

図37. 自発行動量の低下

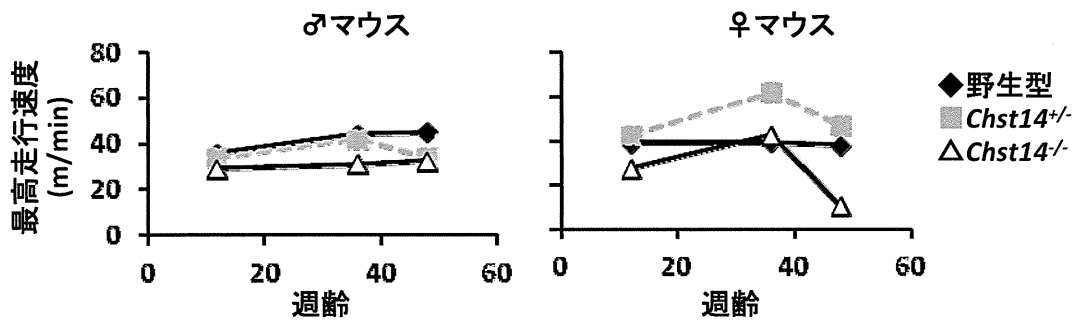


図38. 加齢に伴う最高走行速度の減少

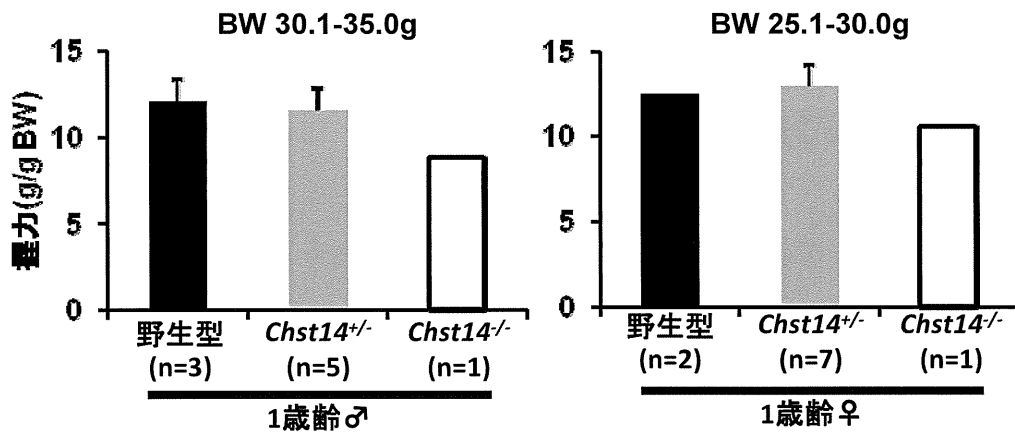


図39. 握力の低下

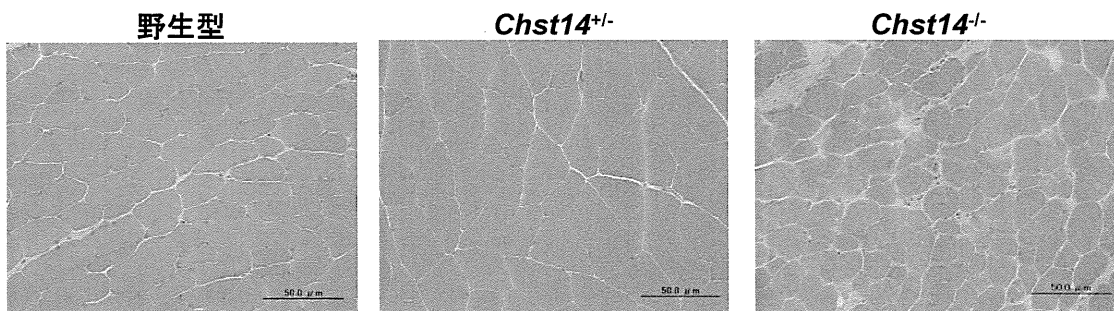


図40. HE染色による48週齢雌マウスの前脛骨筋の病理組織学的解析

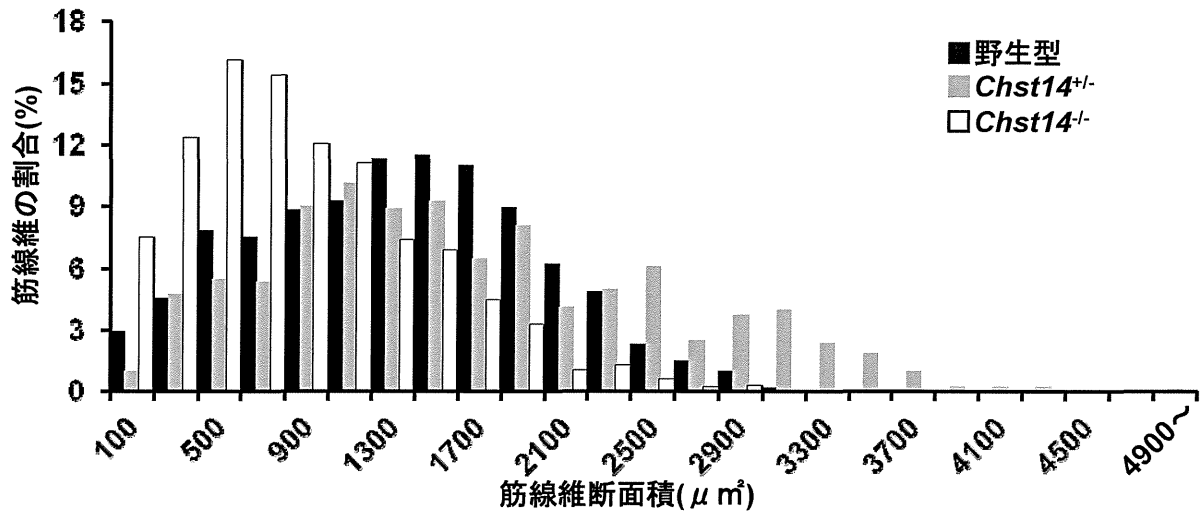


図41. 48週齢雌マウスの前脛骨筋筋線維断面積の割合

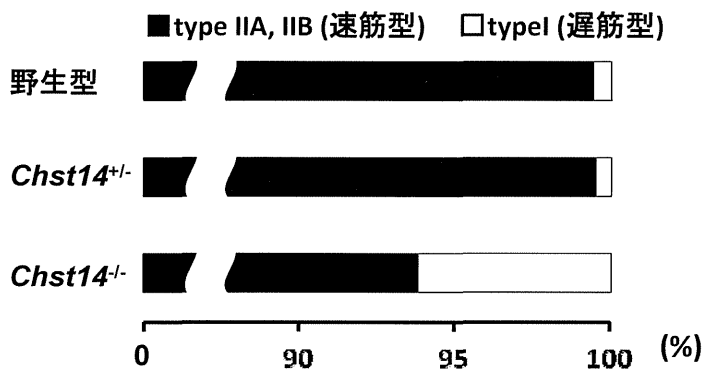


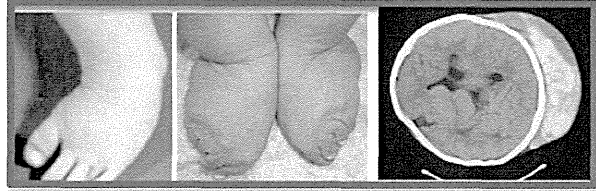
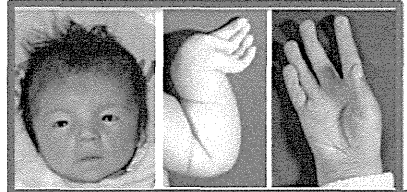
図42. 48週齢雌マウスの前脛骨筋遅筋型線維の全体に占める割合

別紙
(流れ図)

全国医療機関 (小児科 整形外科 内科) 皮膚科

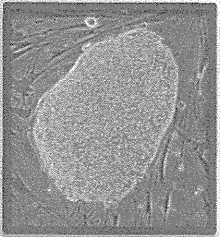
コンサルテーション&フィードバック

DD-EDSの臨床像
発生異常
特徴的顔貌
先天性多発関節拘縮
(内転母指、内反足)
内臓奇形
進行性結合組織脆弱性
皮膚弛緩・脆弱性
関節弛緩・易脱臼性
進行性の手・足・脊椎変形
巨大皮下血腫の反復
Kosho et al., AJMG 2005
Kosho et al., AJMG 2010
Shimizu et al., AJMG 2011
Kosho et al., Hum Mutat 2011



