

表1 専門科へのコンサルテーション

遺伝科	染色体検査、他の遺伝学的検査の検討、遺伝カウンセリング。
小児神経科	神経学的所見、診断、鑑別疾患。
小児放射線科	画像診断、鑑別疾患。
眼科	閉眼障害による角膜炎・結膜炎、内斜視、Duane 眼球後退症候群。 視力障害の評価。
耳鼻咽喉科	浸出性中耳炎、難聴、喉頭軟化症、気管切開。
整形外科	内反足、外反扁平足、合指症、Poland 奇形。
形成外科	口蓋裂、合指症、Poland 奇形。
リハビリテーション科	運動発達遅滞、協調運動障害、筋緊張低下、内反足、Poland 奇形等に対する理学療法、作業療法。装具、車いす等の作成。嚥下・摂食リハビリテーション。
外科	胃食道逆流症の検査。胃瘻造設・管理。
歯科	開口障害のため齲歯になりやすい。小顎症のため歯列不正となりやすい。 嚥下・摂食リハビリテーション。
脳神経外科	稀に中脳水道狭窄症を合併する。
麻酔科	開口障害のため気管挿管が困難なことがある。
言語聴覚士	難聴に対する補聴、言語療法。
臨床心理士	発達検査、知能検査。
産婦人科	妊娠前外来、遺伝カウンセリング、次子の出産に対する両親の支援。

表2 メビウス症候群の鑑別疾患

脳幹障害型脳性麻痺 ¹⁾	外転神経麻痺の合併が少ない。MRIで脳幹背側、基底核・視床に信号異常を伴うことが多い。脳幹の石灰化病変はない。先天性内反足、Poland奇形は伴わない。
pontine tegmental cap dysplasia (PTCD) ²⁾	橋小脳の特徴的形態（橋底部の低形成平坦化、橋背側の第四脳室内への突出cap、molar tooth様の上小脳脚）、難聴、脊椎分節異常。脳幹の石灰化病変はない。Poland奇形は伴わない。
brainstem dysgenesis (Roig) ³⁾	眼球運動失行（外転神経麻痺はない）、下顎反射亢進、錐体路徴候あり。
先天型筋強直性ジストロフィー	筋緊張低下、腱反射減弱／消失、ベル型胸郭、右横隔膜挙上、細い肋骨、胃不全麻痺、内反足、呼吸障害、哺乳障害。母が筋強直性ジストロフィーで羊水過多を伴う。
Leigh脳症	脳幹背側、基底核の信号異常。高乳酸値（髄液＞血液）。
橋小脳低形成I型	Werdnig-Hoffman病に類似。多発性関節拘縮、筋緊張低下、腱反射消失、呼吸障害、画像で橋腹側と小脳の低形成。脊髓前角細胞の障害。
cerebro-oculo-facio-skeletal (COFS) syndrome (Pena-Shokeir症候群II型)	呼吸障害、嚥下障害、多発性関節拘縮症、白内障、基底核石灰化、進行性。
遺伝性先天性顔面神経麻痺	顔面神経麻痺以外の脳神経症状はない。

参考文献

- 1) Hiyane M, et al. A case of bulbar type cerebral palsy: representative symptoms of dorsal brainstem syndrome. Brain Dev 2012;34:787-91.
- 2) Barth PG, et al. Pontine tegmental cap dysplasia: a novel brain malformation with a defect in axonal guidance. Brain 2007;130:2258-66.
- 3) Roig M, et al. Brainstem dysgenesis: report of five patients with congenital hypotonia, multiple cranial nerve involvement, and ocular motor apraxia. Dev Med Child Neurol 2003;45:489-93.

