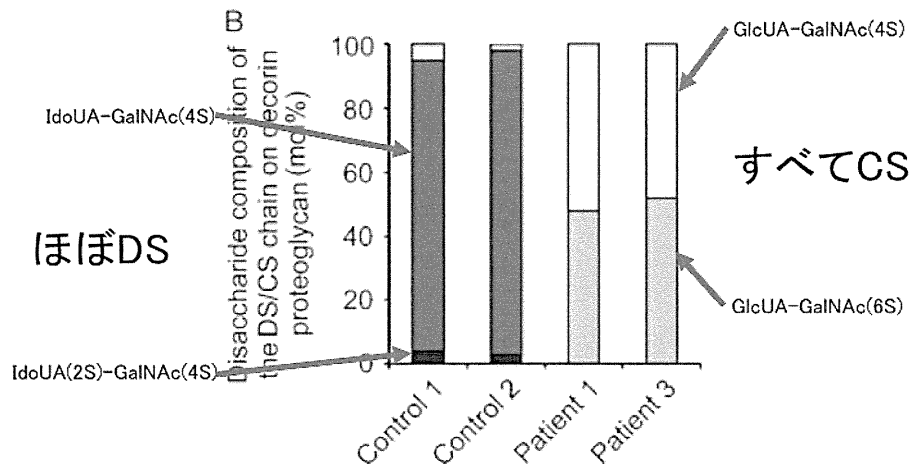
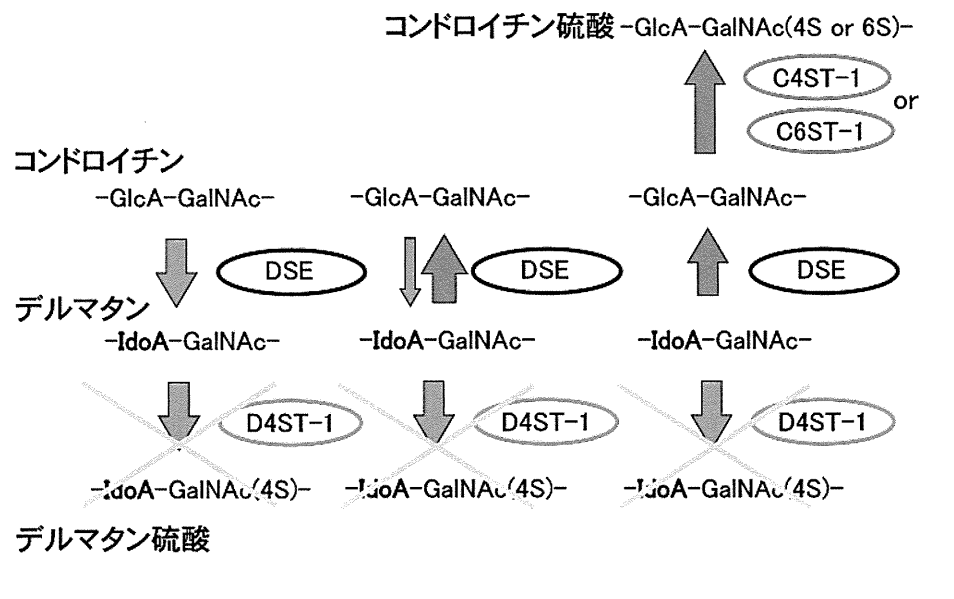


患者皮膚由来線維芽細胞のデコリン付加
コンドロイチン硫酸およびデルマトン硫酸の総量
(CS) (DS)



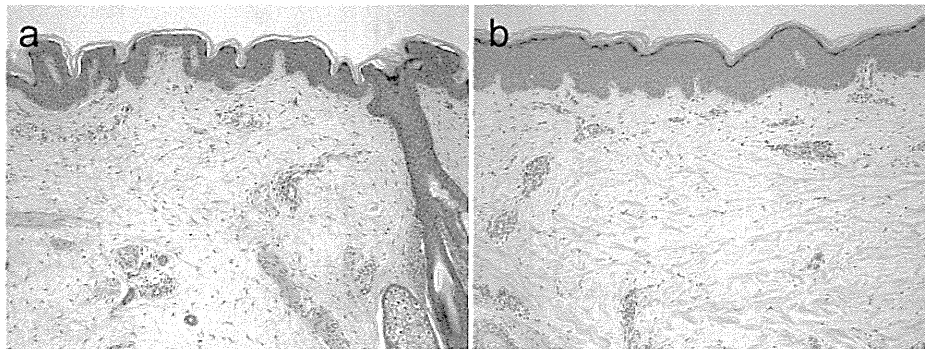
(Miyake et al., Hum Mutat 31: 966-974, 2010)

想定される生化学的異常



病理学的検討(LM)

- 表皮が薄い
- 真皮上層のコラーゲン線維束が繊細



EDSKT5

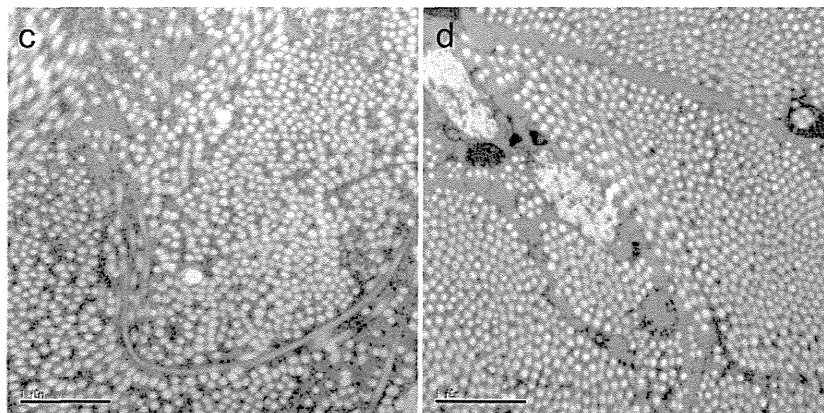
Control

LM x100

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

病理学的検討(EM)