信州大学
遺伝子診療部
自然歴・診療指針の構築

組織発生学
iPS細胞解析



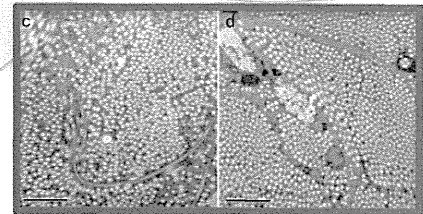
分子病理学

患者収集
細胞保存
臨床的検討

獨協
医科大学
皮膚科

病理学的検討

金城学院大学
生活環境学部
食環境栄養学科



東京農工大学
農学部硬蛋白質
利用研究施設
デコリン解析
細胞外マトリックス解析

糖鎖解析

北海道大学
大学院プロテオグリカン
シグナリング医療応用研究室
酵素活性・GAG分析

横浜市立大学
大学院医学研究科
遺伝学
CHST14遺伝子解析

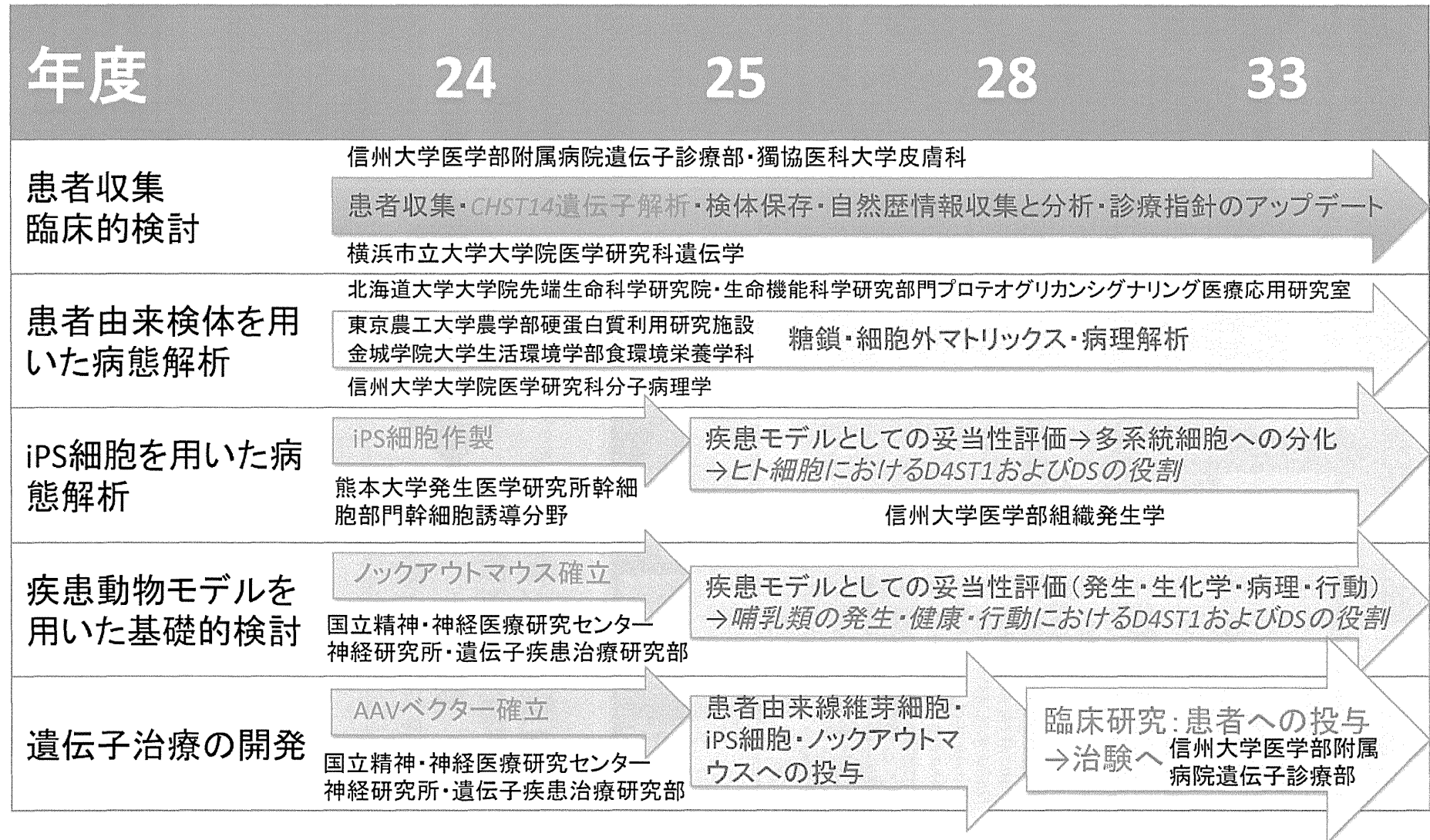
国立精神・神経
医療研究センター

遺伝子疾患治療研究部

AAV(アデノ随伴ウイルス) ベクターを用いた 遺伝子治療開発
モデルマウス 作製・維持・解析

DD-EDSの病態
CHST14遺伝子変異
D4ST1酵素活性消失
デコリンのGAG鎖がDS→CS
デコリンを介するコラーゲン
細線維のassembly不全
進行性結合組織脆弱性
Miyake et al., Hum Mutat 2010

デルマタン4-O-硫酸基転移酵素-1欠損に基づく エーラスダンロス症候群の病態解明と治療法の開発



疾患概要

| | |
|---------|--|
| 【疾患名】 | デルマトン4-O-硫酸基転移酵素-1欠損に基づくエーラスダンロス症候群の病態解明と治療法の開発 |
| 【患者数】 | 現在、国内で16家系18人が見出されている。海外の報告例は8家系17人。 |
| 【概要】 | デルマトン4-O-硫酸基転移酵素-1 (Dermatan 4-O-sulfotransferase-1; D4ST1) 欠損に基づき、進行性結合組織脆弱性(皮膚過伸展・脆弱性, 全身関節弛緩・慢性脱臼・変形, 巨大皮下血腫など)および発生異常(顔貌の特徴, 先天性多発関節拘縮など)を呈する常染色体劣性遺伝疾患。 |