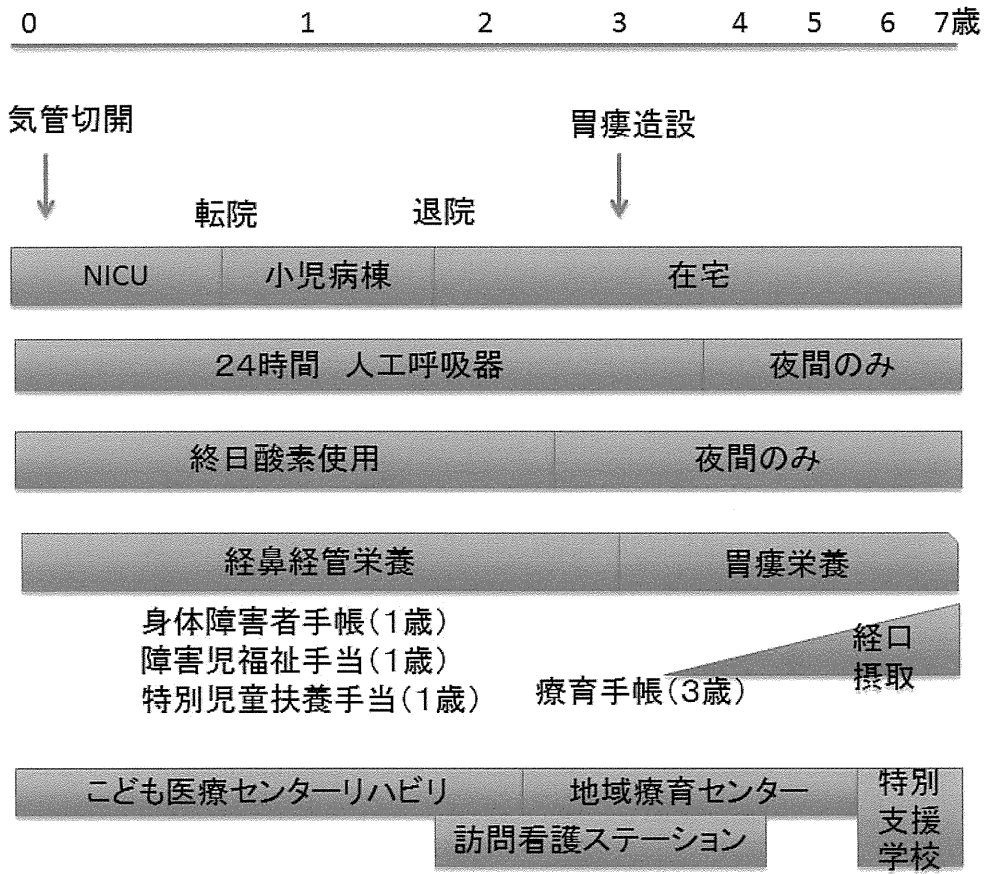
表3 メビウス症候群のライフステージ

胎児期	<p>胎児期の診断はできない。</p> <p>胎児エコーで脳幹の点状石灰化、中脳水道狭窄、脳室拡大を認めるときは本症も考慮する。</p> <p>軽度の羊水過多を伴うことがある。</p>
新生児期	<p>重症例はNICUに入院することが多い。</p> <p>仮死・低アプガースコアとなることが多い。</p> <p>新生児期に経管栄養を必要とすることが多い。</p> <p>顔面神経麻痺（仮面様顔貌）を認めるときは本症も鑑別の1つとする。</p> <p>頭部CT、MRI（CISS法含む）を行う。</p> <p>積極的に医療的ケアを導入する。</p>
乳児期	<p>発達、発育の評価を行う。</p> <p>リハビリテーションを開始する。</p> <p>医療的ケアを継続し、症状に応じた新たなケアの導入を考慮する。</p> <p>専門科へのコンサルテーションを行い、チーム医療を行う。</p> <p>乳児期は急性疾患で入院することが多い。</p> <p>訪問看護ステーションの導入を検討する。</p> <p>地域保健師、小児科クリニック、地域中核病院との連携。</p> <p>予防接種を行う。</p>
幼児期	<p>発育、発達の評価を行う。</p> <p>1歳半以降にMRI検査を再度行う。</p> <p>療育センターへの紹介。</p> <p>知能検査を行う。</p> <p>症状に応じた医療的ケアからの離脱あるいは導入を検討する。</p> <p>身体障害者手帳（1歳以降）、療育手帳（3歳以降）の適応を検討する。</p> <p>特別児童扶養手当、障害児福祉手当等の診断書の記載。</p>
学童期	<p>就学前に普通学級、特別支援学級、特別支援学校等の方向性を検討する。児に適した教育環境は発達を促進する。</p> <p>医療的ケアからの離脱が可能かを検討する。</p> <p>顔面神経麻痺のため表情に乏しく、自尊心が低下しないように工夫をする。</p> <p>知的レベルに応じた疾患・障害の説明を児にも行う。</p>

表4 メビウス症候群の発達を促進させる支援

周産期情報をまとめる	母子健康手帳、NICU 退院サマリーの活用。
経時的発達測定	遠城寺式乳幼児分析的発達検査／デンバー式発達検査で経時的に運動・社会・言語面の評価を行う。
カウプ指数（BMI）	カウプ指数 13 未満は栄養的介入を考慮する。
独歩遅延（late walker）	独歩は 1 歳半以降になることが多い。リハビリテーションや療育を行う。
選択的医療的ケア導入（elective）	発達を促進させるための医療的ケア導入。 切迫した状態での導入ではなく、急性疾患に罹患した時を想定した医療的ケアを行う。
乳児期の急性疾患	乳児期は急性疾患による入院が多い。入院機会を活用して、医療的ケアを見直す。 ケアの工夫で後に良い効果がでてくる。
医療的ケアの離脱	SpO ₂ モニタリング分析が在宅酸素、人工呼吸器からの離脱の評価に役立つ。
健康に過ごせる学童期が目標	学童期に急性疾患で入院することが少なくなるよう乳児期・幼児期に治療・ケアを工夫する。
長期フォローアップ	問題点はライフステージにより変化するため、長期フォローアップを行う。

図1 医療的ケアからの離脱例の経過



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

メビウス症候群の中枢 MRI 所見の研究：全国調査症例の集計

研究分担者 相田 典子

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 放射線科 部長

研究要旨

メビウス症候群の実態を把握し、診断基準の作成と病因の解明に寄与するため、同症候群の中枢画像所見を明らかにすることを目的とした。全国二次調査症例のうち、MRI による中枢画像解析の協力が得られ画像が提供された 16 例（典型例 13 例、先天性外転神経麻痺を伴わない不全例 3 例）においては脳幹の形態と信号異常を検討し、2mm 以下の 3D 画像が撮像された 14 例（典型例 11 例、不全例 3 例）では第 6・第 7 脳神経の形態について検討した。