- コラーゲン細線維が束ねられていない



EDSKT5

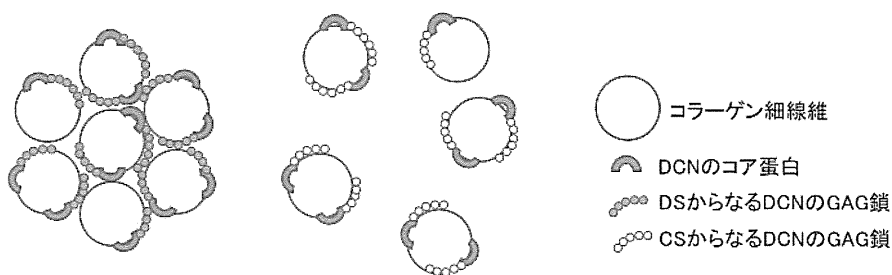
Control

EM x30k

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

病態のまとめ 進行性の皮膚脆弱性について

- GAG鎖: 正常ではほぼDS→EDSKTでは全てCSに置換
- コラーゲン細線維のassembly不全
- DS代謝異常→EDS



正常

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

(古庄.信州医学誌 59: 305-319, 2011)

2009/12/11 AJHG電子配信

ARTICLE

Loss of Dermatan-4-Sulfotransferase 1 Function Results in Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome

Munis Dünder,^{1,9} Thomas Müller,^{2,9} Qi Zhang,³ Jing Pan,³ Beat Steinmann,⁴ Julia Vodopiutz,⁵
Robert Gruber,⁶ Tohru Sonoda,⁷ Birgit Krabichler,⁸ Gerd Utemann,⁸ Jacques U. Baenziger,³
Lijuan Zhang,³ and Andreas R. Janecke^{2,8,*}

- D4ST-1の欠損により、まれな先天性多発関節拘縮症 (arthrogryposis syndrome) である **Adducted thumb-clubfoot syndrome (ATCS)** が引き起こされる (*Am J Hum Genet* 85: 873-882, 2009)
 - 臨床的検討: Dünder教授 (トルコErciyes大学遺伝学)
 - 遺伝子解析: Janecke教授 (オーストリアInnsbruck医科大学小児科)
 - 糖鎖解析: Baenziger教授 (米国Washington大学病理学)

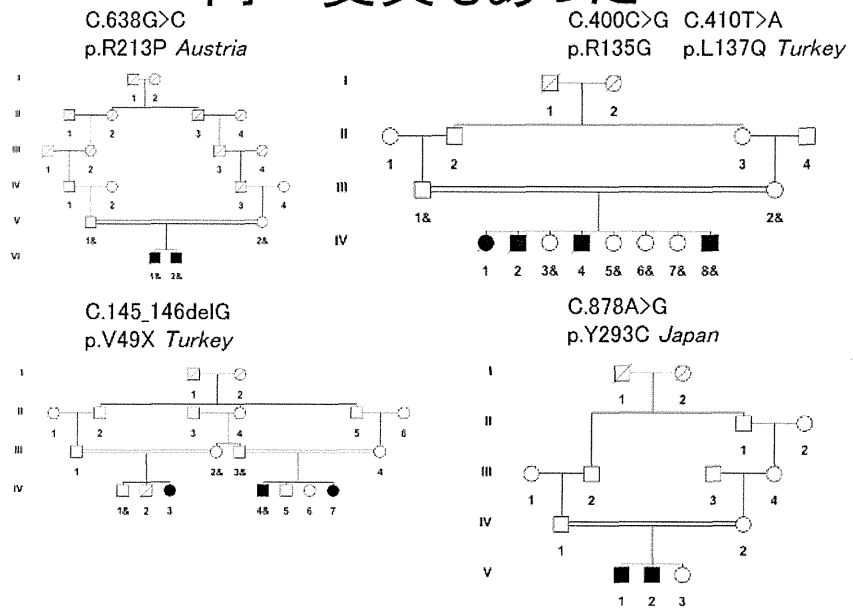
ATCS

arthrogryposis → connective tissue disease



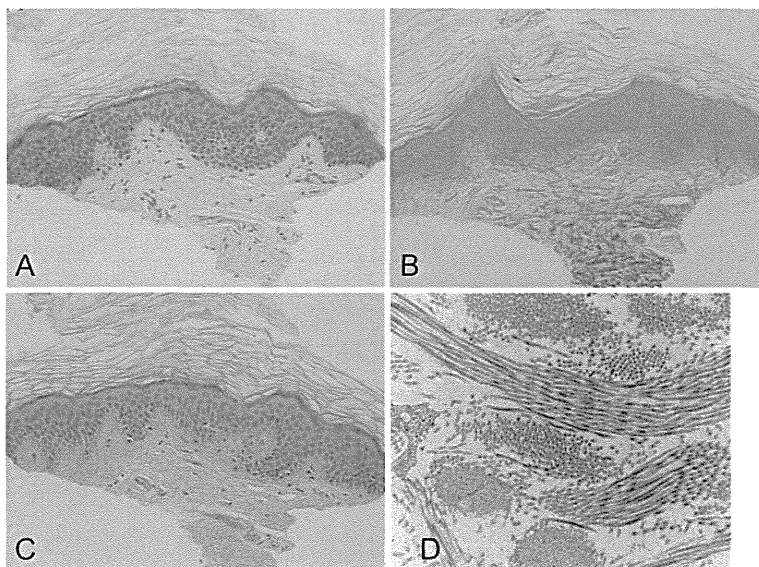
(Sonoda and Kouno., *Am J Med Genet* 91: 280-285, 2000)
 (Dündar et al., *Am J Hum Genet* 85: 873-882, 2009)

同一変異もあった



(Dündar et al., *Am J Hum Genet* 85: 873-882, 2009)

病理所見は正常との解釈




(Dündar et al., Am J Hum Genet 85: 873-882, 2009)