| 【原因の解明】 | 進行性結合組織脆弱性については、以下の機序と考えられている 「CHST14遺伝子の機能喪失型変異→D4ST1の欠損→デコリンに付加するグリコサミノグリカン鎖の組成変化(正常ではデルマトン硫酸であるが、患者ではコンドロイチン硫酸に置換)→デコリンを介するコラーゲン細線維のassembly不全」 |
| 【主な症状】 | 頭蓋顔面の特徴として、乳幼児期、泉門開大、眼間開離、小眼瞼、眼裂斜下、青色強膜、鼻柱低形成を伴った短い鼻、耳介異形成、高口蓋、長い人中、薄い上嘴唇、小さい口/下顎低形成・後退などがあり、学童期以降、下顎が突出し面長で非対称となる。他に、平坦～漏斗胸を伴うマルファン症候群様の体型、過伸展性～弛緩性で易出血性、脆弱性(容易に離開し、萎縮性瘢痕を残す)を呈する皮膚などがある。 |
| 【主な合併症】 | 頭蓋顔面(口蓋裂)、骨格(先天性多発関節拘縮、慢性・反復性脱臼、脊椎変形、足部変形、若年性骨そしょう症)、心臓血管(心房中隔欠損など先天性心疾患、弁異常、反復性巨大皮下血腫)、消化器(難治性便秘、大腸憩室破裂)、呼吸器(血・気胸)、泌尿器(水腎症、腎・膀胱結石、膀胱拡張、停留精巣)、眼(斜視、屈折異常、緑内障、網膜剥離)、聴力低下、脳室拡大、筋緊張低下、運動発達遅滞など多系統で進行性の合併症を呈する。 |
| 【主な治療法】 | 新生児期、多発関節拘縮(特に内転母指と内反足)と顔貌上の特徴から疑い、CHST14遺伝子解析で診断する。乳幼児期、内反足に対する整形外科的治療(装具、手術)、運動発達遅滞に対する理学療法を行う。その後、整形外科、眼科、泌尿器科、循環器科検診を行う。皮膚裂傷、関節脱臼、巨大皮下血腫を生じやすいため、転倒などの外傷には細心の注意を払う。巨大皮下血腫の予防にはデスマプレッシン点鼻が有効。思春期以降、(血)気胸や憩室穿孔を発症すればその治療を行う。 |
| 【研究班】 | 「デルマトン4-O-硫酸基転移酵素-1欠損に基づくエーラスダンロス症候群の病態解明と治療法の開発」に関する研究班(DD-EDS班)」 |

