

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）  
総合研究報告書

Ras/MAPK シグナル伝達異常関連症候群に関する研究

研究分担者 松原洋一 国立成育医療研究センター・研究所長

**研究要旨**

Ras/MAPKシグナル伝達異常関連症候群は、コステロ症候群、CFC (cardio-facio-cutaneous) 症候群、ヌーナン症候群などを総称する疾患概念である。いずれも特異的顔貌・心疾患・骨格異常・精神遅滞・皮膚症状・易発がん性などを示す常染色体優性遺伝性疾患で、細胞内のRas/MAPKシグナル伝達経路に関わる遺伝子の先天性異常によって引き起こされる。これらの疾患群の病因・病態はまだ十分に解明されておらず、また自然歴も不明な点が多い。本分担研究では、まず全国調査によって両疾患の日本における罹患数の算出を行い、その病態や合併症について解析を行った。この調査結果を参考に、コステロ症候群およびCFC症候群の診療の手引を作成した。さらに、ヌーナン症候群における新規病因遺伝子の探索を行い、これまでに報告されていないRIT1遺伝子を同定した。

**研究協力者**

緒方 勤(国立成育医療研究センター・研究所)  
黒澤健司(神奈川県立こども医療センター・遺伝科)  
川目 裕(東北大学・東北メディカル・メガバンク機構遺伝子診療支援・遺伝カウンセリング分野)  
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)  
大橋博文(埼玉県立小児医療センター・遺伝科)  
水野誠司(愛知県心身障害者コロニー中央病院)  
栗山進一(東北大学・大学院医学系研究科)  
呉 繁夫(東北大学・大学院医学系研究科)  
青木洋子(東北大学・大学院医学系研究科)  
新堀哲也(東北大学・大学院医学系研究科)  
井上晋一(東北大学・大学院医学系研究科)  
阿部 裕(東北大学・大学院医学系研究科)  
斎藤由佳(東北大学・大学院医学系研究科)  
井泉瑠美子(東北大学・大学院医学系研究科)

**A . 研究目的**

Ras/MAPK シグナル伝達異常関連症候群は、コステロ症候群、CFC (cardio-facio-cutaneous) 症候群、ヌーナン症候群などを総称する疾患概念である。いずれも特異的顔貌・心疾患・骨格異常・精神遅滞・皮膚症状・易発がん性などを示す常染色体優性遺伝性疾患で、細胞内のRas/MAPK シグナル伝達経路に関わる遺伝子の先天性異常によって引き起こされる。これらの疾患群の病因・病態はまだ十分に解明されておらず、また自然歴も不明な点が多い。

本分担研究では、まずコステロ症候群およびCFC 症候群の全国調査を実施した。その調査結果を踏まえて、両疾患の診療の手引のための疾

患特異的成長手帳を作成した。また、ヌーナン症候群の病因解明を目的として新規病因遺伝子の探索をおこなった。

**B . 研究方法**

1) コステロ症候群およびCFC 症候群に関する全国調査

本分担研究に先行して実施したコステロ症候群・CFC 症候群の全国一次調査をもとに、患者を現在フォローしている医療機関を対象に調査用紙を送付して情報を取得した。

2) 疾患特異的成長手帳の作成

成書の「Preventive Management of Children with Congenital Anomalies and Syndromes」(Wilson GN, Cooley WC著, Cambridge University Press, 2000) をベースとして、本分担研究者及び研究協力者による知見を加えて作成した。

3) ヌーナン症候群における新規病因遺伝子の探索

既知の病因遺伝子に変異が認められなかったヌーナン症候群患者14名から得られたゲノムDNAを検体とし、次世代シーケンサーを用いたエクソーム解析によって病因遺伝子の探索を行った。さらに、180人の患者検体にたいして新規病因遺伝子の変異解析を行った。

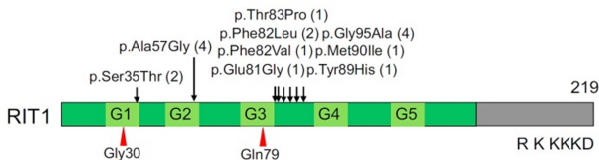
**C . 研究結果**

1) ヌーナン症候群における新規病因遺伝子の探索

14名の患者検体のエクソーム解析によって、RIT1遺伝子の変異が同定された。次に180名の患

者検体においてRIT遺伝子の解析を行ったところ、17名(9%)に遺伝子変異が同定された。遺伝子変異の種類とその位置を図1に示す。遺伝子変異の多くは、RIT1遺伝子のswitch1と呼ばれる部分に集中していた。

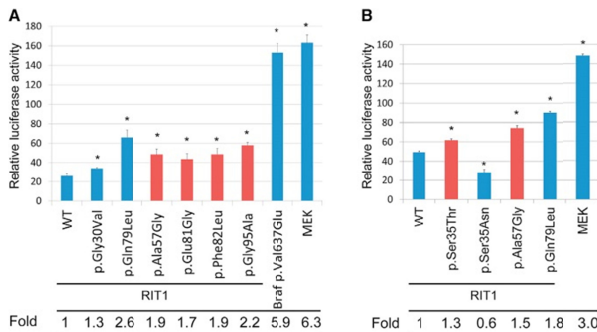
(図1)