16 例中、脳幹奇形と診断したのは 9 例で、2 例は中脳蓋肥厚と水頭症、橋から延髄に強い低形成を伴う共通の所見を呈し、7 例は橋から延髄が扁平な奇形を認め、全例が典型例であった。残り 7 例では脳幹形態に奇形はなく、全体小作りや部分的にやや小さい症例が 2 例（典型例）で、正常脳幹が 5 例（典型例 2 例、不全例 3 例）であった。いずれも信号異常は指摘できなかった。第 6・第 7 脳神経を thin slice で評価できた 14 例（典型例 11 例、不全例 3 例）全例で異常が認められ、第 7 脳神経の片側または両側の欠損/低形成が全例で、第 6 脳神経の同様異常は典型例 10 例で認められた。このうち不全例 3 例では第 6 脳神経の異常は明らかでなかった。

以上より、今回調査対象とした新生児科・小児科を受診するメビウス症候群では第 6・第 7 脳神経の欠損/低形成がほぼ全例で認められることが示唆され、典型例では両神経の異常とともに奇形などの脳幹異常が高い頻度で認められると考えられる。

共同研究者

藤井裕太（神奈川県立こども医療センター
放射線科）
柴崎 淳（同 新生児科）

要な疾患である。本分担研究では、画像診断の観点から、メビウス症候群の診断基準作成と、単一ではないと考えられる病因の解明に寄与するため、同症候群の中枢 MRI 所見を明らかにすることを目的とした。

A. 研究目的

メビウス症候群は、先天性顔面神経麻痺、外転神経麻痺を特徴とし、高率に四肢異常や他の脳神経麻痺を伴う。原因は不明で、多くは孤発例だが家系例の報告がある。多彩な症状から、チーム医療による生涯にわたる健康管理が必

B. 研究方法

研究方法は retrospective study で、本研究で全国二次調査の協力が得られた 29 例のうち、典型例 13 例、不全例 3 例の中枢画像解析の同意が得られ、提供された MRI の所見を、平成

23年度の神奈川県立こども医療センター症例での研究により明らかになった脳幹形態と第6・第7神経の異常について検討した。画像評価は2名の小児神経画像診断を専門とする放射線診断専門医が評価した。

典型例は本研究班の診断基準を満たす症例であり、不全例は先天性外転神経麻痺を伴わない症例である。

(倫理面への配慮)

本研究は「メビウス症候群の全国調査に基づく診断基準と健康管理指針作成に関する研究」(申請者：升野光雄)として川崎医療福祉大学倫理委員会の承認(平成23年10月4日付け)を得て実施した疫学研究の一部であり、画像データの提供に際しては、研究協力者施設において連結可能匿名化し、研究者は対応表を受け取らない。

C. 研究結果

1. 脳幹奇形群

16例中9例が脳幹奇形と診断された。このうち2例は中脳蓋の肥厚、中脳水道狭窄による水頭症、橋から延髄の低形成を示す共通の所見で、1例に小脳異常を合併した(図1)。7例は橋延髄移行部から延髄の低形成を呈し、第6・第7脳神経を評価できた全例で異常が見られた(図2)。

これらはいずれも典型例であり、各症例の所見を表1にまとめた。

図1 水頭症合併脳幹奇形(2例)

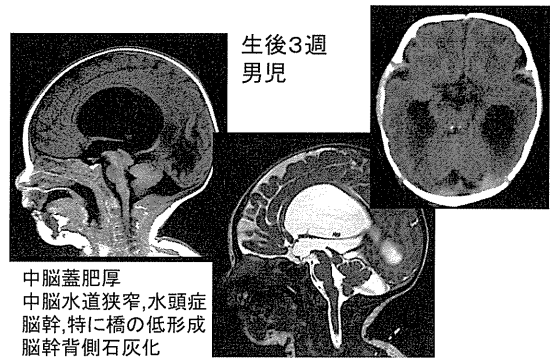
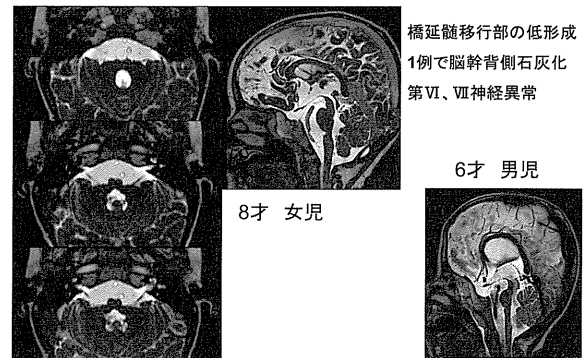


図2 橋延髄移行部の低形成(5例)



2. 非奇形群

脳幹奇形を認めない7例(典型例4例、不全例3例)は全例信号異常や小脳異常を認めず、全体または部分的に小さい脳幹を呈した例が2例(典型例)あり、1mm以下の脳神経撮像を行った1例で第6・第7脳神経異常を認めた(図3)。5例(典型例2例、不全例3例)では脳幹形態は正常と判断され、1mm以下の脳神経撮像を行った全例で第7脳神経異常を、2例で第6脳神経異常を認めた(図4)。