留意事項

研究が採択された場合については、当該資料についてはホームページ等で公開する予定です。

Disease Summary

| | |
|-------------------------------|--|
| 【Name of the disease/symptom】 | Dermatan 4-O-sulfotransferase-1 (D4ST1)-deficient EDS (DD-EDS) |
| 【Number of Patients】 | 18 patients from 16 families have been identified in Japan. 17 patients from 8 families have been reported overseas. |
| 【Background】 | Dermatan 4-O-sulfotransferase-1 (D4ST1)-deficient EDS (DD-EDS) is an autosomal recessive disorder, characterized by developmental abnormalities and progressive connective tissue fragility-related complications. |
| 【Cause】 | Recessive loss-of-function mutations in CHST14 cause deficiency of D4ST1, resulting in loss of dermatan sulfate completely replaced by chondroitin sulfate in decorin glycosaminoglycan chains. Subsequent impairment of decorin-mediated assembly of collagen fibrils would cause progressive connective tissue fragility. |
| 【Major symptoms】 | Craniofacial features include large fontanel, hypertelorism, short and downslanting palpebral fissures, blue sclera, short nose with hypoplastic collumela, low-set and rotated ears, high palate, long philtrum, thin upper lip, small mouth, and micro-retrognathia in early infancy and slender and asymmetrical facial shape with protruding jaw from school age. Marfanoid habitus with flat or excavated chest. Hyperextensible, fragile, and bruisable skin. |
| 【Major complications】 | Craniofacial: cleft palate; skeletal: congenital multiple contractures, chronic and recurrent dislocation, spinal and foot deformity, juvenile osteopenia/osteoporosis; cardiovascular: congenital heart defects (atrial septal defect), valve abnormalities, aortic root dilation, recurrent massive subcutaneous hematoma; gastrointestinal: constipation, diverticula perforation; respiratory: pneumo/hemothorax; urogenital: hydronephrosis, nephro/cystolithiasis, dilated bladder, cryptorchidism; ocular: strabismus, refractive errors, glaucoma, retinal detachment; others: hearing impairment; ventricular enlargement; hypotonia/gross developmental delay. |
| 【Major treatments】 | DD-EDS can be detected at birth from characteristic craniofacial and skeletal features and molecular genetic testing gives definitive diagnosis. Initial screening for congenital cardiac, ocular, and renal abnormalities and hearing loss is necessary. In infancy, orthopedic intervention for talipes equinovarus and physical therapy for motor developmental delay is the center of management. Laxatives and/or enema are considered for constipation. Surgical fixation is considered for cryptorchidism. Regular checkup for ophthalmological, otological, urological, and cardiovascular problems should be continued. After walking independently, attentions should be paid to progressive foot deformities and traumas that could cause skin lacerations, joint dislocations, and massive subcutaneous hematomas. Intranasal DDAVP after injuries is considered to prevent large subcutaneous hematomas. From adolescence, assessment of spinal deformities and secondary sex characteristics is necessary. In adulthood, appropriate treatments should be performed on occasional emergency complications (pneumo/hemothorax, diverticular perforation). Wrist-type sphygmomanometer would be suitable for patients with hyperalgesia to pressure. |
| 【Contact information】 | “Research Consortium for DD-EDS in Japan” |

留意事項

国際展開も視野に入れた研究開発体制を推進するため、同内容を英語にて記載してください。
研究が採択された場合については、当該資料についてはホームページ等で公開する予定です。

平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業・研究奨励分野）

「デルマトン 4-O-硫酸基転移酵素-1 欠損に基づくエーラスダンロス症候群の
病態解明と治療法の開発」

（DDEDS 班）班会議

日時：平成 25 年 1 月 31 日（木）

準備会：午前 10:00～12:00 本会議：午後 1:00～4:00

会場：国立精神・神経医療研究センター神経研究所（遺伝子疾患治療研究部）

〒187-8502 東京都小平市小川東町 4-1-1 TEL: 042-341-2712（内線 2934、直通）

テーマ：D4ST1 欠損に基づくエーラスダンロス症候群の病態解析および遺伝子治療に関する研究
に関して、各種プロジェクトの進行状況の確認、今後の進め方について

本会議

プロジェクトの全体像と目標（古庄）

D4ST1 の働き、最近の糖鎖解析の研究成果（水本先生）

組織学的解析の基本（CB 染色法）、最近の研究成果（小林先生）

遺伝子解析状況（三宅先生）

iPS 細胞を用いた研究の成果（岳先生）

KO マウス作出状況と表現型解析の現状（坂先生）

AAV を用いた遺伝子治療の基本（岡田先生）＋研究の現状（坂先生）

総合討論（古庄）

出席予定

小林身哉先生（金城学院大学・生活環境学部・食環境栄養学科）

三宅紀子先生（横浜市立大学大学院医学研究科・遺伝学）

水本秀二先生（北海道大学大学院先端生命科学研究所・生命機能科学研究部門・プロテオグリカン医療応用研究室）

岳鳳鳴先生（信州大学医学部・組織発生学講座）

武田伸一先生、岡田尚巳先生、笠原優子先生、坂翔太先生（国立精神・神経医療研究センター神経研究所・遺伝子疾患治療研究部）

野村義宏先生、積田奈々さん（東京農工大学農学部附属硬蛋白質利用研究施設皮革研究部門）

古庄知己（信州大学医学部附属病院遺伝子診療部・講師）

平成 25 年 1 月 10 日

研究代表者：古庄知己

平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業・研究奨励分野）

「デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 欠損に基づくエーラスダンロス症候群の
病態解明と治療法の開発」