臨床病型の検討では、RIT1遺伝子変異をもつ患者はヌーナン症候群の中でも肥大型心筋症の合併率が高いことが判明した。

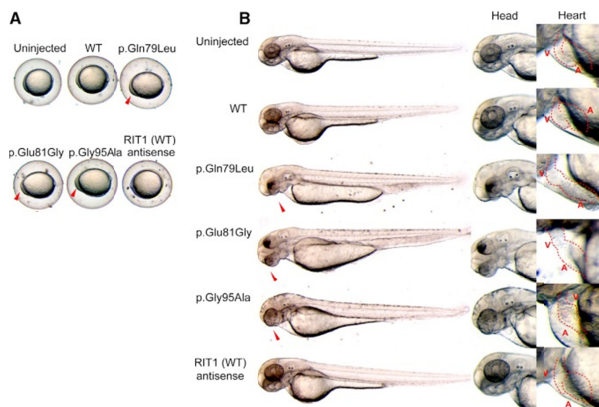
次に、患者で認められた変異RIT1遺伝子をNIH3T3細胞で発現させ、シグナル伝達経路下流にあるELK1による転写活性をルシフェラーゼアッセイで測定したところ、正常対照に比較して亢進していることが明らかとなった(図2の赤で示した部分)。

(図2)



さらに患者で同定された遺伝子変異をゼブラフィッシュに導入したところ、心臓の異常や頭部の変形が確認された(図3)。心拍も正常対照に比較して著明な徐脈を示した。

(図3)



## 2) 疾患特異的成長手帳の作成

コステロ症候群およびCFC症候群の診療の手引のための疾患特異的成長手帳を作成した(資料2:診療の手引き)。それぞれ年齢に応じて必要なチェック項目と必要に応じて連携すべき診療部門を示した。

## D. 考察

本分担研究者は、これまでに600例以上のRAS/MAPK症候群に対して遺伝子診断を提供してきた。そのうち約40%ははまだ原因が不明であり、新たな原因遺伝子の検索を行っている。今回、次世代シーケンサーを用いた解析によって新たにRIT1遺伝子に異常を持つ症例の存在が明らかとなった。同定された変異は、これまでにRas/MAPKシグナル伝達異常関連症候群で認められた他の遺伝子変異と同様、Ras/MAPKシグナル伝達経路を活性化するものであった。また、変異を導入したゼブラフィッシュで観察された形態学的異常は、ヌーナン症候群患者で認められる表現型に類似しているものと考えられた。本研究結果は、これまで機能が不明であったRASサブファミリーのRIT1が古典的癌原遺伝子RAS(HRAS, KRAS, NRAS)と同じ働きを持つ可能性があることを初めて示すとともに、同疾患の病態の解明や治療への道を切り開くものとして期待される。

臨床的には、コステロ症候群およびCFC症候群の自然歴や合併症が次第に明らかになりつつある。とくに心筋症や悪性腫瘍の合併は生命予後に大きく関与するため、定期的なモニタリングと早期発見・早期介入が不可欠である。この点に鑑み、診療の手引のための疾患特異的成長手帳を作成した。わが国における今後の診療に活用することで、患者のQOLの向上にもつながることが期待される。

## E. 結論

コステロ症候群・CFC症候群のわが国における患者数の推定を行うとともに、臨床症状と合併症を詳細に検討した。この解析結果を踏まえて、両症候群の診療の手引を作成した。また、ヌーナン症候群の新規病因遺伝子を同定することに成功した。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- Enosawa S, Horikawa R, Yamamoto A, Sakamoto S, Shigeta T, Nosaka S, Fujimoto J, Tanoue A, Nakamura K, Umezawa A, Matsubara Y, Matsui A, Kasahara M. Hepatocyte transplantation using the living

