

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）  
分担研究報告書

ヤング・シンプソン症候群の診療指針と情報・検体共有のためのシステムの検討

分担研究者 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

これまでまとめてきたヤング・シンプソン症候群の診療指針を見直し、あらたにまとめた。診断基準にゲノム異常を追加し、遺伝子診断として次世代シーケンサーの有用性も確認した。診療指針は、年齢ごと、臓器・症状ごとにまとめ、診療に有用な情報となるように組み合わせた。こうした希少難病の多くにおいて病態解明などの基礎研究が進まない理由として生体試料の不足があげられるため、治療法開発に不可欠となる検体共有のための難病バンクへの細胞寄託システムをより包括的な形にまとめなおした。さらなる疾患の拡大と治療を目指した基礎研究の推進が課題である。

## A．研究目的

神奈川県立こども医療センターは、京浜地区成育医療施設として、先天奇形症候群を含めた希少難病の医療管理を行っている。昨年までにヤング・シンプソン症候群の診療指針をまとめ、さらに治療法開発に不可欠となる検体共有のための難病バンクへの細胞寄託システムを整備した。希少疾患・奇形症候群においては、医療の最初のステップである診断の確定が極めて重要である。今回、昨年までに確立された診断基準・診療指針を見直し、次世代シーケンサーの有用性も確認した。また、同様に難病バンク細胞寄託も見直しを行い、システムに反映した。

## B．研究方法

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で、その病因・病態の解明が進みつつある。臨床像は極めて均一であり、症候群としても明確な疾患範疇として確立できることがわかった。2011年に海外のグループにより責任遺伝子がKAT6Bと特定されて以降、遺伝子レベルでの正確な診断に基づく診療指針の確立が重要となっている。これまで収集された診断確定症例の各臨床症状を見直し、新たに診療指針をチェックリストとしてまとめた。合併症の羅列でなく、成長・発達ごとの指針となるように配慮した。また、基礎研究の促進を目的として、検体共有のための難病バンク（独立行政法人医薬基盤研究所難病研究資源バンク）への細胞寄託をより実現的なものとするために、多施設共同事業の形式を明確にし、施設内倫理審査および寄託手続きをおこなった。

## C．研究結果

### 1) 診断未定例の再評価

これまで、変異が集中するKAT6B exon 18を中心に分析を進めてきたが、exome解析によりexon 16に新規の変異症例を経験したことから、全エクソンの迅速診断システムの確立が重要と考え、次世代シーケンサーを用いた変異スクリーニング体制を確立した。KAT6B遺伝子全exon18領域を7つのPCR産物でカバーできるようにプライマーを設計し、PCR産物(LA-PCRを併用)をNextera(Illumina)で処理し(ライブラリ化)卓上型次世代シーケンサーMiSeq(Illumina)を用いて、極めて効率的に迅速に解析するシステムを確立した。その結果、10-15サンプルは同時解析が可能であることを確認した。このことにより疑い例の迅速解析が可能となった。また、read depthsは極めて高く(数千以上)その信頼度も高いことが確認できた。また、この手法により、収集新規サンプルに変異陽性を検出した。

診断未定2例についてマイクロアレイ染色体(SurePrint G3 8x60k, Agilent Technologies)で、KAT6Bを含むゲノム微細欠失を検出した。微細欠失によるヤング・シンプソン症候群はこれまで報告がなく、新しい発症メカニズムおよび病態の検討に極めて有用な症例と考えられた。

### 2) 自然歴に基づいた医療管理プロトコルの作成

平成24年度研究までに確立された自然歴に基づく医療管理プロトコルに改訂を行った。大きな修正点は、今回KAT6Bを含む領域のゲノム微細欠失症例が2例検出されたことである。現在まで報告がなく、新しい疾患概念の可能性がある。これまで、重症度分類を導入するまでもなく全例重症例であったが、ゲノム微細欠失症例は、眼瞼裂狭小や長い指などの骨格特性など中核症状は従来であるが、精神遅滞は中等度で身辺自立も達成可能である範囲と考えられた。これらの事実により、診断基準の見直しと、医療管理プロトコ