EDSKTとATCSは 同一疾患、観察・報告年齢の違い？ 同一遺伝子の変異による別疾患？

- 症状には共通点が多い、同じ変異もあった
- ATCSでは、より重症例が多い
- ATCSの皮膚病理所見は「正常」との解釈
- ATCSでは幼少期の臨床情報が中心、EDSKTでは小児期以降の情報が多く、疾患概念の構築には不十分


EDSKTの発表

- 現時点では、同一疾患とは判定できないという立場で、詳細な臨床像と病態解明を分けて報告

RAPID PUBLICATION	AMERICAN JOURNAL OF medical genetics	2010/4/14 accept 2010/5/14 online
<p>A New Ehlers–Danlos Syndrome With Craniofacial Characteristics, Multiple Congenital Contractures, Progressive Joint and Skin Laxity, and Multisystem Fragility-Related Manifestations</p> <p>Tomoki Koshi,^{1,4} Noriko Miyake,² Atsushi Hatamochi,³ Jun Takahashi,⁴ Hiroyuki Kato,⁴ Teruyoshi Miyahara,⁵ Yasuhiko Igawa,⁶ Hiroshi Yasui,⁷ Tadao Ishida,⁷ Kurahito Ono,⁸ Takashi Kosuda,⁹ Akihiko Inoue,¹⁰ Mohel Kohyama,¹¹ Tadashi Hattori,¹² Hirofumi Ohashi,¹³ Gen Nishimura,¹⁴ Rie Kawamura,¹ Keiko Wakui,¹ Yoshimitsu Fukushima,¹ and Naomichi Matsumoto²</p>		
2010/5/25 accept 2010/6/8 online		
RESEARCH ARTICLE		
Human Mutation		
<p>Loss-of-Function Mutations of <i>CHST14</i> in a New Type of Ehlers-Danlos Syndrome</p> <p>Noriko Miyake,^{1,†} Tomoki Koshi,^{2,†} Shuji Mizumoto,^{3,†} Tatsuya Furuichi,⁴ Atsushi Hatamochi,⁵ Yoji Nagashima,⁶ Eiichi Arai,⁷ Kazuo Takahashi,⁸ Rie Kawamura,⁹ Keiko Wakui,² Jun Takahashi,³ Hiroyuki Kato,⁹ Hiroshi Yasui,¹⁰ Tadao Ishida,¹⁰ Hirofumi Ohashi,¹¹ Gen Nishimura,¹² Masaaki Shima,¹³ Hirotomo Saitou,¹ Yoshinori Tsurusaki,¹ Hiroshi Doi,¹ Yoshimitsu Fukushima,² Shiro Ikegawa,⁴ Shuhei Yamada,³ Kazuyuki Sugahara,³ and Naomichi Matsumoto^{1,†}</p>		
		

EDSKTの発表

- 同一疾患とは判定できないという立場で、詳細な臨床像と病態解明を分けて報告

RAPID PUBLICATION	AMERICAN JOURNAL OF medical genetics	
<p>A New Ehlers–Danlos Syndrome With Craniofacial Characteristics, Multiple Congenital Contractures, Progressive Joint and Skin Laxity, and Multisystem Fragility-Related Manifestations</p> <p>Tomoki Koshi,^{1,4} Noriko Miyake,² Atsushi Hatamochi,³ Jun Takahashi,⁴ Hiroyuki Kato,⁴ Teruyoshi Miyahara,⁵ Yasuhiko Igawa,⁶ Hiroshi Yasui,⁷ Tadao Ishida,⁷ Kurahito Ono,⁸ Takashi Kosuda,⁹ Akihiko Inoue,¹⁰ Mohel Kohyama,¹¹ Tadashi Hattori,¹² Hirofumi Ohashi,¹³ Gen Nishimura,¹⁴ Rie Kawamura,¹ Keiko Wakui,¹ Yoshimitsu Fukushima,¹ and Naomichi Matsumoto²</p>		
2010/5/25 accept 2010/6/8 online		
RESEARCH ARTICLE		
Human Mutation		
<p>Loss-of-Function Mutations of <i>CHST14</i> in a New Type of Ehlers-Danlos Syndrome</p> <p>Noriko Miyake,^{1,†} Tomoki Koshi,^{2,†} Shuji Mizumoto,^{3,†} Tatsuya Furuichi,⁴ Atsushi Hatamochi,⁵ Yoji Nagashima,⁶ Eiichi Arai,⁷ Kazuo Takahashi,⁸ Rie Kawamura,⁹ Keiko Wakui,² Jun Takahashi,³ Hiroyuki Kato,⁹ Hiroshi Yasui,¹⁰ Tadao Ishida,¹⁰ Hirofumi Ohashi,¹¹ Gen Nishimura,¹² Masaaki Shima,¹³ Hirotomo Saitou,¹ Yoshinori Tsurusaki,¹ Hiroshi Doi,¹ Yoshimitsu Fukushima,² Shiro Ikegawa,⁴ Shuhei Yamada,³ Kazuyuki Sugahara,³ and Naomichi Matsumoto^{1,†}</p>		
		

Databaseへの登録
“Ehlers–Danlos Syndrome, Koshi Type”

POSSUM
London Dysmorphology Database

Congenital Disorders of Glycosylation with Emphasis on loss of Dermatan-4-Sulfotransferase

Lijuan Zhang*, Thomas Müller†, Jacques U. Baenziger‡ and Andreas R. Janicke†

†† Department of Pediatrics II, Innsbruck Medical University, Anichstrasse 35, Innsbruck, Austria

‡ Department of Pathology, Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri, USA

*Department of Pathology and Immunology, Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri, USA

- ATCS発見者による総説
- ATCSは、DS生合成経路において初めて発見された欠損症
- ATCSは、ヒト発生や結合組織維持におけるDSの役割を示す最初のヒト疾患モデルである

– *Prog Mol Biol Transl Sci* 93: 289–307, 2010

• 2010/8/31 online

Musculocontractural EDS (MCEDS)