（DDEDS 班）班会議

日時：平成 26 年 1 月 23 日（木）

準備会：午前 10:00～12:00 本会議：午後 1:00～4:00

会場：国立精神・神経医療研究センター神経研究所 研究所本館 1 階 第 2 会議室

〒187-8502 東京都小平市小川東町 4-1-1

TEL: 042-341-2711 もしくは 042-341-2712（内線 5221, 5224）（遺伝子疾患治療研究部）

テーマ：D4ST1 欠損に基づくエーラスダンロス症候群の病態解析および遺伝子治療に関する研究
に関して、各種プロジェクトの進行状況の確認、今後の進め方について

本会議

プロジェクトの全体像（古庄）

KO マウス作出状況と表現型解析の現状（坂さん、積田さん）

AAV を用いた遺伝子治療研究の現状（坂さん、積田さん）

遺伝子解析の現状（三宅先生、古庄[代]）

組織学的解析の研究成果（小林先生、古庄[代]）

糖鎖解析の研究成果（水本先生）

iPS 細胞を用いた研究の成果（岳先生）

総合討論（古庄）

出席予定

水本秀二先生（名城大学・薬学部・病態生化学）

岳鳳鳴先生（信州大学医学部・組織発生学講座）

武田伸一先生、岡田尚巳先生、笠原優子先生（国立精神・神経医療研究センター神経研究所・遺
伝子疾患治療研究部）

野村義宏先生、坂翔太さん、積田奈々さん（東京農工大学農学部付属硬蛋白質利用研究施設皮革
研究部門）

古庄知己、石川真澄（信州大学医学部附属病院遺伝子診療部）

平成 25 年 12 月 19 日

研究代表者：古庄知己

デルマタン4-O-硫酸基転移酵素 (D4ST-1)欠損による 新型Ehlers-Danlos症候群 の発見と疾患概念の確立

信州大学医学部附属病院遺伝子診療部
古庄知己

第36回日本カウンセリング遺伝学会

2012/6/10 於:信州大学医学部附属病院

Ehlers-Danlos症候群(EDS)とは

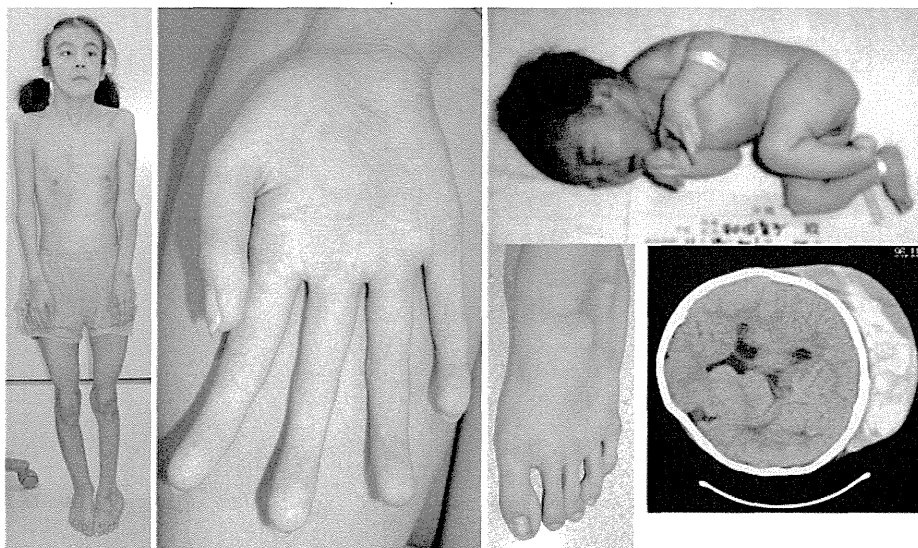
- 皮膚、関節、血管など結合組織の脆弱性に基づく遺伝性疾患 1/5,000人 6つの主病型、5~の新しい病型

| | 頻度 | 遺伝形式 | 原因遺伝子 |
|--------------------------------|------------------|------|-----------------------------|
| 古典型 Classical type | 1/20,000 | AD | <i>COL5A1, COL5A2</i> |
| 関節型 Hypermobility type | 1/5,000-20,000 | AD | 大多数では不明 少数例で <i>TNXB</i> |
| 血管型 Vascular type | 1/50,000-250,000 | AD | <i>COL3A1</i> |
| 後側彎型 Kyphoscoliosis type | 1/100,000 | AR | <i>PLOD</i> |
| 多発関節弛緩型 Arthrochalasia type | 約30例 | AR | <i>COL1A1, COL1A2</i> |
| 皮膚弛緩型 Dermatosparaxis type | 8例 | AR | <i>ADAMTS-2</i> |

2000年 1人目の患者さん(EDSKT1) との出会い

- 埼玉県立小児医療センター 勤務時
 - 両親他人婚
 - どの病型にも当てはまらない特異な症状を持つEDS
 - 先天性多発関節拘縮(手指、内反足)、特異顔貌、進行性の皮膚弛緩・脆弱性および関節弛緩(易脱臼性)・変形(手足、後側彎)、反復性巨大皮下血腫、運動発達遅滞
 - III型コラーゲン生化学分析で異常なし
 - 旗持淳先生(千葉大学皮膚科 現獨協医科大学皮膚科)
- その後
 - 後側彎の進行、急性胃潰瘍

EDSKT1

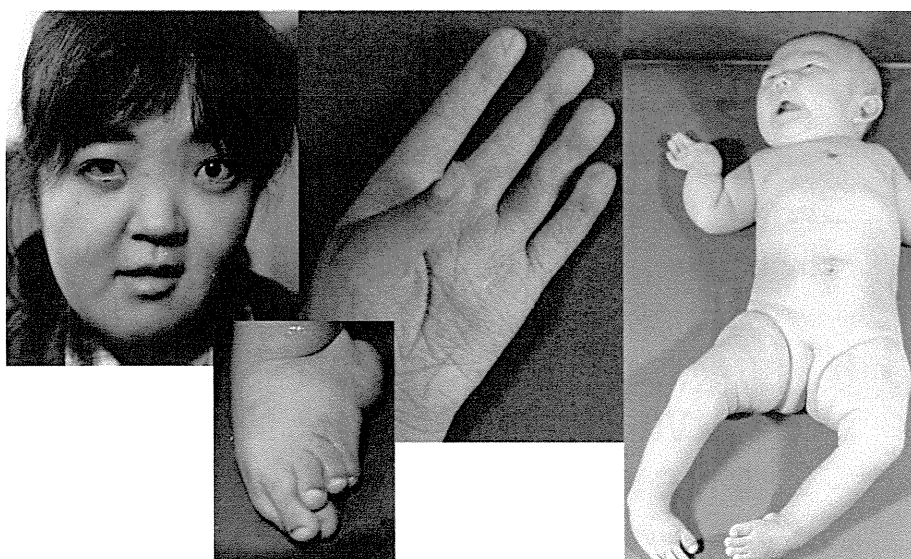


(Kosho et al., Am J Med Genet Part A 138: 282-287, 2005)