ルの見直しを行った。また、視覚的に医療管理の全体が把握できるように、診療におけるチェックリストを作成した。

### 診断基準（平成25年度版）

- 1) 特徴的な顔貌
- 2) 精神遅滞：中等度から重度
- 3) 眼症状：眼瞼裂狭小を必須として付随する弱視・鼻涙管閉塞など
- 4) 骨格異常：内反足など
- 5) 内分泌学的異常：甲状腺機能低下症
- 6) 外性器異常：主に男性で停留精巣および矮小陰茎

補助項目：羊水過多、新生児期の哺乳不良、難聴、行動特性、泌尿器系異常。遺伝子診断により KAT6B 遺伝子に疾患特異的変異を検出する。また、マイクロアレイ染色体等で KAT6B を含む 10q22.2 領域の微細欠失を原因とすることもある。

除外診断：

他の奇形症候群あるいは染色体異常症を除外できる。特に眼瞼裂狭小・眼瞼下垂・逆内眼角贅皮症候群（あるいは眼瞼裂狭小症候群；Blepharophimosis ptosis epicanthus inversus syndrome BPES）との鑑別は重要。一般に BPES では精神遅滞は目立たないが、微細欠失型の場合は精神遅滞、成長障害、関節症状などを合併することがあり、混同されやすく注意が必要である。また、他の染色体異常症（上述 BPES 微細欠失型 3q22.3 欠失症候群も含め）を除外する必要がある。

### 3) 症候群カード

希少難病の健康管理を目的とした症候群カードの作成と配布の促進。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-SYMPSON SYNDROME CARE CARD」を作成した。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。このカードは、実際に患者家族が携帯し、医療管理・生活管理の参考になっていることが、「第4回ヤング・シンプソン症候群の会」でも報告された。

### 4) Exome 解析による病因遺伝子の同定

平成24年度研究では、家系トリオ exome 解析により従来疾患特異的変異が集中する exon18 ではなく、exon16 に新規の変異を確認した。臨床症状は確かに診断基準を満たすものの、行動特性としての人懐こい、明るく陽気な面が乏しく、自閉的な要素が強かった。KAT6B の行動特性への影響を検討する上で極めて重要な症例であり、改めて心理行動パタンの解析が今後の課題と考えられた。

### 5) 難病研究資源バンクへの細胞寄託

昨年度までに確立したシステムを、より広く活用するために図1のような形での流れを再整備し、倫理審査承認を得た。

### D. 考察

ヤング・シンプソン症候群の診断システムとして、次世代シーケンサーを用いた新しい変異スクリーニング体制を確立した。これにより従来のサンガー法によりシーケンス解析からよりコストダウンを図った迅速な解析が可能となった。また、変異モザイクも高い精度で検出できることが他の疾患で確認されていることから（自験症例）今後正確な診断が、疾患概念の拡大につながるかもしれない。

ゲノム微細欠失による新たな2症例を診断し得たことは注目に値する。本疾患はほぼ全例 KAT6B の truncated mutations である。このことは、truncated mutation がそのままハプロ不全としての発症メカニズムを意味するわけではなく、変異アレルの転写産物が発症に対して何らかの影響を及ぼしていることを意味するかもしれない。治療戦略を検討するうえで極めて重要なデータとなることが予想される。しかし、先天異常疾患の多くは、発生初期に重要な機能を果たしている遺伝子であり、出生後の遺伝子の機能解析は病態解明に結びつかない場合が多い。したがって、本疾患も iPS 細胞化によるヒストン修飾の状況の詳細な検討が今後の課題と考えられた。

今回、昨年までの診療指針に続き、診療におけるチェックリストを作成した。乳幼児期から成人期にいたるまでの診療のポイントや検査項目を視覚的に分かりやすく、診療に携わる一般小児科・内科医でも理解し、さらに、親の理解の補助となる形式とした。長期的なフォローでは、見落とされがちな問題をリスト化することにより見落としが少ないような形式になっている。今後は、この形式を多数症例の検討でさらに詳細にまとめ、個体差も考慮する形式を目指している。