RAPID COMMUNICATION

Human Mutation



Musculocontractural Ehlers-Danlos Syndrome (Former EDS Type VIB) and Adducted Thumb Clubfoot Syndrome (ATCS) Represent a Single Clinical Entity Caused by Mutations in the Dermatan-4-sulfotransferase 1 Encoding *CHST14* Gene

Fransiska Malfait,^{1*} Delfien Syx,¹ Filip Vasmataz,¹ Sofie Symoens,¹ Sheela Nampoothiri,² Trinh Hermanns-Lê,³ Lut Van Laer,¹ and Anne De Paepe¹

¹Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, De Pintelaan 185, B-9000 Ghent, Belgium; ²Anrita Institute of Medical Sciences and Research Center, Cochin, Kerala, India; ³Department of Dermatopathology, University Hospital of Sart Tilman, Liège, Belgium

- EDSVIBと分類されていた2家系3患者 2010/8/20 accept
2010/9/14 online
- 独自に原因遺伝子*CHST14*を単離
- ATCSとは同一疾患と位置づけ、
MCEDSと命名 V49X homo
E334GfsX107homo

Musculocontractural EDS (MCEDS)

RAPID COMMUNICATION

Human Mutation

Musculocontractural Ehlers-Danlos Syndrome (Former EDS Type VIB) and Adducted Thumb Clubfoot Syndrome (ATCS) Represent a Single Clinical Entity Caused by Mutations in the Dermatan-4-sulfotransferase 1 Encoding *CHST14* Gene



Fransiska Malfait,^{1*} Delfien Syx,¹ Philip Vlummens,¹ Sofie Symoens,¹ Sheela Nampoothiri,² Trinh Hermanns-Lé,³ Lut Van Laer,¹ and Anne De Paepe¹

¹Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, De Pintelaan 185, B-9000 Ghent, Belgium; ²Anrita Institute of Medical Sciences and Research Center, Cochin, Kerala, India; ³Department of Dermatopathology, University Hospital of Sart-Tilman, Liège, Belgium

- EDSVIBと分
- 独自に原因
- ATCSとは同
- MCEDSと命

OMIM#601776 “Ehlers-Danlos Syndrome, Musculocontractural Type”

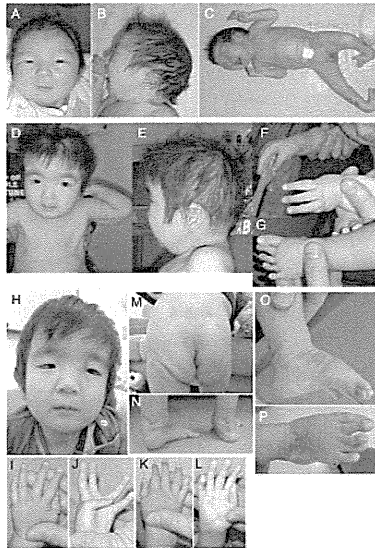
Nosology and Classification of Genetic Skeletal Disorders: 2010 Revision “Ehlers-Danlos Syndrome, CHST14-type (Musculo-skeletal variant)” (Warman et al., Am J Med Genet Part A 155: 943-968, 2011)

臨床研究の次の一手

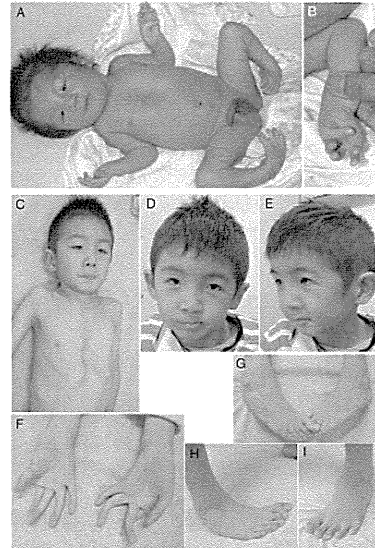
- 疾患をよく知っている者が主導権を握るべき
 - できるだけ早く新たな症例報告を
 - 既報告全例の詳細なreviewを
- 確立すべき臨床的事項
 - ATCS(11人;0-6歳)/EDSKT(6人;2-32歳)/MCEDS(3人;12-22歳)は同一疾患
 - EDSに分類するのが妥当
 - これらに基づいた適切な命名
- 突破口となるエビデンス
 - ATCSの縦断的な観察記録
 - EDSKTの幼少期からの観察記録

新しい患者さん(幼少児)

EDSKT7



EDSKT8



(Shimizu et al., Am J Med Genet Part A 155: 1949–1958, 2011)

RESEARCH ARTICLE

AMERICAN JOURNAL OF
medical genetics

Delineation of Dermatan 4-O-sulfotransferase 1
Deficient Ehlers–Danlos Syndrome: Observation of
Two Additional Patients and Comprehensive Review of
20 Reported Patients

Kenji Shimizu,¹ Nobuhiko Okamoto,² Noriko Miyake,³ Katsuaki Taira,⁴ Yumiko Sato,⁵ Keiko Matsuda,²
Noriko Akimaru,² Hirofumi Ohashi,¹ Keiko Wakui,⁶ Yoshimitsu Fukushima,⁶ Naomichi Matsumoto,³
and Tomoki Kosho^{6*}

2011/1/20 submit

2011/4/21 accept

2011/7/8 online

- 2歳男児 P281L/Y293C
 - 埼玉県立小児医療センター—遺伝科清水健司先生
- 6歳男児 F209S/P281L
 - 大阪府立母子保健総合医療センター—遺伝診療科岡本伸彦部長
- 既報告例の詳細かつ包括的なまとめ
 - ATCS/EDSKT/MCEDsは同一疾患でEDSのカテゴリー
 - “D4ST-1 deficient EDS (DD-EDS)”と命名してはどうか