各症例の所見を表2にまとめた。

図3 非奇形群 脳幹小作り(3例) 9才 女児

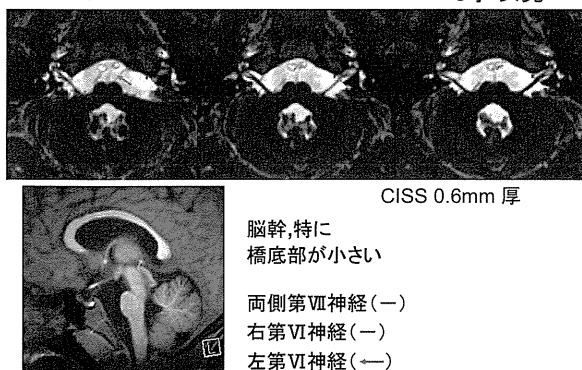
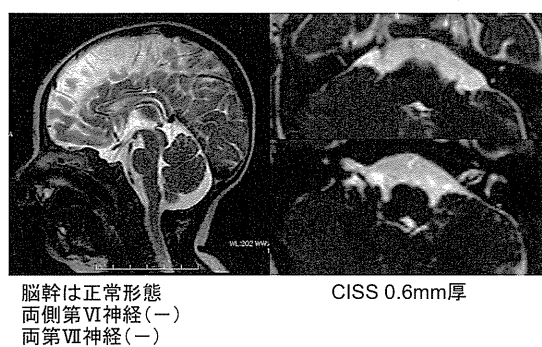


図4 非奇形群 正常脳幹(5例) 3ヶ月 女児



D. 考察

中脳蓋肥厚、中脳水道狭窄による水頭症を示す脳幹奇形2例では中脳橋移行部や橋延髄移行部に強い低形成を示し、同部に石灰化、あるいは石灰化を疑う所見を得た。2例はいわゆる Poland-Möbius 症候群であり、胎生期の椎骨動脈血流障害が示唆される病型であった。脳奇形の相同性から、この2例は同じ病因によることが推察され、椎骨脳底動脈系血流の胎生期の異常は最も考えやすい原因である。また、橋延髄移行部の低形成を示す脳幹奇形7例も水頭症は合併しないものの前述の2例の脳幹奇形の軽症型とも考える。脳幹奇形群は下位脳神経障害の合併もほぼ必発で、新生児期から重篤な神経症状を呈することが多く、このような群では、

脳幹奇形は本症候群の主要な病因と考えられる。

非奇形群では、5例は脳幹形態が正常で信号異常も認められず、通常のMRI画像だけでは臨床症状を説明することは不可能であった。しかし1.0mm以下のthin sliceの3D撮像を行うことで、脳神経に合わせた再構成などを行うことにより、この撮像法を行った全例で第6あるいは第7脳神経に何らかの異常が検出でき臨床症状に合致した。これらの脳神経が欠損または低形成を示す原因は解明できていないが、本症候群の神経症状を現す本質的な所見と考えられ、診断に寄与できる重要な所見と考えられる。

E. 結論

メビウス症候群の主要な病因として脳幹奇形があり、小児例では大きな割合を占める。また、奇形群、非奇形群に関わらず、1mm以下のthin sliceによる3D撮像を行うと第6・第7脳神経の異常が検出でき、本症候群の診断に重要で本質的な所見と考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Okabe T, Aida N, Niwa T, Nozawa K, Shibasaki J, Osaka H Early magnetic resonance detection of cortical necrosis and acute network injury associated with neonatal and infantile cerebral infarction. *Peditr Radiol In press*

Tomiyasu M, Aida N, Endo M, Shibasaki J, Nozawa K, Shimizu E, Tsuji H, Obata T. Neonatal Brain Metabolite Concentrations: An In Vivo Magnetic Resonance Spectroscopy Study with a Clinical MR System at 3 Tesla. *PLoS One*. 2013;8(11):e82746.

- Ohba C, Osaka H, Iai M, Yamashita S, Suzuki Y, Aida N, Shimozawa N, Takamura A, Doi H, Tomita-Katsumoto A, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Eto Y, Tanaka F, Matsumoto N, Saito H. Diagnostic utility of whole exome sequencing in patients showing cerebellar and/or vermis atrophy in childhood. *Neurogenetics*. 2013;14(3-4): 225-32.
- Kato H, Miyake F, Shimbo H, Ohya M, Sugawara H, Aida N, Anzai R, Takagi M, Okuda M, Takano K, Wada T, Iai M, Yamashita S, Osaka H. Urine screening for patients with developmental disabilities detected a patient with creatine transporter deficiency due to a novel missense mutation in SLC6A8. *Brain Dev*. 2013 Sep 14. [Epub ahead of print]
- Wada T, Ban H, Matsufuji M, Okamoto N, Enomoto K, Kurosawa K, Aida N. Neuroradiologic features in X-linked α -thalassemia/mental retardation syndrome. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2013;34(10):2034-8.
- Mitani T, Aida N, Tomiyasu M, Wada T, Osaka H. Transient ischemic attack-like episodes without stroke-like lesions in MELAS. *Pediatr Radiol*. 2013;43(10): 1400-3.
- Tanoue K, Aida N, Matsui K. Apparent diffusion coefficient values predict outcomes of abusive head trauma. *Acta Paediatr*. 2013;102(8):805-8
- Kouga T, Iai M, Yamashita S, Aida N, Takanashi J, Osaka H. A child with three episodes of reversible splenic lesion. *Neuropediatrics*. 2013;44(4): 199-202.
- Yamashita S, Miyake N, Matsumoto N, Osaka H, Iai M, Aida N, Tanaka Y. Neuropathology of leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement and high lactate caused by a homozygous mutation of DARS2. *Brain Dev*. 2013;35(4):312-6.
2. 学会発表
- 藤井裕太、相田典子、野澤久美子、野村幸一郎、松井 潔、升野光雄、井上登美夫：メビウス症候群における中枢画像の特徴. 第 43 回日本神経放射線学会(2014年3月22日、米子)
- 升野光雄、黒澤健司、松井 潔、片岡 愛、田上幸治、大山牧子、柴崎 淳、相田典子、小河原昇、山本敦子、二宮伸介、山内泰子、黒木良和. メビウス症候群の診断基準と小児期健康管理指針の作成. 日本人類遺伝学会第 58 回大会 (2013年11月21日、仙台)
- 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。