### E. 結論

ヤング・シンプソン症候群の診療指針・健康管理チェックリストをまとめ、さらに治療法開発に不可欠となる検体共有のための難病バンクへの細胞寄託システムを再整備した。従来病態が不明とされてきた希少難治性疾患である奇形症候群の診療指針を明らかにすることは極めて重要である。医療サイドの理解が得られ、合併症管理に有用となる。さらに自然歴に関する情報は、将来に対する親の不安を取り除くことを可能とし、結果として長期的予後の改善が期待できる。さらなら疾患の拡大と治療を目指した基礎研究の推進が課題である。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

Aoki Y, Niihori T, Banjo T, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Ogata T, Takada F, Yano M, Ando T, Hoshika T, Barnett C, Ohashi H, Kawame H, Hasegawa T, Okutani T,

Nagashima T, Hasegawa S, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Inoue S, Watanabe Y, Ogura T, Matsubara Y. Gain-of-Function Mutations in RIT1 Cause Noonan Syndrome, a RAS/MAPK Pathway Syndrome. *Am J Hum Genet* 2013;93(1):173-80.

Ishikawa A, Enomoto K, Tominaga M, Saito T, Nagai JI, Furuya N, Ueno K, Ueda H, Masuno M, Kurosawa K. Pure duplication of 19p13.3. *Am J Med Genet A*. 2013 Sep;161(9):2300-4

Yasuda S, Imoto K, Uchida K, Machida D, Yanagi H, Sugiura T, Kurosawa K, Masuda M. Successful Endovascular Treatment of a Ruptured Superior Mesenteric Artery in a Patient with Ehlers-Danlos Syndrome. *Ann Vasc Surg*. 2013;27(7):975.e1-5.

## 2. 学会発表

黒田友紀子、大橋育子、井田一美、成戸卓也、升野光雄、黒澤健司 Marfan 類縁疾患に対する次世代シーケンサーを用いたターゲットシーケンス解析 第 36 回日本小児遺伝学会 学術集会 2013.4.18. 広島

黒田友紀子、大橋育子、高野亨子、和田敬仁、小坂仁、松井潔、黒澤健司 先天奇形症候群での次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析 . 第 116 回日本小児科学会学術集会 2013.4.19-21. 広島

黒田友紀子、大橋育子、高野亨子、和田敬二、松井潔、小坂仁、黒澤健司 次世代シーケンサーを用いた小児神経疾患のターゲットシーケンス解析のワークフロー . 第 55 回日本小児神経学会学術集会 2013.5.30-6.1 大分

黒田友紀子、大橋育子、松浦久美、西川智子、黒澤健司 次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析における遺伝カウンセリング . 第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会 2013.6.20-23.

Kuroda Y, Ohashi I, Saito T, Nagai J, Ida K, Naruto T, Masuno M, Kurosawa K. Targeted next-generation sequencing for the molecular genetic diagnostics of mandibulofacial dysostosis. 63rd American Society of Human Genetics, 2013.10.22-26. Boston

成戸卓也、黒田友紀子、大橋育子、黒澤健司 ベンチトップ型次世代シーケンサーを用いた小児疾患ターゲットシーケンスの臨床応用 日本人類遺伝学会第 58 回大会 2013.11.20-23. 仙台

大橋育子、黒田友紀子、成戸卓也、真鍋理一郎、吉武和敏、池尾一穂、黒澤健司 エクソーム解析により新規疾患関連遺伝子変異を同定した多発奇形・発達遅滞同胞例 日本人類遺伝学会第 58 回大会 2013.11.20-23. 仙台

黒田友紀子、大橋育子、成戸卓也、高野亨子、和田敬仁、黒澤健司 Ciliopathy (Joubert 類縁疾患) パネルを用いた網羅的遺伝子解析 日本人類遺伝学会第 58 回大会 2013.11.20-23. 仙台

## 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  
2013版

課題名 「先天異常症候群患者の保存細胞の難病研究資源バンクへの寄託」により収集された患者試料の受入（共同事業）