Loss of Dermatan-4-sulfotransferase 1 (D4ST1/CHST14) Function Represents the First Dermatan Sulfate Biosynthesis Defect, "Dermatan Sulfate-Deficient Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome"

development, keeping in mind that congenital foot malformations sometimes cause motor delay [Dundar et al., 2009]. ATCS resembles, but is distinct from other entities with a known molecular basis; that is, both the progeroid and vascular types of Ehlers-Danlos syndrome (EDS; MIM#s 130070, 130050), the Loey-Dietz syndrome (LDS; MIM# 609192), collagen VI-related muscle disorders (Bethlem myopathy; MIM# 158810), and autosomal recessive cutis laxa type II, a type II N-glycosylation defect (ARCL2; MIM# 219200). We found that a wide spectrum of

2011/1/25 online

- ATCS発見者らによる反論
 – Janecke AR, Baenziger JU, Müller T, Dünder M. *Hum Mutat* 32: 484–485, 2011
- 関節弛緩/皮膚弛緩を有するからといってEDSとはいえない
- D4ST-1欠損症は通常のEDSでは見られない症状も持つため、EDSとの診断名は臨床医にも患者にも混乱(confusion)をまねく
- D4ST-1欠損症はEDSとは異なる分子遺伝学的基盤を持つ
- Congenital disorder of glycosylationとして“Dermatan Sulfate-deficient Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome”を提唱

DD-EDS

A Response to: Loss of Dermatan-4-sulfotransferase 1 (D4ST1/CHST14) Function Represents the First Dermatan Sulfate Biosynthesis Defect, "Dermatan Sulfate-Deficient Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome". Which Name is Appropriate, "Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome" or "Ehlers-Danlos Syndrome"?

have been found to cause EDS [Mao and Brinow, 2001]. In a revised nomenclature, EDS was classified into six major types [Beighton et al., 1998] and several other forms have also been identified based on the molecular and biochemical abnormalities [Abe et al., 2008; Genta et al., 2008; Kresse et al., 1987; Schallwaj et al., 2001; Schwarze et al., 2004].

Homozygous or compound heterozygous *CHST14* mutations have been found in 11 patients aged 9 days to 6 years at the initial publication (from four families) with ATCS [Dundar et al., 1997, 2001, 2009; Janecke et al., 2001; Sonoda and Kozono, 2000], in six patients aged 2–32 years (from six families) with EDSKT [Kosho et al., 2005, 2010; Miyake et al., 2010; Kasai et al., 2010], and in three patients aged 12–22 years (from two families) with MCEDS [Mizutani et al., 2010]. Lack of detailed clinical information from later childhood to adulthood in ATCS and lack of detailed clinical information from birth to early childhood in EDSKT and MCEDS have made it difficult to determine whether the three conditions would be distinct clinical entities or a single clinical entity with variable expressions.

2011/4/9 submit
 AJMGのonline publicationを
 待ってRevision submit
 2011/8/3 accept
 2011/8/24 online

- 生きた臨床情報を握っており、これまでの全例をまとめた立場からの反論
 – Kosho T, Miyake N, Mizumoto S, Hatamochi A, Fukushima Y, Yamada S, Sugahara K, Matsumoto N. *Hum Mutat* [Early View]
- D4ST-1欠損症は、EDSの主要症状である皮膚過伸展性、関節過可動性、および皮膚・靭帯・関節・血管・内臓など組織脆弱性を全て有する
- 先天性多発関節拘縮など通常EDSでは見られない症状があることはEDSを否定することにならない
- 健康管理上もEDSの診断が妥当
- 病因論的にも、デコリンを介したコラーゲン細線維のassembly不全が示された
- ATCSは患者発見上は助かる名称であるので、“D4ST1-Deficient EDS (Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome)”との暫定診断名を提唱

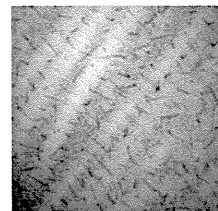
DD-EDSとは

- ATCS/EDSKT/MCEDSは同一疾患、EDSの1病型
- 発生異常、進行性の結合組織脆弱性
- *CHST14*変異→D4ST-1活性低下→DS欠乏状態
- 皮膚の脆弱性：
 - デコリンのグリコサミノグリカン鎖においてデルマタン硫酸が含まれず、全て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

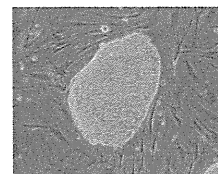
(Kosho et al., *Am J Med Genet Part A* 152: 1333–1346, 2010)
(Shimizu et al., *Am J Med Genet Part A* 155: 1949–1958, 2011)
(古庄.信州医学誌 59: 305–319, 2011)

今後の展望

- 自然歴の構築
 - 症例の集積
- 病態の解明
 - 生化学的、生理学的、病理学的検討
 - iPS細胞
 - KOマウス
- 治療法の開発
 - 健診・スクリーニングプラン
 - 対症療法
 - 根本的治療法(酵素補充療法)



GAG鎖を染色したEM



iPS細胞(EDSK1由来)

おわりに

- Clinical geneticsの醍醐味は、1人の患者さんとの出会いを大切に、その人生や家族とじっくり向き合いながら、同時に疾患の本質を臨床的に、また病因論的につきつめ、新たな疾患概念を構築し、普遍的な生物学的意義を見出し、そして根本的治療の可能性を探ること
- 今回、1人の患者さんとの出会いに始まり、約10年の歳月をかけて、様々な専門家との共同研究のなかで、症例を集積し、そして病態を解明することができた
- 今後とも、患者さんたちの健康状態や生活の質がよくなるよう、本症の病態解明と治療法の開発に力を尽くしていきたい

デルマタン4-O-硫酸基転移酵素1 (D4ST1)欠損によるEhlers-Danlos症候群 (DD-EDS)の病態探索

○古庄知己、福嶋義光(信州大学医学部附属病院・遺伝子診療部)
水本秀二、菅原一幸

(北海道大学大学院先端生命科学研究所・生命科学院・生命情報分子科学コース・
細胞膜分子科学分野プロテオグリカンシグナリング医療応用研究室)

小林身哉(金城学院大学・生活環境学部食環境栄養学科)

藤田秀和(名古屋大学大学院医学研究科・教育研究機器センター)