表 1 脳幹奇形を認めた 9 例 (すべて典型例)

病型	脳幹形態	石灰化	脳神経の欠損	その他
典型例	中脳橋移行部低形成 中脳蓋肥厚	中脳橋移行部背側 視床	右 VI, 両 VII	水頭症 Poland 奇形 日齢 43 で死亡
典型例	橋延髄移行部低形成 中脳蓋肥厚	橋延髄移行部背側	(thin slice 撮像 なし)	水頭症 小脳低形成 Poland 奇形 1 歳で死亡
典型例	橋延髄移行部低形成	橋延髄移行部背側	左 VI, 両 VII	Poland 奇形
典型例	橋延髄移行部低形成	橋延髄移行部背側	両 VI, 両 VII	
典型例	橋延髄移行部低形成	(CT ・ SWI 撮像なし)	両 VI, 両 VII	
典型例	橋延髄移行部低形成	(CT ・ SWI 撮像なし)	両 VI, 両 VII	
典型例	橋延髄移行部低形成	(CT ・ SWI 撮像なし)	両 VII	
典型例	橋低形成	石灰化なし	右 VI, 両 VII	軽度水頭症
典型例	橋低形成	(CT ・ SWI 撮像なし)	両 VI, 両 VII	

表 2 脳幹奇形を認めない 7 例

病型	脳幹形態	石灰化	脳神経の欠損/低形成
典型例	やや小さい	橋延髄移行部背側	右 VI 低形成 左 VI, 両 VII 欠損
典型例	やや小さい	(CT ・ SWI 撮像なし)	(thin slice 撮像なし)
典型例	正常	石灰化なし	両 VI, 両 VII 欠損
典型例	正常	(CT ・ SWI 撮像なし)	両 VI, 両 VII 欠損
不全例	正常	石灰化なし	両 VII 欠損
不全例	正常	(CT ・ SWI 撮像なし)	両 VII 欠損
不全例	正常	(CT ・ SWI 撮像なし)	両 VII 低形成

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

メビウス症候群類縁疾患の責任遺伝子と分子病態の文献的レビュー

研究分担者 二宮 伸介

公益財団法人大原記念倉敷中央医療機構 倉敷中央病院 遺伝診療部 主任部長

研究要旨

メビウス症候群類縁疾患の責任遺伝子と分子病態の文献的レビューを行なった。典型的メビウス症候群の原因遺伝子はまだ明らかにされておらず、遺伝的異質性の大きな病態と考えられた。一方、類縁疾患についてはいくつかの責任遺伝子が同定されてきた。典型的メビウス症候群の原因遺伝子は、類縁疾患の責任遺伝子と関連する可能性があるが、今後のさらなる検討が必要である。

A. 研究目的

メビウス症候群類縁疾患の責任遺伝子として明らかにされているものについて、文献的レビューを行なう。

B. 研究方法

これまでに報告されたメビウス症候群類縁疾患の責任遺伝子を文献で検索した。メビウス症候群類縁疾患としては、congenital cranial dysinnervation disorder (CCDD)という疾患概念を用いた。

参考文献

1. Yamada K, Andrews C, Chan WM et al. Heterozygous mutations of the kinesis *KIF21A* in congenital fibrosis of the extraocular muscles type 1 (CFEOM1). Nat Genet 2003; 35(4): 318-321.
2. Tischfield MA, Baris HN, Wu C et al. Human *TUBB3* mutations perturb microtubule dynamics, kinesis interactions, and axon guidance. Cell 2010; 140(1): 74-87.
3. Nakano M, Yamada K, Fain J et al. Homozygous mutations in *ARIX* (*PHOX2A*) result in congenital fibrosis of the extraocular muscles type 2. Nat Genet 2001; 29(3): 315-320.
4. Yamada K, Chan WM, Andrews C et al. Identification of *KIF21A* mutations as a rare cause of congenital fibrosis of the extraocular muscles type 3 (CFEOM3). Invest Ophthalmol Vis Sci 2004; 45(7): 2218-2223.
5. Oystreck DT, Engle EC, Bosley TM. Recent progress in understanding congenital cranial dysinnervation disorders. J Neuroophthalmol 2011; 31(1): 69-77.
6. Schroder JC, Laßig AK, Galetzka D et al. A boy with homozygous microdeletion of *NEUROG1* presents with a congenital cranial dysinnervation disorder [Moebius syndrome variant]. Behav Brain Funct 2013; 9: 7.

