

I . 總括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
総括研究報告書

繊毛障害による先天異常疾患群の患者データベース構築と臨床応用のための基盤研究

研究代表者 伊藤雅之 国立精神・神経医療研究センター 室長

研究要旨

繊毛障害に起因する先天異常症候群には、有馬症候群、デカバン症候群、ジュベール症候群、セニール・ローケン症候群、COACH症候群等が含まれる。ホームページを利用した、これらの疾患の診療支援システムを構築した。また、有馬症候群とジュベール症候群の患者データベースを作成した。これまで原因不明であった有馬症候群の原因遺伝子を同定した。

ジュベール症候群とその類縁疾患27例について *AHI1*、*NPHP1*、*CEP290*、*MKS3*、*RPGRIP1L* の5遺伝子解析を行い、片側アリルの変異を *AHI1* 遺伝子1例、*MKS3* 遺伝子1例、*RPGRIP1L* 遺伝子2例に認め、臨床像との関連性が示唆された。

研究分担者

岩崎裕治 東京都立東部療育センター 副院長
大野耕策 山陰労災病院 院長

研究協力者

有馬正高 東京都立東部療育センター 院長
伊藤秀一 国立成育医療研究センター 医長
林 雅晴 東京都医学総合研究所 参事研究員
松坂哲應 長崎県立こども医療福祉センター 所長
井上岳彦 ベリタス病院小児科 部長
井手秀平 東京都立東部療育センター 医長

A．研究目的

本研究は、繊毛障害による先天異常スペクトラムの疾患群の実態調査を行ない、病因・病態を解明し診断基準の策定と普及をめざした研究である。

これまでに、有馬症候群の臨床疫学的研究と診断基準の策定、臨床症状・経過に関する臨床データの集計・解析と研究リソースの収集およびその管理を行った。診断のために、繊毛障害による先天異常症候群（ジュベール症候群、デカバン症候群、セニール・ローケン症候群、COACH症候群）の遺伝子診断を確立し、未知である有馬症候群の原因遺伝子を明らかにすることが必要である。ジュベール症候群の原因遺伝子として知られている *AHI1*、*NPHP1*、*CEP290*、*TMEM67*、*RPGRIP1L* の5遺伝子解析を27症例について行なった。

B．研究方法

東京都立東部療育センターで管理している生体試料（血液由来DNAと線維芽細胞）は研究協力施設（遺伝子解析グループ）へ提供した。有馬症候群の臨床診断をされた4家計5症例とその両親の血液由来DNAを、Agilent社ヒトCGHアレイで全ゲノムのcopy number variation (CNV) を調べ、異常がなかったものについ

て、次世代シーケンサーでエキソーム解析を行なった。また、ジュベール症候群、デカバン症候群、セニール・ローケン症候群、COACH症候群の既報告24遺伝子について、ターゲットシーケンス解析を開発した。

一方、鳥取大学では、27名の患者白血球を用いてEBウイルスによる芽球化を行い保存後、*AHI1*、*NPHP1*、*CEP290* (*Nephrocystin-6*)、*TMEM67* (*MKS3*)、*RPGRIP1L* の5つの遺伝子解析についてWAVE核酸フラグメント解析を行い、変異が疑われたDNA試料は直接シーケンス法による解析を行った。

これらの遺伝子解析は、当該施設の倫理問題検討委員会の承認のもと行なった。

C．研究結果

1．有馬症候群の患者に病的なCNVは明らかなものはなかった。対象に対して、エキソーム解析を行ない、4症例に共通の遺伝子異常を認めた。これは、サンガー法による遺伝子配列検査にても同じ異常を認めた。

ジュベール症候群、デカバン症候群、セニール・ローケン症候群、COACH症候群の既報告24遺伝子について、NCBIより遺伝子情報を収集し、これら全遺伝子のprimer setを作成した。3例の解析を行なったが、ターゲットシーケンス解析として利用できることを確認した。

また、27例中純粋なジュベール症候群の臨床症状を示した17例の中で、*AHI1* 遺伝子変異を1例、*MKS3* 遺伝子変異を1例、*RPGRIP1L* 遺伝子変異を2例に認めた。