中山淳(信州大学大学院医学研究科・分子病理学)

野村義宏(東京農工大学農学部・硬蛋白質利用研究施設)

旗持淳(獨協医科大学・皮膚科)

三宅紀子、松本直通(横浜市立大学大学院医学研究科・遺伝学)

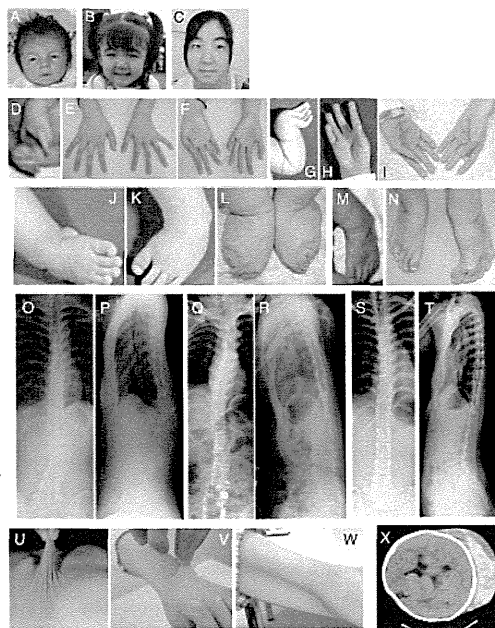
平成24-25年度難治性疾患等克服研究事業

「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(H24-難治等(難)一般-073)」(DD-EDS/古庄班)

日本人類遺伝学会第57回大会(2012/10/25-27 於:京王プラザホテル)

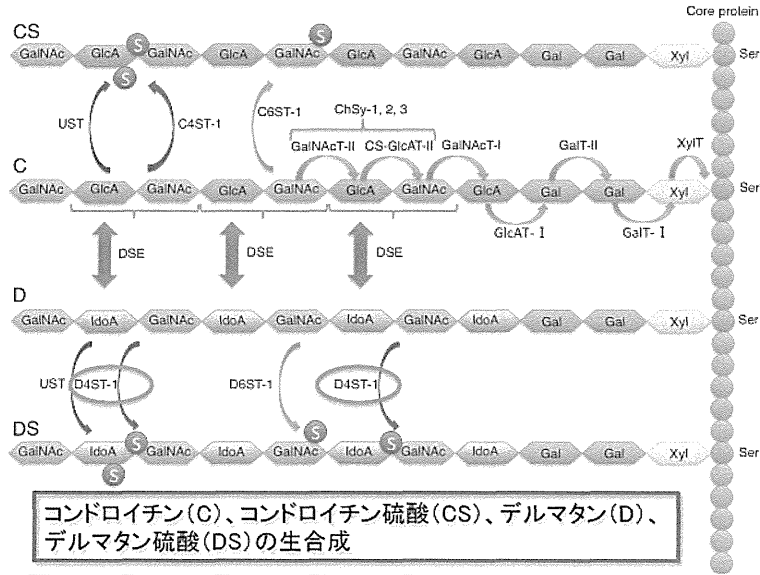
D4ST1-deficient EDS(DD-EDS)

- 3チームが独立に異なる疾患として発見
 - Adducted Thumb-clubfoot Syndrome(Dündar et al., 2009)
 - EDS, Kosho Type(Kosho et al., 2010; Miyake et al., 2010)
 - EDS VIB, Musculocontractural EDS(Malfait et al., 2010)
- CHST14遺伝子の機能喪失型変異(Dündar et al., 2009; Miyake et al., 2010; Malfait et al., 2010)
 - デルマタン4-O-硫酸基転移酵素-1(D4ST1)欠損
- 症状
 - 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
 - 発生異常:顔貌の特徴、先天性多発関節拘縮など
(Kosho et al., 2010; Shimizu et al., 2011; Kosho et al., 2011)



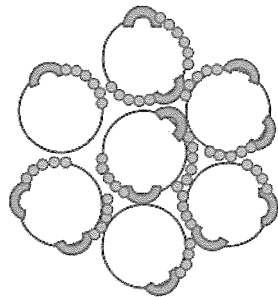
D4ST1

プロテオグリカンのグリコサミノグリカン(GAG)側鎖を構成するデルマタン硫酸(DS)を合成する最終段階の硫酸基転移酵素

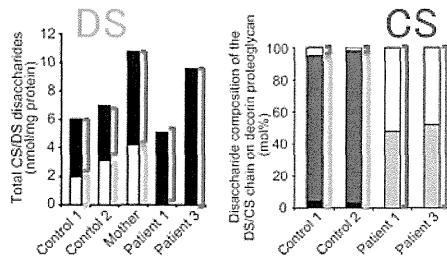


デコリン

- 代表的なDS-プロテオグリカン、コラーゲン細線維を束ねる(assembly)のに重要な役割を果たす(Nomura, 2006)
- デルマタン硫酸(DS)生合成異常とEDS(コラーゲン代謝異常)をつなぐ



- Collagen fibril
- Core protein of decorin
- GAG chain of decorin, composed of DS
- GAG chain of decorin, composed of CS



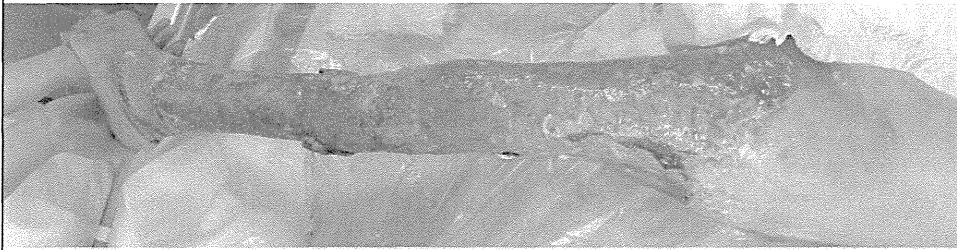
患者皮膚由来培養皮膚線維芽細胞におけるCS/DS組成分析でDSの消失、CSの増加(Dündar et al., 2009; Miyake et al., 2010)