2004年 2人目の患者さん(EDSKT2) との出会い

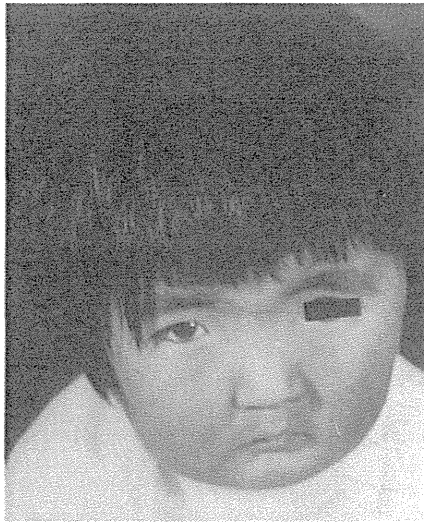
- 2003年 信大病院に赴任
 - 「奇形症候群アトラスに出ていた児に似た患者さんが外勤先の療育センターにいた(福嶋義光先生)」
 - 両親血族婚
 - EDSKT1の酷似した症状、経過
 - その後、側彎の進行、大腸憩室破裂、緑内障、気胸

EDSKT2



(Kosho et al., Am J Med Genet Part A 138: 282-287, 2005)

奇形症候群アトラスの患者さん

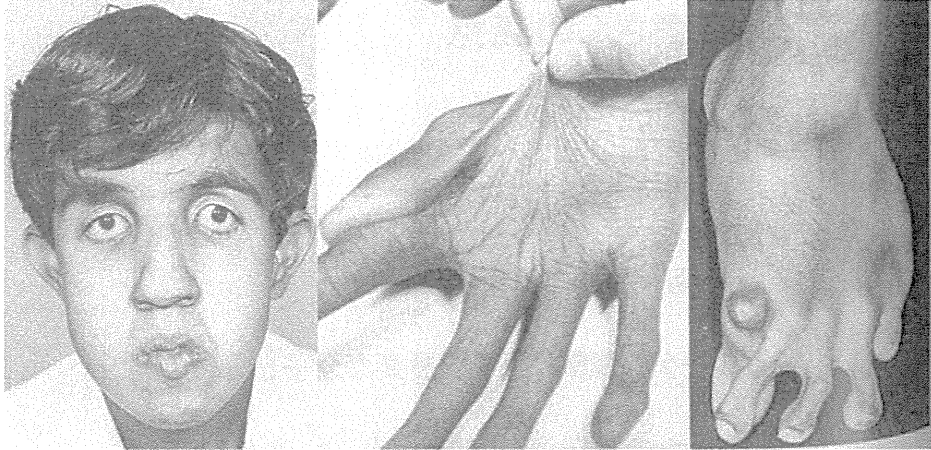


「血管型」と分類

新型EDSと確信

- 論文化を考える
- 大病型では後側彎型(VI型)が最も近そう
 - EDSKT1に対して尿スクリーニング(lysyl hydroxylase活性を間接的に調べる) → 異常なし
- 後側彎型に似ているが、lysyl hydroxylase活性が正常なVIB型に暫定的に分類
 - VIB型に分類されているパキスタン姉弟例と酷似
 - Steinmann et al., *Helv Paediat Acta* 30: 255-274, 1975

パキスタン人姉妹例 両親血族婚



(Steinmann et al., *Helv Paediat Acta* 30: 255-274, 1975)

2005年 Am J Med Genet誌に報告

American Journal of Medical Genetics 138A:282-287 (2005)

Clinical Report

Ehlers-Danlos Syndrome Type VIB With Characteristic Facies, Decreased Curvatures of the Spinal Column, and Joint Contractures in Two Unrelated Girls

Tomoki Kosho,^{1*} Jun Takahashi,² Hirofumi Ohashi,³ Gen Nishimura,⁴ Hiroyuki Kato,²
and Yoshimitsu Fukushima¹

¹Department of Medical Genetics, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Japan

²Department of Orthopedics, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Japan

³Division of Medical Genetics, Saitama Children's Medical Center, Saitama, Japan

⁴Department of Radiology, Tokyo Metropolitan Kiyose Children's Hospital, Kiyose, Japan

- 新規疾患(新たなEDS病型)の可能性
- おそらくAR

新規疾患であることを示すために

- 新しい患者さんの発見
- 病態の解明
 - 候補遺伝子アプローチ
 - 進行性の全身結合組織脆弱性
 - ARの可能性
 - コラーゲン修飾に関する重要な分子(酵素)と推定
 - いくつかの遺伝子の変異解析 → 発見に至らず

2007年 3人目の患者さん(EDSKT3) との出会い

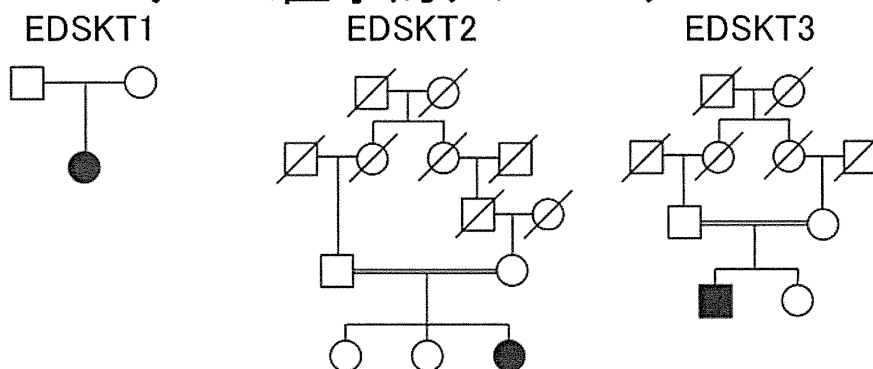
- 2007/7、EDS患者会(JEFA)の創設
- ある会員さんから「自分の症状は他のどの会員とも違うので調べてほしい」と相談あり
- お会いする機会があり、「新型」と確信
- 両親血族婚
- EDSKT1、EDSKT2に酷似した症状、経過
- その後、小腸憩室破裂、緑内障、気胸