2．診療支援

本研究班では、東京都立東部療育センター内にホームページ（「ジュベール症候群の窓」）を開設し、さまざまな情報発信を行なっている。今年度はこのホームページを利用して新たな患者情報の収集を行い、同施設内に患者データベースを構築

した。まず、有馬症候群7例およびジュベール症候群16例の患者登録を行い、これらをモデルとし他の対象疾患の患者登録を始めた。

また、有馬（研究協力）を中心にコンソーシアムを組織し、症例検討会、診断相談やアドバイス等の診断支援を行なった。その結果、新たに有馬症候群1名とJoubert症候群2名の東京都立東部療育センターへの紹介受診があり、その他診断等に関する問い合わせが5件あり、それぞれに疾患の情報（文献なども含めて）提供や診断についてのアドバイスをを行った。生体試料は4家系の血液由来DNAと1家系の線維芽細胞を追加し、これらの試料について管理を行い、遺伝子解析グループへの試料提供を行った。

D . 考察

有馬症候群は他の4疾患より均一な症状を呈することから、単一遺伝子異常である可能性が推定されていた。今回の研究から、有馬症候群の複数の症例で共通の遺伝子異常をみつけた。臨床遺伝学的に病因性が強く疑われる。

今回検索したジュベール症候群27例中4例に、既知5遺伝子の片側アリルのみの変異を同定した。これらの塩基置換はこれまでに報告されているSNPにはなく、疾患の原因と関係する変異の可能性がある。AHI1、MKS3、RPGRIP1L変異を認めた4例は腎機能障害や網膜機能障害を認めないジュベール症候群であったが、AHI1遺伝子変異では若年性ネフロン癆をきたす可能性があり、RPGRIP1L遺伝子変異でも腎病変や網膜異常を伴う例があり、今後の経過観察が必要である。

今後、他の疾患との分子遺伝学的な関係を明らかにして、繊毛障害の病態の全体像を解明する。

ホームページを通しジュベール症候群関連疾患の症例収集を試みた。その結果、複数の新たな患者の相談や受診があった。今後、さらに、繊毛障害による疾患の情報提供と学会参加型のシンポジウムなどの普及活動をすすめ、より広く繊毛障害関連疾患の実態を調査する必要がある。こうした取り組みを継続することで、早期診断と早期療育の導入、および医療的管理により、合併症の軽減と予防をはかり、質の高い医療・介護支援を全国へ普及させる。さらに日本小児科学会、日本小児神経学会、日本先天異常学会と連携をはかり、診断基準の提言を行う。

E . 結論

有馬症候群の複数の症例で共通の遺伝子異常がみつき、病因性があるものと考えられた。また、症例の追跡によって原因遺伝子変異と臨床症状の関連を明らかにし、予後因子を探索する。

