちを自由に記載してもらった。また、現在子育てに困っていること、または工夫していることなどについても記載してもらったこととした。

C. 研究結果

1) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の発生頻度の推定

平成 23 年度 1 年間の遺伝科初診患者を集計した結果、受診総数は 341 例で、そのうち染色体異常症が 130 例（ダウン症：94、18 トリソミー：3、13 トリソミー：2、4 p モノソミー：2、18 q モノソミー：2、その他は各々 1 例ずつ）、そして診断不明（MR/MCA）例が 66 例（19%）であった。このうち、全県下からの当センターへの紹介率が際立って高いダウン症を除いた 247 例中の MR/MCA の占める割合は 27%であった。

2) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の遺伝学的検査実態評価

平成 23 年度の遺伝学的検査の実施の実態を検討した。a) 染色体検査（FISH を含む）の総数は

275 件であった。そのうち異常は 75 例（異常検出率 27%）で、常染色体数的異常 7、性染色体数的異常 3、構造異常 19、微細欠失 9 であった。残り 200 例（23%）は異常がなかった。b) 遺伝子検査は PCR-ダイレクトシーケンス解析を総計 9 種類の遺伝子に関して延べ 88 例に施行した結果の異常検出率は 32%だった。MLPA 解析としては、全サブテロメア解析が 40 例（異常率 13%）、遺伝子内エクソン単位の欠失・重複解析が 40 例（異常率 14%）、インプリンティング疾患である Prader-Willi/Angelman 症候群、

Russell-Silver/Beckwith-Wiedeman 症候群の MS-MLPA 解析が 34 例（異常率 26%）であった。

c) マイクロアレイ解析は 76 例に行い異常率は 11%であった。

3) 臨床現場への研究成果の活用としての先天異常症候群集団外来による患児・家族支援

本年度に開催した集団外来の状況を表 1 に示す。本年 6 月から 12 月まで、毎月 2 回、計 14 回の開催だった。参加家族数は 2～30（平均 12）家族、他県からの参加家族も平均 3 家族あった。アンケート（回収率 67%）では、とてもよかった 71%、よかった 28%をあわせて 99%。どちらでもないとの評価の方が 1 名のみであった。

D. 考察

診断未定多発奇形・発達遅滞例の発生頻度の推定のため、埼玉県という比較的人口の多い県（人口約 700 万人；年間出生数約 6 万人）の第三次小児医療施設である埼玉県立小児医療センターにおける直近の平成 23 年度 1 年間の遺伝科初診の統計を参考として集計した。その結果、診断不明（MR/MCA）例が 66 例（19%）であった。このうち、全県下からの当センターへの紹介率が際立って高いダウン症を除いた 247 例中の MR/MCA の占める割合は 27%であった。これはいまだ臨床診断あるいは遺伝学的原因診断がなし得ていない患児が多く存在することを示している。

一方、確定診断のための遺伝学的検査の施行実績を同様に埼玉県立小児医療センター遺伝監査室の1年間の実績から検討したところ、染色体検査（FISHを含む）、PCR・ダイレクトシーケンスによる遺伝子検査、MLPAによる全サブテロメア解析と遺伝子内エクソン単位の欠失・重複解析、MS-MLPAによるインプリンティング疾患解析、マイクロアレイ解析と多様な解析法を必要に応じて選択して施行しており、その異常検出率はおおむね10-30%程度であった。

E. 結論

遺伝学的解析技術には著しい進歩があるが、小児医療において診断未定多発奇形・発達遅滞例はいまだ数多く存在する。効率のよい診断アルゴリズムの開発によって診断率の向上をはかり、診断後の自然歴情報に基づくよりよい健康管理を目指すことが重要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Fujii K, Ohashi H, Suzuki M, Hatsuse H, Shiohama T, Uchikawa H, Miyashita T: Frameshift mutation in the PTCH2 gene can cause nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Fam Cancer*. 2013 Mar 12. [Epub ahead of

print]

Mitsui N, Shimizu K, Nishimoto H, Mochizuki H, Iida M, Ohashi H: Patient with terminal 9 Mb deletion of chromosome 9p: Refining the critical region for 9p monosomy syndrome with trigonocephaly. *Congenit Anom* 53:49-53, 2013

Iijima K, Someya T, Ito S, Nozu K, Nakanishi K, Matsuoka K, Ohashi H, Nagata M, Kamei K, Sasaki S: Focal segmental glomerulosclerosis in patients with complete deletion of one WT1 allele. *Pediatrics* 129:e1621-5, 2012