EDSKT3



(Kosho et al., Am J Med Genet Part A 152: 1333-1346, 2010)

血族婚2家系(EDSKT2、EDSKT3) ゲノム医学的アプローチへ



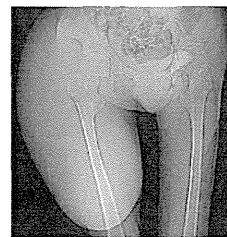
- 松本直通先生、三宅紀子先生(横浜市立大学人類遺伝学)との共同研究
– *Homozygosity mapping*による遺伝子単離へ

2008年秋 遺伝子単離

- SNP 10Kアレイ(Affymetrix社)を用いた homozygosity mapping
 - 責任領域は15q15の8.2Mb (Lod score 2.885)
- 近傍のマイクロサテライトマーカーを用いたハプロタイプ解析
 - 責任領域を7.3Mbまで限局
- 責任領域に局在する109遺伝子
- 機能的に関連性が疑われる7遺伝子の変異解析
- 原因遺伝子 *CHST14*
 - デルマタン4-O-硫酸基転移酵素-1 (dermatan 4-O-sulfotransferase-1; D4ST-1) をコード

4-6人目の患者さんとの出会い

- EDSKT4: 32歳男性
 - 札幌医科大学内科石田禎夫先生、安井寛先生より
 - 「論文報告例 (Yasui et al., *Am J Hematology* 72: 71-72, 2003) の遺伝子解析は可能か？」
- EDSKT5: 19歳女性
 - 獨協医科大学皮膚科籙持淳先生より
 - 病理所見の相談にうかがった際に偶然待合に
- EDSKT6: 4歳女兒
 - 獨協医科大学皮膚科籙持淳先生より
 - 「新型EDS疑い児が受診、次回の患者会に行くので相談にのってみて」

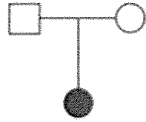


(Kosho et al., *Am J Med Genet Part A* 152: 1333-1346, 2010)

CHST14変異

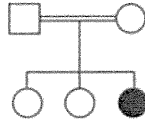
EDSKT1

c.842C>T (p.P281L)
c.878A>G (p.Y293C)



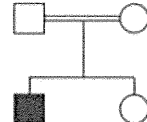
EDSKT2

c.842C>T (p.P281L)
(homozygous)



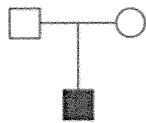
EDSKT3

c.842C>T (p.P281L)
(homozygous)



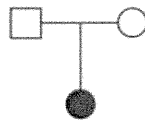
EDSKT4

c.205A>T (p.K69X)
c.842C>T (p.P281L)



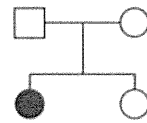
EDSKT5

c.842C>T (p.P281L)
c.866G>C (p.C289S)



EDSKT6

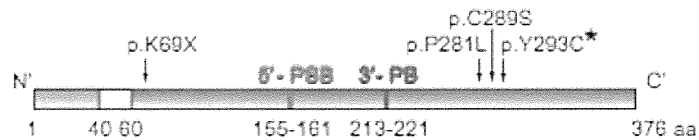
c.842C>T (p.P281L)
c.878A>G (p.Y293C)



(Miyake et al., Hum Mutat 31: 966-974, 2010)

CHST14変異

- ミスセンス3、ナンセンス1
- P281Lは全員に、Y293Cは2人に認められた
- 種をこえて高度に保存されたアミノ酸

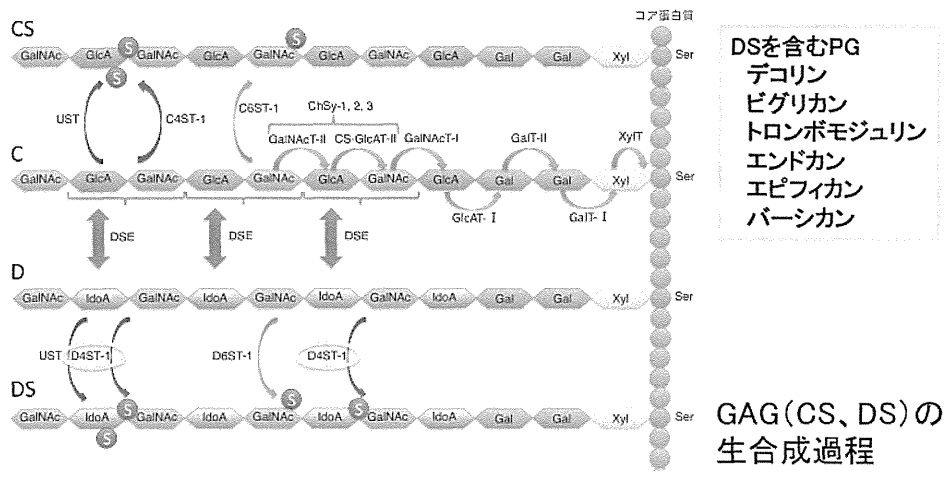


| | K69X | P281L | C289S | Y293C |
|--------------------------|-----------|------------------------|-------|-------|
| <i>Homo sapiens</i> | LAEMKPLPL | EHWMPVYHLCQPCAVHYDFVGS | | |
| <i>Bos taurus</i> | LAEMKPLPL | EHWMPVYHLCQPCAVRYDFVGS | | |
| <i>Mus musculus</i> | LSEMKPLPL | EHWMPVYHLCQPCAVHYDFVGS | | |
| <i>Rattus norvegicus</i> | LSEMKPLPL | EHWMPVYHLCQPCAVHYDFVGS | | |
| <i>Danio rerio</i> | LNSVQTPPP | EHWMPVYHLCQPCAIEYDFVGS | | |