(倫理面への配慮)

本研究は、文献のレビューであり、患者情報は含まれない。従って倫理面での問題はない。

C. 研究結果

元来外眼筋の異常と考えられていた congenital fibrosis of the extraocular muscles (CFEOM) が、神経系の発達不全が原因であることがわかってきた。CCDD という概念は 2002 年から使用されるようになってきた。CCDD は臨床的にはメビウス症候群およびその類縁疾患との関連が示唆されている。

1. Duane retraction syndrome (DRS)

眼球の外転制限、時に内転制限がみられる。孤発例が多いが、約 10% が家族性である。常染色体優性遺伝形式のものが含まれる。*CHN1* が原因遺伝子の一つである。*CHN1* は外転神経の形成過程に関わると考えられている。

Duane-radial ray syndrome は DRS に加えて上肢の異常をきたすもので、心臓・腎臓・聴力・脊椎にも症状が出現することがある。*SALL4* が原因遺伝子である。*SALL4* は外転神経、四肢、心臓の形成に関わると考えられている。

2. CFEOM type 1 (CFEOM1)

常染色体優性遺伝形式

両側眼瞼下垂、上方視不能が主な症状である。原因遺伝子は *KIF21A* である。この遺伝子は kinesin microtubule-associated protein をコードしている。

3. CFEOM type 2 (CFEOM2)

常染色体劣性遺伝形式

両側眼瞼下垂、内転不能、外転は不完全ながらも可能。原因遺伝子は *PHOX2A* である。こ

の遺伝子は homeodomain transcription factor であり、動眼・滑車神経の発達過程の中で必須である。

4. CFEOM type 3 (CFEOM3)

常染色体優性遺伝形式

臨床的には CFEOM1 に似る。原因遺伝子としては *TUBB3* があり、稀に *KIF21A* が原因となることがある。

TUBB3 は microtubule を形成している。臨床症状の幅は大きい。顔面神経麻痺、末梢神経炎、手・指の拘縮、発達遅滞などが認められることがある。また脳梁の低形成を認めることがある。

5. *HOXA1* spectrum

常染色体劣性遺伝形式

外転不能、内転制限、難聴、内頸動脈・脳内血管の異常が認められる。また知的な遅れ、乏しい表情、中枢性低換気が認められることがある。原因遺伝子は *HOXA1* である。これまでのところメビウス症候群では、*HOXA1* の変異は見つかっていない。

6. Horizontal gaze palsy and progressive scoliosis

常染色体劣性遺伝形式

両側水平視がほとんどできない。眼振が認められることが多い。小児期から始まる進行性の側彎。原因遺伝子は *ROBO3* で、神経路の交叉形成に関与すると考えられている。

7. *NEUROG1* 遺伝子

メビウス症候群類縁疾患と考えられる例が最近報告された。

6 歳男児で、トルコ人で近親婚(またいとこ)の両親から生まれた。軽度発達遅滞、両側感音

性難聴、咀嚼・嚥下機能不全、バランス感覚不全の症状がみられた。

SNP アレイ、次世代シーケンサーによる検査を行った結果、5q31.1 に 115.3 kb のホモ接合欠失が同定された。欠失領域に含まれる遺伝子の内、神経分化過程に必須のことから *NEUROG1* が候補遺伝子と考えられた。

D. 考察

メビウス症候群は、先天性顔面神経麻痺および先天性外転神経麻痺を特徴とし、しばしば嚥下機能不全、四肢の異常を合併する多発奇形症候群である。多くの場合孤発例であるが、稀に家族性のものが存在する。これまでのところ典型例における原因遺伝子は解明されていない。メビウス症候群は遺伝的異質性の大きい疾患で、遺伝因子・環境因子が絡み合った病態と考えられる。

2002 年に CCDD という概念が提唱された。CCDD の中からメビウス症候群類縁疾患と考えられるものについて、いくつかの原因遺伝子が明らかにされてきた。これらの遺伝子との関連を検索していく中で、メビウス症候群の責任遺伝子が同定される可能性がある。

E. 結論

メビウス症候群の原因遺伝子はまだ解明されていない。類縁疾患では原因遺伝子が明らか

にされてきていることから、今後も遺伝子検索を継続していく必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

二宮伸介. 臨床における遺伝学的検査について. 倉敷中央病院年報 2013; 75:1-8.

2. 学会発表

升野光雄、黒澤健司、松井潔、片岡愛、田上幸治、大山牧子、柴崎淳、相田典子、小河原昇、山本敦子、二宮伸介、山内泰子、黒木良和. メビウス症候群の診断基準と小児期健康管理指針の作成. 日本人類遺伝学会第 58 回大会 (2013 年 11 月 21 日、仙台)

河内佳子、高原里枝、清水雅代、二宮伸介. 当院における ART 妊娠後と自然妊娠後の初期流産絨毛の染色体分析. 日本人類遺伝学会第 58 回大会 (2013 年 11 月 21 日、仙台)

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

次世代シーケンサーを用いたメビウス症候群原因遺伝子探索

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 部長

研究要旨

メビウス症候群類縁疾患の原因遺伝子として *HOXB1*、*ROBO3* などの報告がある。本研究班の診断基準を満たす 17 例に関して、メビウス症候群類縁疾患の原因として既知の 8 遺伝子およびクラスターを形成する 44 遺伝子、計 52 遺伝子を解析した。17 例のいずれにも有意な変異は認めず、遺伝的異質性の高い疾患の場合、amplicon-based 疾患関連遺伝子パネル解析では限界があると考えられた。これらの結果を踏まえ、原因遺伝子検索目的に全エクソーム解析を 3 例に施行した。3 例に共通する遺伝子変異は認められなかったが、解析対象例の蓄積により、新規のメビウス症候群責任遺伝子同定が期待される。