2. 学会発表

1) 大橋博文：先手二条症候群の遺伝学的検査の現状と運用の実際. 第52回日本先天異常学会. 2012年7月7日、東京。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

特になし。

表1. 平成24年度開催 先天異常症候群 日付順開催状況とアンケート結果

日付	疾患名	参加人数	家族数	他県より 来院数	他県より 総人数	アンケート					アンケート 回収率
						どなたも お答え	お答え しませんでした	お答え できませんでした	お答え できませんでした	お答え できませんでした	
2012.6.12	ウレリアムス症候群	65	24	9	20	13	4				70.83%
2012.6.19	18q-リント18症候群	21	8	-	2	7					87.50%
2012.7.10	2q-症候群	6	2	0	0	-					50.00%
2012.7.31	2回コボンシリス症候群	15	7	0	0	3	3				85.71%
2012.8.12	ラッセルシムパー症候群	15	6	-	2	-	-				33.33%
2012.8.28	ヤコブセン症候群、11q-症候群	9	3	0	0	2					66.67%
2012.9.11	コストコ症候群	13	6	0	0	3	3				100.00%
2012.9.18	ソース症候群	28	15	3	3	10	3				86.67%
2012.10.16	22q11欠失症候群	61	30	3	4	19	9				93.33%
2012.10.19	WAGR症候群	12	7	-	2	3	2				71.43%
2012.11.3	コレスリアデランゲ症候群	25	10	-	6	2	2				40.00%
2012.11.20	モザイクDS	23	8	0	0	2	2				50.00%
2012.12.11	カブキ症候群	29	17	8	14	6					35.29%
2012.12.18	ブラダーウネリー症候群	49	25	17	7	未	未				
	2012年開催回数	14回									
	2012年合計	371	168	44	60	72	29				
	2012年平均	26.50	12.00	3.14	4.29	7.00%	28.00%	1.00%			66.98%

マイクロアレイ解析による先天異常症候群の臨床研究

研究分担者 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 主任部長

研究要旨

先天異常症候群の原因は、発生・形態形成に関与する単一遺伝子病や染色体異常が多い。胎児性アルコール症候群や抗てんかん薬症候群のように、環境因子による場合もある。分子遺伝学の進歩により、先天異常症候群の責任遺伝子は次々と同定され、臨床の現場で遺伝子診断が実施される機会は増えた。マイクロアレイ染色体検査では G 分染法で同定されない微細な染色体異常症が多数診断可能となった。新規微細欠失（重複）症候群も発見されている。先天異常症候群の正確な診断と科学的な病態の解釈は、合併症など経過を予測する上でも重要である。患者をフォローする中で、蓄積した自然歴情報を生かすことにつながる。遺伝形式がわかれば、正確な遺伝カウンセリングが可能になる。患者・家族にとっては、発症過程における誤解を取り除き、疾病の受容を促進し、治療や療育に積極的に取り組む契機となりえる。マイクロアレイ染色体検査の最近の実施例から、特定にメンデル遺伝病の責任遺伝子を含む領域を欠失し、その遺伝病に加えて付加的な症状を呈した症例を報告する。

共同研究者

大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科
大町和美、三島祐子、山本悠斗、井上佳世
東京女子医科大学統合医科学研究所
山本俊至

A. 研究目的

研究分担者が勤務する大阪府立母子保健総合医療センターで診療を行った多発先天異常・発達遅滞症例で、通常の染色体検査で異常を認めなかった症例に対してマイクロアレイ染色体検査を行った。マイクロアレイ染色体検査は保険適応がないが、適切な使用により、正確な診断を行い、病態を明らかにして、患者のケアに役立てることが可能である。複数回の FISH 検査実施など、不必要な検査を回避することにもつながる。具体的な事例を通じてマイクロアレイ染色体検査の有用性を検討することが本研究の目的である。

B. 研究方法

精神運動発達遅滞や多発先天異常を有し、通常の染色体検査（G 分染法、FISH 法など）で異常を認めなかった症例。マイクロアレイ解析は共同研究者の東京女子医科大学統合医科学研究所あるいは、ラボコープ社において実施した。解析にあたっては遺伝カウンセリングを実施し、書面で親に意思確認を行った。結果の説明にあたっては遺伝カウンセリングを実施した。

C. 研究結果

マイクロアレイにて病的意義があると判断されるコピー数の変化を認めた、メンデル遺伝病の責任遺伝子を含む欠失が判明した 5 症例を提示する。

（症例 1）2p24.3 欠失による Feingold 症候群
在胎 38 週 2580 g で出生。全身筋緊張低下、哺乳障害あり、生後 1 ヶ月までチューブ栄養をうけた。両側停留精巣の手術をうけた。VSD、胸郭低形成も認めた。全般的に発達は遅延し、2 歳で寝返り、ずりばい可能であるが、座位不可。重度精神運動発達遅滞である。