(Miyake et al., Hum Mutat 31: 966-974, 2010)

D4ST-1

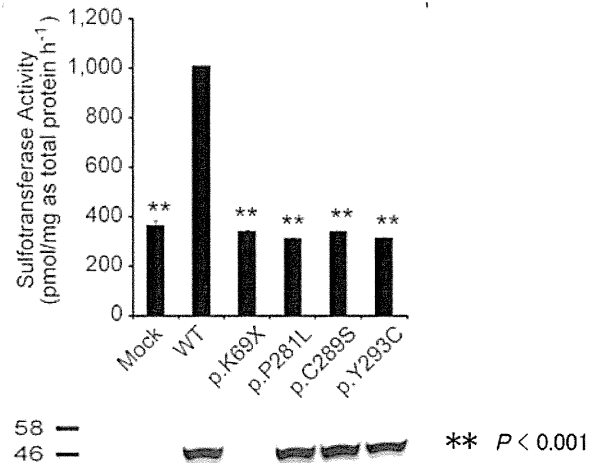
- プロテオグリカン(PG)側鎖であるグリコサミノグリカン(GAG)を構成するデルマタン硫酸(DS)のNアセチルガラクトサミン残基の4位に硫酸基を付加



機能解析

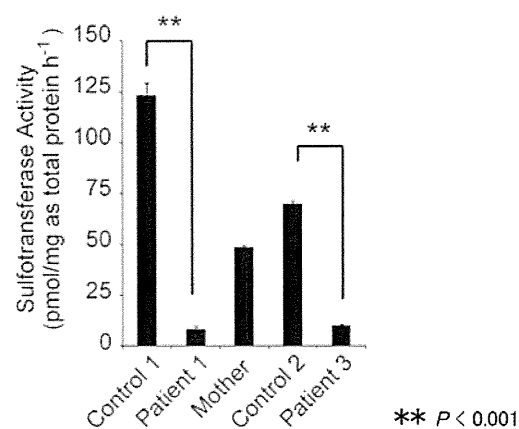
- D4ST-1のクローニング
 - Baenziger教授 (Washington大学病理学)
 - Evers et al. Molecular cloning and characterization of a dermatan-specific N-acetylgalactosamine 4-O-sulfotransferase. J Biol Chem 276: 36344-36353, 2001*
 - 菅原一幸教授、山田修平准教授、水本修平博士 (北海道大学大学院先端生命科学研究所プロテオグリカンシグナリング医療応用研究室、当時は神戸薬科大学)
 - Mikami et al. Specificities of three distinct human chondroitin/dermatan N-acetylgalactosamine 4-O-sulfotransferases demonstrated using partially desulfated dermatan sulfate as an acceptor: implication of differential roles in dermatan sulfate biosynthesis. J Biol Chem 278: 36115-36127, 2003.*
- 菅原研との共同研究へ
 - 患者由来皮膚線維芽細胞を使用

組換え型D4ST-1 (野生型 & 変異型)の硫酸基転移活性とその発現 (COS-7細胞)



(Miyake et al., Hum Mutat 31: 966-974, 2010)

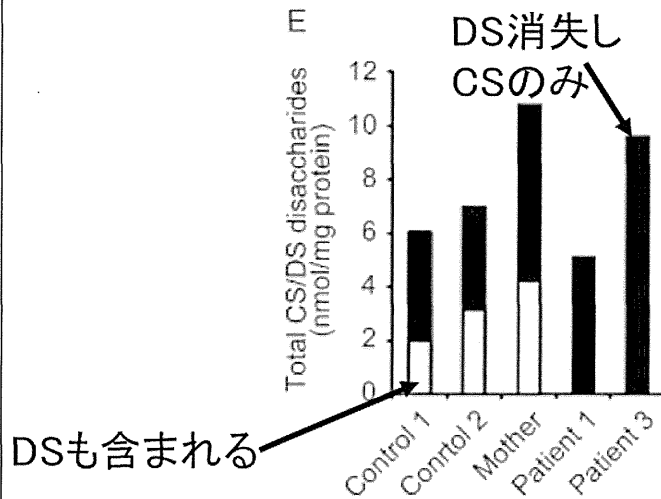
患者皮膚由来線維芽細胞の硫酸基転移活性



EDSKT1, P281L/Y293C
EDSKT3, P281L (homo)

(Miyake et al., Hum Mutat 31: 966-974, 2010)

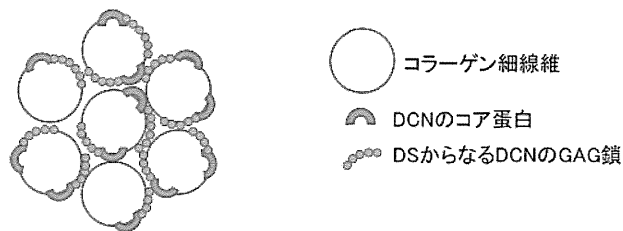
患者皮膚由来線維芽細胞の コンドロイチン硫酸およびデルマトン硫酸の総量



(Miyake et al., Hum Mutat 31: 966-974, 2010)

DS-PGのなかでも デコリン(DCN)に注目

- GAG鎖はほぼDSのみからなる
- コラーゲン細線維をassemblyする働き
- DS代謝異常とEDSとのリンクになる可能性



(Miyake et al., Hum Mutat 31: 966-974, 2010)

(古庄.信州医学誌 59: 305-319, 2011)