患者データベースを作成し、ホームページを通じ

て情報発信、情報収集、診断診療支援を行った。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Itoh M, Iwasaki Y, Ohno K, Inoue T, Hayashi M, Ito S, Matsuzaka T, Ide S, Arima M. Nationwide survey of Arima syndrome: new diagnostic criteria from epidemiological analysis. *Brain Dev* 2013 Jul 8. doi:prii: S0387-7604(13)00195-2. 10.1016/j.braindev.2013.06.005.
2. Inoue T, Kawawaki H, Kuki I, Nabatame S, Tomonoh Y, Sukigara S, Horino A, Nukui M, Okazaki S, Tomiwa K, Kimura-Ohba S, Inoue T, Hirose S, Shiomi M, Itoh M. A case of severe progressive early-onset epileptic encephalopathy: unique GABAergic interneuron distribution and imagings. *J Neurol Sci* 2013;327:65-72.
3. Nagai S, Saito Y, Endo Y, Saito T, Kenji Sugai K, Ishiyama A, Komaki H, Nakagawa E, Sasaki M, Ito K, Saito Y, Sukigara S, Ito M, Goto Y, Ito S, Matsuoka K. Hypoalbuminemia in early-onset dentatorubral-pallidoluysian atrophy due to leakage of albumin in multiple organs. *J Neurol* 2013;260:1263-1271.
4. 岩崎裕治他．てんかん発作への対応は：脳性麻痺リハビリテーションガイドライン第2版．日本リハビリテーション医学会診療ガイドライン委員会 東京 日本リハビリテーション医学会，2014：207-208
5. 岩崎裕治他．有馬症候群の全国調査と診断基準の検討.日本小児科学会誌（投稿中）
6. Luan Z, Li L, Higaki K, Nanba E, Suzuki Y, Ohno K. The chaperone activity and toxicity of ambroxol on Gaucher cells and normal mice. *Brain Dev* 35(4):317-22, 2013.
7. Matsuo M, Togawa M, Hirabaru K, Mochinaga S, Narita A, Adachi M, Egashira M, Irie T, Ohno K. Effects of cyclodextrin in two patients with Niemann-Pick Type C disease. *Mol Genet Metab.* 108(1):76-81, 2013
8. Maekawa M, Misawa Y, Sotoura A, Yamaguchi H, Togawa M, Ohno K, Nittono H, Kakiyama G, Iida T, Hofmann AF, Goto J, Shimada M, Mano N. LC/ESI-MS/MS analysis of urinary 3b-sulfoxy-7b-N-acetylglucosaminyl-5-cholen-24-oic acid and its amides: New biomarkers for the detection of Niemann-Pick type C disease. *Steroids* 78 : 967-972, 2013.
9. Takai T, Higaki K, Aguilar-Moncayo M, Mena-Barragán T, Hirano Y, Yura K, Yu L, Ninomiya H, García-Moreno MI, Sakakibara Y, Ohno K, Nanba E, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Suz

uki Y. A bicyclic 1-deoxygalactonojirimycin derivative as a novel pharmacological chaperone for GM1 gangliosidosis. *Mol Ther.* 21(3):526-32, 2013

10. Yokoyama A, Ohno K, Hirano A, Shintaku M, Kato M, Hayashi K, Kato S. Neuropathologic dynamics in cerebellar expression of copper chaperone for superoxide, cytosolic Cu/Zn-superoxide dismutase, 4-hydroxy-2-nonenal, acrolein, and stress-response (heat-shock) protein 32 in Menkes' kinky hair disease patients: immunohistochemical study. *Yonago Acta med.*
11. Sakiyama Y, Narita A, Osawa S, Nanba E, Ohno K, Otsuka M. Abnormal Copper metabolism in Niemann-Pick disease type C mimicking Wilson's disease. *Neurology and Clinical Neuroscience*
12. Matsuo M, Ohno K, Ohtsuka F. Characterization of early onset neurofibromatosis type 2. *Brain Dev* 36: 148-52, 2014

2. 学会発表

1. 岩崎裕治他 . 有馬症候群の実態解明 : 全国疫学調査からの報告 (Nationwide Survey of Arima Syndrome: The First Report of Clinical Features.) 平成24年5月18日 第54回日本小児神経学会総会 札幌.
2. Iwasaki Y. Nationwide survey of persons with profound intellectual and multiple disabilities who are referred for admission to residential hospitals in Japan. *The Asia-Pacific 3rd*

Regional Conference. Tokyo, Japan, 22-24 August, 2013.

3. 岩崎裕治他 . 当センター通所における利用者の重度化ならびに死亡例について 平成25年9月27日 第39回日本重症心身障害学会 宇都宮
4. 岩崎裕治 . 重症心身障害に対する医療・支援の現状 . 平成25年9月28日 第60回 日本小児保健協会 学術集会
5. Ohno K. Chemical chaperone therapy for neuronopathic Gaucher disease. *The 12th Asia Oceanian Congress on Child Neurology.* Riyadh, Saudi Arabia, September 14-18, 2013
6. Ohno K. Treatment of Niemann-Pick disease type C. *Korean Lysosomal Storage Symposium.* Asan Institute of Life Science, Asan Medical Center, Seoul, Korea. November 15, 2013.
7. K. Ohno. Chemical chaperone therapy for neuronopathic Gaucher disease. *The 3rd Asian Congress of Inherited Metabolic Disease/ The 55th annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Disease.* Tokyo Bay Maihama Hotel Club Resort, Chiba, November 27-29, 2013

G . 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし。
2. 実用新案登録 なし。
3. その他 なし。