眼瞼裂狭小、顔面正中中部低形成、短鼻、平坦な人中、高口蓋、小下顎、停留精巣術後、小陰茎を認めた。骨格系では側彎症、指趾短縮、第 II・III 趾合趾症を認めた。身長 87.3cm (-1.1SD) 体重 10.9kg (-1.5SD) , 頭囲 48cm (-0.7SD) と体格は小柄であった。

診断名は不明であったが、マイクロアレイ解析により、MYCN を含む 2p24.3 の欠失を認めたため、Feingold 症候群と診断した。

Feingold 症候群は小頭症、指趾奇形、食道閉鎖ないし十二指腸閉鎖、精神遅滞を主要症状とする。常染色体優性遺伝性疾患である。母指低形成、第 2・5 指彎曲、第 2・3 趾合趾症、中節骨低形成などを認める。心奇形、腎奇形、難聴を伴う例もある。2p24.3 に位置する MYCN 遺伝子の機能喪失が原因である。常染色体優性遺伝であり、欧米では多数例の報告があるが、日本では確実例は知られていない。

本例は消化管の先天異常はなかったが、指趾異常や特徴的顔貌に加えてMYCNを含む2p24.3の欠失を認めたので、Feingold症候群と診断し、発達遅滞の原因を同定することができた。MYCNの近傍の遺伝子も同時に欠失していたため、知的障害が重度であった。

(症例2) 15q14微細欠失によるLegius症候群
在胎40週3250gで出生。粘膜下口蓋裂で手術。一般的に発達は遅延し、2歳でつかまり立ち可能であるが、歩行不可。言語は単語が数個程度である。重度精神運動発達遅滞を認める。

診察上、胸部腹部所見に異常なし。眼間開離、顔面正中部低形成、短鼻、平坦な人中、小下顎を認めた。顔貌はヌーナン症候群様であった。体幹部にカフェオレ斑あり。カフェオレ斑は神経線維腫症でみられるほど顕著でなかったが、一応の鑑別として念頭に置いた。身長86.6cm(-0.4SD)、体重9.4kg(-1.8SD)、頭囲46.5cm(-0.8SD)とやや小柄であった。

一般血液検査に特記すべき異常なし。G-band 46,XXであった。頭部MRI異常なし
特徴的顔貌と精神運動発達遅滞を認めたことより、染色体異常を考え、SNPマイクロアレイ検査を実施した。その結果、染色体15q14にSPRED1遺伝子を含む微細欠失を認めた(図1)。SPRED1遺伝子はRAS-MAPK経路に関わる遺伝子で、ヌーナン症候群や神経線維腫症類縁疾患のひとつである、Legius症候群(neurofibromatosis type 1-like syndrome)の責任遺伝子である。本例も臨床所見とあわせ、Legius症候群と診断した。

Legius症候群はカフェオレ斑を認めるが、神経線維腫は発生しない。Lisch結節、骨格異常、視神経膠腫、悪性神経鞘腫も陰性である。カフェオレ斑を認めたことより、神経線維腫症を疑われたが、マイクロアレイ染色体検査で否定され、正確な鑑別診断が可能であった。ただし、微細欠失により近傍の遺伝子も欠失しており、精神運動発達遅滞はLegius症候群の一般的な状況と比べて重度であった。

(症例3) 2q24微細欠失によるSCN1A欠失に伴う多発先天異常、運動発達遅滞、てんかんの乳児
在胎41週2300gで出生。哺乳障害、体重増加不良あり。体重増加不良と特徴的顔貌を認めたため、精査目的で紹介となった。前頭縫合隆起、側頭部狭小、眼間開離、眼瞼裂狭小、顔面正中部低形成、短鼻、平坦な人中、小下顎を認めた。身長・体重は-0.5SD前後であったが、頭囲は2.3SDで小頭であった。G-bandでは46,XXと異常なし。頭部CTで前頭縫合早期癒合あり、脳外科で頭蓋形成手術を受けた。生後3ヶ月でてんか