共同研究者

大橋育子（神奈川県立こども医療センター
遺伝科）

黒田友紀子（同 遺伝科）

成戸卓也（同 遺伝科）

法を用いてメビウス症候群の疾患関連遺伝子解析を行った。さらに、全エクソーム解析も開始した。

A. 研究目的

メビウス症候群は先天性顔面神経麻痺、外転神経麻痺、四肢異常を特徴としており、新生児期早期に診断される疾患の一つである。原因は脳幹の発生障害や胎生期の虚血と考えられているが、その根拠はあきらかではない。メビウス症候群類縁疾患の原因遺伝子として *HOXB1*、*ROBO3*、*TUBB3* などの遺伝子変異が報告されているが、遺伝的異質性の高い疾患と考えられ、原因究明目的には網羅的な遺伝子解析が必要とされる。次世代シーケンサーを用いた amplicon-based の疾患関連遺伝子パネル解析（Marfan 関連、Ciliopathy 関連）では複数の遺伝子を効率的に解析可能であり、今回この手

B. 研究方法

対象はメビウス症候群の全国調査に基づく診断基準と健康管理指針作成研究班の二次調査に登録し、かつ原因遺伝子解析に同意が得られた 17 例である。全例に染色体検査およびマイクロアレイ CGH 解析を 1 次スクリーニングとして施行し、染色体微細構造異常は否定されている。ゲノム DNA は、QIAamp DNA Blood Mini kit を用いて自動抽出機で末梢血液から抽出した。2 次スクリーニングとしてメビウス症候群類縁疾患の原因として既知の 8 遺伝子およびクラスターを形成する 44 遺伝子、計 52 遺伝子を対象とした解析を行った。解析対象候補遺伝子の絞り込みは文献情報・先行研究を参考とし、それらを手掛かりに国立遺伝学研究所が開設している Genome Network Platform に属す

る PPI Network から、関連する遺伝子をさらに絞り込んだ。具体的には、*CHN1* (Duane retraction syndrome 責任遺伝子)、*HOXA1*、*HOXB1*、*KIF21A*、*PHOX2A*、*ROBO3*(controls neurite outgrowth, growth cone guidance 責任遺伝子)、*ROBO1*、*ROBO2*、*SALL4* (Duane-radial ray syndrome 責任遺伝子)、*TUBB3* (congenital fibrosis of the extraocular muscles type 3 責任遺伝子)、*CAD*、*TUBA1A*、*TUBA1B*、*TUBA1C*、*TUBA4A*、*TUBB2A*、*TUBB4B*、*TUBB3*、*TUBB*、*TUBB6*などを含む、52 遺伝子に絞り込んだ。解析方法として、我々は、アレイによる候補領域のキャプチャーではなく、PCR ベースでのカスタムアンプリコン (HaloPlex Agilent 社製) によるターゲットエンリッチメントを行った。解析領域は 112.195 kb で、設計時のカバー率は 98.99% であった。解析は Miseq (Illumina) で行い、得られたデータは、MiSeq 付属の MiSeq Reporter により解析 (annotation, alignment)、また BWA+GATK、Picard、MiSeqReporter、SureCall、ANNOVAR を用いた独自の pipeline を用いた解析も行った。得られた情報の可視化として、Broad Institute の IGV を用いて (bam ファイル) 確認した。

また、全エクソーム解析は対象 3 例 (パネル解析例 1 例、新規登録例 2 例) に対して HaloPlex Exome (Agilent Technologies) を用いてエンリッチメントを行った。解析領域は 37 Mb で 21,522 遺伝子を対象としている。

(倫理面への配慮)

次世代シーケンサーによる解析は、神奈川県立こども医療センター倫理審査において、研究課題「次世代シーケンサーを用いた遺伝性疾患の解析研究」として平成 24 年 8 月 29 日に承認を得たものである。

検査前に十分な説明を行い、文書により同意のもとで解析を行った。解析にあたっては、全ての個人情報を潜在化した。

C. 研究結果

amplicon-based パネル解析 52 遺伝子の平均カバレッジは 344 reads で、20 reads 以上の CCDS は 95% と良好な結果を得た。3 つの病原性を疑う variant (*GTF3C1*、*NCOR1*、*CREBBP* いずれもヘテロ接合変異) を検出したが、家系解析により両親のいずれかに由来しており疾患との関連はないと判断した。17 例の解析では既知の遺伝子変異を認めず、クラスターを形成する遺伝子解析においても有意な結果は得られなかった。

全エクソーム解析の平均 coverage は 34 reads で、CCDS > 5 reads は 79% であり、標準的な解析は可能であった。各症例平均 380 の variant が認められた。3 例に共通した疾患関連遺伝子変異は認められなかった。