- donor reduced-graft in a baby with ornithine transcarbamylase deficiency: A novel source for hepatocytes. *Liver Transpl.* 2013 Nov 23. doi: 10.1002/lt.23800. [Epub ahead of print]
- 2) Sekiguchi K, Maeda T, Suenobu S, Kunisaki N, Shimizu M, Kiyota K, Handa YS, Akiyoshi K, Korematsu S, Aoki Y, Matsubara Y, Izumi T. A transient myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm in a patient with cardio-facio-cutaneous syndrome and a germline BRAF mutation. *Am J Med Genet A.* 161(10):2600-3, 2013.
  - 3) Miyake N, Koshimizu E, Okamoto N, Mizuno S, Ogata T, Nagai T, Kosho T, Ohashi H, Kato M, Sasaki G, Mabe H, Watanabe Y, Yoshino M, Matsuishi T, Takanashi J, Shotelersuk V, Tekin M, Ochi N, Kubota M, Ito N, Ihara K, Hara T, Tonoki H, Ohta T, Saito K, Matsuo M, Urano M, Enokizono T, Sato A, Tanaka H, Ogawa A, Fujita T, Hiraki Y, Kitanaka S, Matsubara Y, Makita T, Taguri M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saito H, Yoshiura K, Matsumoto N, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A.* 161(9):2234-43, 2013.
  - 4) 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* 93(1):173-80, 2013.
  - 5) Izumi R, Niihori T, Aoki Y, Suzuki N, Kato M, Warita H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Abe K, Nakayama K, Aoki M, Matsubara Y. Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure. *J Hum Genet.* 58(5):259-66, 2013.
  - 6) Aoki Y, Matsubara Y. Ras/MAPK syndromes and childhood hemato-oncological diseases. *Int J Hematol.* 97(1):30-6, 2013.
  - 7) Asano M, Fujimura T, Wakusawa C, Aoki Y, Matsubara Y, Aiba S. A case of almost unilateral focal dermal hypoplasia resulting from a novel mutation in the PORCN gene. *Acta Derm Venereol.* 93(1):120-1, 2013.
  - 8) Ninomiya M, Kondo Y, Niihori T, Nagashima T, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, Aoki Y, Matsubara Y, Shimosegawa T. Sequential analysis of amino acid substitutions with hepatitis B virus in association with nucleos(t)ide analogue treatment detecting by deep sequencing. *Hepatol Res.* 2013 [Epub ahead of print]
  - 9) Komatsuzaki S, Sakamoto O, Fuse N, Uematsu M, Matsubara Y, Ohura T. Clinical Reasoning: A young man with progressive subcortical lesions and optic nerve atrophy. *Neurology.* 79(7):e63-8, 2012.
  - 10) 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.* 36(8):1009-15, 2012.
  - 11) Metoki H, Ohkubo T, Obara T, Akutsu K, Yamamoto M, Ishikuro M, Sakurai K, Iwama N, Katagiri M, Sugawara J, Hirose T, Sato M, Kikuya M, Yagihashi K, Matsubara Y, Yaegashi N, Mori S, Suzuki M, Imai Y; BOSHI Study Group. Daily serial hemodynamic data during pregnancy and seasonal variation: the BOSHI study. *Clin Exp Hypertens.* 34(4):290-6, 2012.
  - 12) 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 A.* 158A(5):1083-94, 2012.
  - 13) Miyatake S, Miyake N, Touho H, Nishimura-Tadaki A, Kondo Y, Okada I, Tsurusaki Y, Doi H, Sakai H, Saito H, Shimojima K, Yamamoto T, Higurashi M, Kawahara N, Kawachi H, Nagasaka K, Okamoto N, Mori T, Koyano S, Kuroiwa Y, Taguri M, Morita S, Matsubara Y, Kure S, Matsumoto N. Homozygous c.14576G>A variant of RNF213 predicts early-onset and severe form of moyamoya disease. *Neurology.* 78(11):803-10, 2012.
  - 14) Kikuchi A, Arai-Ichinoi N, Sakamoto O, Matsubara Y, Saheki T, Kobayashi K, Ohura T, Kure S. Simple and rapid genetic testing for citrin deficiency by screening 11 prevalent mutations in SLC25A13. *Mol Genet Metab.* 105(4):553-8, 2012.
  - 15) Narisawa A, Komatsuzaki S, Kikuchi A, Niihori T, Aoki Y, Fujiwara K, Tanemura M, Hata A, Suzuki Y, Relton CL, Grinham J, Leung KY, Partridge D, Robinson A, Stone V, Gustavsson P, Stanier P, Copp AJ, Greene ND, Tominaga T, Matsubara Y, Kure S. Mutations in genes encoding the glycine cleavage system predispose to neural tube defects in mice and humans. *Hum Mol Genet.* 21(7):1496-503, 2012.
  - 16) Patrinos GP, Smith TD, Howard H, Al-Mulla F, Chouchane L, Hadjisavvas A, Hamed SA, Li XT,

Marafie M, Ramesar RS, Ramos FJ, de Ravel T, El-Ruby MO, Shrestha TR, Sobrido MJ, Tadmouri G, Witsch-Baumgartner M, Zilfalil BA, Auerbach AD, Carpenter K, Cutting GR, Dung VC, Grody W, Hasler J, Jorde L, Kaput J, Macek M, Matsubara Y, Padilla C, Robinson H, Rojas-Martinez A, Taylor GR, Vihinen M, Weber T, Burn J, Qi M, Cotton RG, Rimoïn D; (International Confederation of Countries Advisory Council). Human variome project country nodes: Documenting genetic information within a country. *Hum Mutat.* 33(11):1513-9, 2012.

## 2. 学会発表

- 1) 松原洋一 次世代シーケンサーによる遺伝性疾患研究・診療のパラダイムシフト 日本人類遺伝学会第58回大会、仙台、平成25年11月

## **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