デコリンGAG鎖のCS/DS組成分析で正常ではほぼDS→患者ではCSのみ(Miyake et al., 2010)

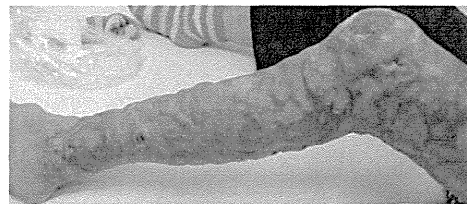
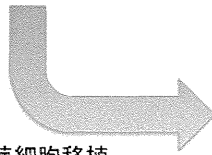
DD-EDS

病態解明・治療法開発が急がれる理由

- ・ 進行性結合組織脆弱性→生命に関わるイベント



重症広範性皮膚壊死
7か月間の入院
人工真皮
自家培養皮膚線維芽細胞移植
自家分層網状皮膚移植
自家培養表皮シート移植



From Dr. Yano, Dept. of Plastic Surgery,
Shinshu Univ. School of Med

DD-EDSの病態探索1

	これまでの研究成果	明らかにされるべきこと
病理解析	<p><u>①光顕(皮膚)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ・異常所見なし(Dündar et al., 2009) ・繊細なコラーゲン線維が優位、しっかりとしたコラーゲン線維束が少ない(Miyake et al., 2010) <p><u>②電顕(皮膚)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ・異常所見なし(Dündar et al., 2009) ・コラーゲン細線維が密に束ねられていない(Miyake et al., 2010) ・大多数のコラーゲン線維束は小さく、様々な径のコラーゲン細線維(花のような形態のもの)から形成されている(Malfait et al., 2010) 	<p><u>皮膚</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ・光顕、電顕所見を結論付ける ・コラーゲン細線維とデコリン(コアタンパク、GAG鎖)との相互関係を明らかにする <p><u>その他の組織</u></p> <p>骨、筋肉、腸管など</p>

DD-EDSの病態探索2

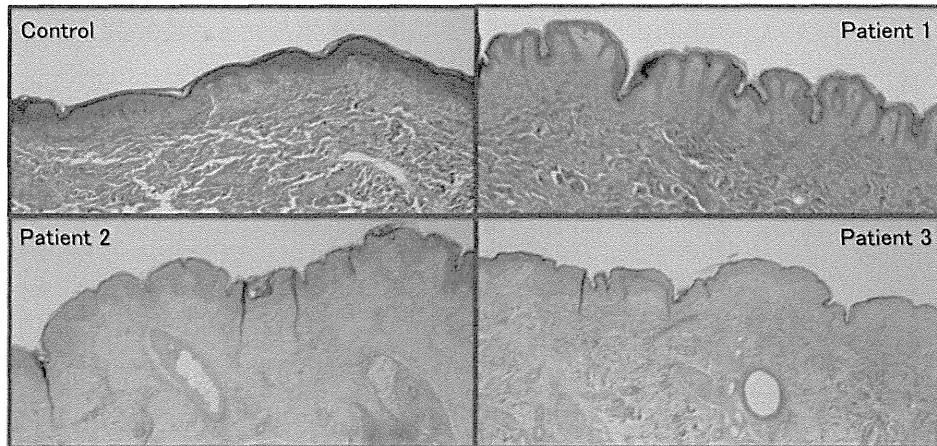
	これまでの研究成果	明らかにされるべきこと
糖鎖医学的解析	<p><u>①酵素活性</u> 変異をtransfectしたCOS-7細胞、患者皮膚由来培養皮膚線維芽細胞において硫酸基転移酵素活性は著減(Miyake et al., 2010)</p> <p><u>②CS/DS組成</u> ・患者皮膚由来培養皮膚線維芽細胞におけるCS/DS組成分析でDSの消失、CSの増加(Dündar et al., 2009; Miyake et al., 2010) ・デコリンGAG鎖のCS/DS組成分析で正常ではほぼDS→患者ではCSのみ(Miyake et al., 2010)</p>	<p><u>①酵素活性</u> 皮膚以外の細胞においても硫酸基転移酵素活性が著減しているか？</p> <p><u>②CS/DS組成</u> ・皮膚以外の細胞におけるCS/DS組成分析においてもDSの消失、CSの増加が見られるか？ ・デコリン以外のDS-プロテオグリカンのGAG鎖においてもDS→CSの転換が見られるか？</p>

方法

- 病理解析
 - 顕微鏡観察 3患者:1健常コントロール
 - アザン染色
 - 膠原線維を濃青色に染色
 - デコリン免疫染色
 - 抗デコリン抗体(R&D社):コアタンパクを認識
 - 電顕観察 1患者:1分類不能タイプEDS患者
 - Cupronic blue染色
 - デコリンのGAG鎖を染色
- 糖鎖医学的解析
 - 尿CS/DS組成分析 5患者:5関節型EDS患者