ん発症し、重責発作を繰り返した。多発先天異常、顔貌異常より染色体異常考え、SNPマイクロアレイ検査を実施した。

SCN1A(電位依存性ナトリウムチャンネル α サブユニット1型蛋白)遺伝子などを含む、染色体2q24の微細欠失を認めた(図2)。SCN1Aは乳児重症ミオクロニーてんかん(SME)、Dravet症候群[OMIM#607208]の責任遺伝子である。これは乳幼児期の熱性けいれんを初発症状とし、難治の強直間代発作とミオクロニー発作、重い精神発達障害を特徴とする重篤なてんかんであり、本例も今後のてんかん治療に注意が必要と考えられた。

(症例4) TWIST1遺伝子欠失によるSaethre-Chatzen症候群

4歳9カ月男児。41週3600gで出生。合趾症を認めた。定額1歳、寝返り14カ月、座位2歳、つかまり立ち2歳半で、現在も独歩不可である。有意語もなく、重度精神運動発達遅滞である。自閉症も合併している。右冠状縫合早期癒合症を認め、脳神経外科で頭蓋形成手術を受けた。特徴的な頭顔、頭蓋縫合早期癒合、合指症よりSaethre-Chatzen症候群が疑われTWIST1遺伝子解析が行われたが変異はなかった。欠失の可能性を考えてマイクロアレイ染色体検査を行った。TWIST1を含む7p21.1-15.3の欠失を認めた。

Saethre-Chatzen症候群は7p21.1に座位するTWIST1遺伝子変異による。頭蓋縫合早期癒合、顔面非対称、眼瞼下垂、合指症などを認める。TWIST1を含む微細欠失による例であるが、近傍の複数の遺伝子も欠失したために重度精神運動発達遅滞を認めた。

(症例5) MITFを含む3p14欠失によるWaardenburg syndrome type IIA

4歳9カ月男児。41週3600gで出生。合趾症を認めた。定額1歳、寝返り14カ月、座位2歳、つかまり立ち2歳半で、現在も独歩不可である。有意語もなく、重度精神運動発達遅滞である。先天性難聴である。眼間開離が顕著であった。

特徴的な頭顔、多発先天異常を認めたために欠失の可能性を考えてマイクロアレイ染色体検査を行った。MITF(microphthalmia-associated transcription factor)を含む3p14欠失を認めた。

Waardenburg症候群は遺伝的異質性があり、type IとIIIはPAX3遺伝子異常による。MITF遺伝子はtype IIAの責任遺伝子である。難聴、頭髪や皮膚の色素脱失、虹彩異色症、眼間開離など特徴的顔貌を認める。MITF遺伝子変異の場合、を含む微細欠失による例であるが、近傍の染色体も欠失するために重度精神

運動発達遅滞を認めた。

D. 考察

症例1はMYCN遺伝子欠失によるFeingold症候群、症例2はSPRED1遺伝子欠失によるLegius症候群、症例3はSCN1A遺伝子欠失によるてんかん、症例4はTWIST1欠失によるSaethre-Chotzen症候群であった。症例5はMITF遺伝子欠失によるWaardenburg症候群であった。いずれもメンデル遺伝病の責任遺伝子を欠失し、ハプロ不全による発症を認めた。全例で検査実施前からこれらの診断を疑っていたわけではなく、マイクロアレイの結果から臨床的に再評価を行って診断にいたった例もある。

マイクロアレイ染色体検査の実施により、児の病態を客観的に説明することが可能であった。5例とも染色体中間部欠失であり、発症は突然変異と考えられた。性腺モザイクなどの特殊な例外を除けば、同胞の罹患の可能性は非常に低いということになる。これは同胞の罹患の可能性について説明を行う際、重要な所見である。

染色体微細欠失例はPCR法では欠失部分が増幅されないために、通常のシーケンス解析では異常が同定されない。ある症候群を疑ったが遺伝子診断で変異がなかった場合は、微細欠失を考えてマイクロアレイ染色体検査を行う必要がある。MLPA法も有用であるが、プローブの設定されている領域しか欠失がわからない。マイクロアレイ異常例では主要な責任遺伝子以外の近

傍の遺伝子も同時に欠失するため、他の異常を合併したり、精神運動発達遅滞が単一遺伝子変異の場合よりも重度になる傾向がある。

E. まとめ

マイクロアレイ染色体検査でメンデル遺伝病の責任遺伝子を含む領域を欠失した5例を報告した。

あるメンデル遺伝病を疑って遺伝子解析をしても異常がなかった場合はマイクロアレイ染色体検査が有効である。欠失範囲に含まれる遺伝子を検討することにより、今後注意すべき合併症がわかる場合もある。

マイクロアレイ染色体検査は現在保険収載されていない検査であるが、その有用性は高く、さらなる普及を期待したい。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文
別掲

H. 知的財産権の出願・登録

なし