D. 考察

ごく最近になり、メビウス症候群病因解析研究に 2 つの大きな進展があった。一つは、6 つの β tubulin の一つである β -tubulin isotype III の異常が、神経軸索の伸長の方向性や維持に障害をきたし、脳幹部眼球運動ニューロンの障害を介して、先天性外眼筋線維化症 3 型 (congenital fibrosis of the extraocular muscle type 3; CFEOM3) を引き起こすことが報告された (Tischfield et al., Cell 140:74-87, 2010)。この症候群は、上記 CFEOM3 とよばれるものの、臨床的にメビウス症候群と極めて類似した臨床像を呈する。もう一つは、メビウス症候群群類似の仮面様顔貌、難聴、顔面神経麻痺を呈した近親婚家系を手掛かりに、*HOXB1* のホモ接合変異を同定した報告である

(Webb et al., Am J Hum Genet 91:171-179, 2012)。また、*FGF8* のヘテロ接合変異の報告 (McCabe MJ et al., J Clin Endocrinol Metab 2011;96:E1709-18) もある。これらのことから、脳幹形成および中枢神経系形成に関わる細胞骨格形成因子や転写因子が病因として深く関わることが推測される。

今回、上記の新しいメビウス症候群責任候補遺伝子に関する研究の進展に基づき、次世代シーケンサーによる網羅的なスクリーニングを展開した。対象 17 例では、疾患特異的と考えられる変異は検出できなかった。既知の疾患関連遺伝子に関する解析では、amplicon-based パネル解析は複数の遺伝子を多数対象例に対して同時に解析することが可能で、極めて有用な解析手法である。しかし、選択した遺伝子のみでの解析となるため、遺伝的異質性が高い疾患の場合には対象遺伝子を全て網羅しているとは言えず、今回のパネル解析の限界と考えられた。

今年度研究の後半では、原因遺伝子同定のためにはより詳細な解析が必要と考え、卓上型次世代シーケンサーで解析可能なプラットフォーム HaloPlex exome を用いての全エクソーム解析を行った。現時点で、既知のメビウス症候群様多発奇形症候群の責任遺伝子に変異を検出していない。メビウス症候群疾患関連遺伝子の同定は重要な課題であり、現在全エクソーム解析を詳細に検討し、原因検索を進めている。さらに解析数を増やすことによって、新規原因遺伝子の同定を目指している。

E. 結論

本年度は昨年度に続いて、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析を行った。解析症例数は 17 例と増加したが、有意な結果は得られなかった。遺伝子を限定したパネル解析では

遺伝的異質性の高い疾患の原因同定には限界と考え、全エクソーム解析を開始した。症例の蓄積と得られたデータの詳細な解析が今後の課題である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sasaki A, Sumie M, Wada S, Kosaki R, Kurosawa K, Fukami M, Sago H, Ogata T, Kagami M. Prenatal genetic testing for a microdeletion at chromosome 14q32.2 imprinted region leading to UPD(14)pat-like phenotype. Am J Med Genet A. 2014;164(1):264-6.

Ueda H, Sugiura T, Takeshita S, Ito K, Kakita H, Nagasaki R, Kurosawa K, Saitoh S. Combination of Miller-Dieker syndrome and VACTERL association causes extremely severe clinical presentation. Eur J Pediatr. 2013 Aug 11. [Epub ahead of print]

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 J, Furuya N, Ueno K, Ueda H, Masuno M, Kurosawa K. Pure duplication of 19p13.3. Am J Med Genet A. 2013;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.

Nagase H, Ishikawa H, Kurosawa K, Furuya N, Itani Y, Yamanaka M. Familial severe congenital diaphragmatic hernia: left herniation in one sibling and bilateral herniation in another. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2013;53(1):54-7.

2. 学会発表

升野光雄、黒澤健司、松井 潔、片岡 愛、田上幸治、大山牧子、柴崎 淳、相田典子、小河原昇、山本敦子、二宮伸介、山内泰子、黒木良和。メビウス症候群の診断基準と小児期健康管理指針の作成。日本人類遺伝学会第58回大会（2013年11月21日、仙台）

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年4月18日、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年4月19日、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年5月31日、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年6月22日、川崎）

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年11月22日、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年11月21日、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年11月23日、仙台）

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。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
黒澤健司.	ヒストン修飾酵素異常症.	中尾光善, 中島欽一.	遺伝子医学 MOOK 25号 エピジェネテ イクスと病気	メディカ ルドウ	大阪	2013	pp217- 222

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ishikawa A, Enomoto K, Tominaga M, Saito T, Nagai J, Furuya N, Ueno K, Ueda H, Masuno M, Kurosawa K.	Pure duplication of 19p13.3.	Am J Med Genet A	161(9)	2300-2304	2013
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	27(7)	975.e1-5	2013
Ueda H, Sugiura T, Takeshita S, Ito K, Kakita H, Nagasaki R, Kurosawa K, Saitoh S.	Combination of Miller- Dieker syndrome and VACTERL association causes extremely severe clinical presentation.	Eur J Pediatr	Epub ahead of print		2013
Kuroda Y, Ohashi I, Tominaga M, Saito T, Nagai JI, Ida K, Naruto T, Masuno M, Kurosawa K.	De novo duplication of 17p13.1-p13.2 in a patient with intellectual disability and obesity.	Am J Med Genet A	Epub ahead of print		2014
升野光雄.	Möbius 症候群.	別冊 日本臨床 神経症候群(第2 版) IV-その他 の神経疾患を含 めて-			印刷中

IV. 研究成果の刊行物・別刷