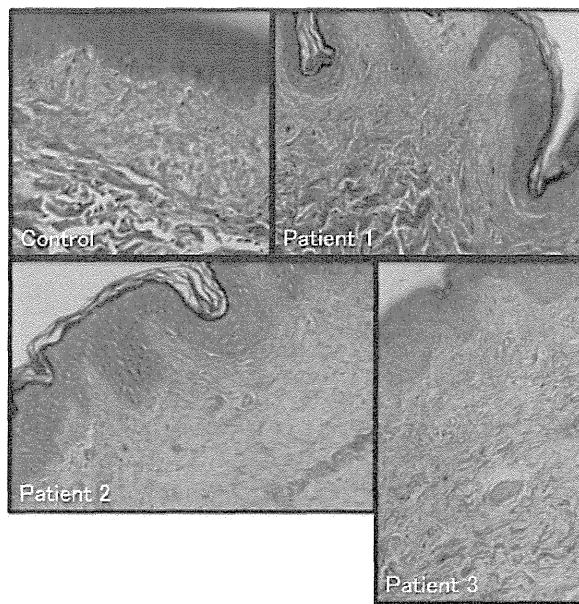
光顕所見1:弱拡大

- 全ての患者において、コントロールに比べ、表皮がより波打っている



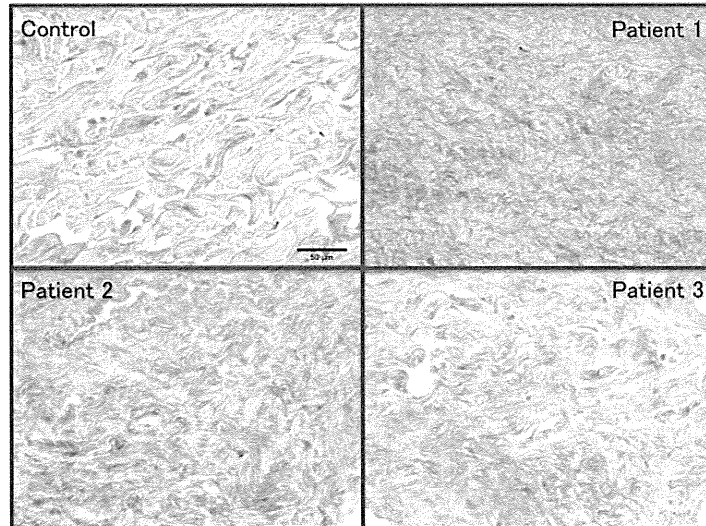
光顕所見2:強拡大

- Patient 1
 - コラーゲン線維束は厚い
 - 表皮直下のコラーゲン線維が粗
- Patient 2、3
 - コラーゲン線維束が乏しい
 - 表皮直下のコラーゲン線維が粗



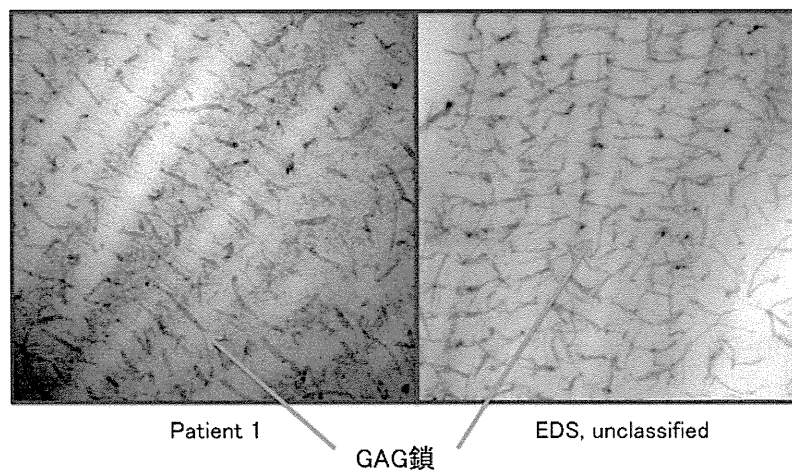
光顕所見3: デコリン免疫染色

- コントロールでは、コラーゲン線維束に沿って均一に染色
- 患者では、コラーゲン線維束に沿いつつ細かい線維状に染色



電顕所見: cupronic blue染色

- DD-EDS患者では、分類不能タイプEDS患者 (EDS, unclassified) よりもGAGが短い傾向



尿中CS/DS組成分析

- DD-EDS患者では、DSは尿中に全く検出されなかった

DD-EDS患者

	pmol/mg creatinine (mol%)				
	尿#6	尿#7	尿#8	尿#9	尿#10
ΔHexUA-GalNAc	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ΔHexUA-GalNAc(6S)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ΔHexUA-GalNAc(4S)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ΔHexUA(2S)-GalNAc(6S)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ΔHexUA(2S)-GalNAc(4S)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ΔHexUA-GalNAc(4S,6S)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ΔHexUA(2S)-GalNAc(4S,6S)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Total DS disaccharide	—	—	—	—	—

関節型EDS患者

	pmol/mg creatinine (mol%)					平均
	尿#1	尿#2	尿#3	尿#4	尿#5	
ΔHexUA-GalNAc	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	—
ΔHexUA-GalNAc(6S)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	—
ΔHexUA-GalNAc(4S)	1,142 (86.4)	252 (82.8)	838 (79.6)	377 (82.2)	290 (80.8)	580 ± 1758 (82.4 ± 1.2)
ΔHexUA(2S)-GalNAc(6S)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	—
ΔHexUA(2S)-GalNAc(4S)	149 (11.3)	52 (17.2)	162 (15.4)	68 (17.8)	58 (16.2)	98 ± 24 (15.0 ± 1.0)
ΔHexUA-GalNAc(4S,6S)	30 (2.3)	N.D.	52 (5.0)	14 (2.9)	11 (3.0)	21 ± 9 (2.6 ± 0.8)
ΔHexUA(2S)-GalNAc(4S,6S)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	—
Total DS disaccharide	1,321 (100)	304 (100)	1,053 (100)	459 (100)	359 (100)	699 ± 205 (100)

考察

- 光顕所見
 - アザン染色:コントロールに比べて、表皮が波打ち、表皮直下の真皮のコラーゲン線維が粗で、その下のコラーゲン線維束が乏しい
 - デコリン(コアタンパク)免疫染色:一見同じように見えるコラーゲン線維束においても染色の違いは明らか
- 電顕所見
 - DD-EDSではデコリンのGAG鎖が短い可能性
- コラーゲン細線維とデコリン(コアタンパク、GAG鎖)との相互関係はDD-EDS患者では明らかに異常をきたしている
- 今後、患者および性・年齢・部位のマッチした健常コントロール複数例とのより詳細な検討が必要
- 尿中CS/DS組成分析所見
 - DD-EDS患者では、尿中に全くDSが検出されない
- DD-EDSの本質は全身性DS欠乏状態(皮膚線維芽細胞以外でもDS→CSへの転換が生じているのであろう)
- 非侵襲的なスクリーニング法としても有用である可能性