

新規染色体微細欠失症候群の確立

研究代表者 山本 俊至 東京女子医科大学統合医科学研究所・准教授

研究要旨

研究目的:

マイクロアレイによる全ゲノムの網羅的なコピー数解析の手法が確立し、全世界的に普及することにより、これまで知られていなかった新規の染色体微細欠失症候群が次々と報告され、疾患概念が確立してきた。しかし、まだ知られていない染色体微細欠失症候群も存在しており、稀なケースの場合には、患者情報が得られにくいという問題がある。そこで全世界で使用されているデータベースを利用して患者情報を収集することにより新しい染色体微細欠失症候群の概念を確立させることを目的とした。

研究方法:

本研究で明らかになった染色体微細欠失患者のうち、過去に報告の無い稀な欠失について DECIPHER データベースを検索し、欠失領域が重なる症例の臨床情報を収集し、共通する症状について解析した。さらに genotype-phenotype 相関を解析し、症状に関連する責任遺伝子について考察した。

結果と考察:

本研究で日本人において明らかになった微細欠失のうち、15q22.2 欠失と Xq22 欠失に関しては論文としての報告がないため DECIPHER データベースを検索し、それぞれ 4 例ずつ海外の症例の存在を明らかにし、電子メールを介して情報収集を行った。その結果、15q22.2 欠失は *NARG2* と *RORA* の領域が精神発達遅滞を示す患者に共通して欠失しており、Xq22 欠失においては共通した欠失領域にある *BEX* 遺伝子クラスターの領域が重度発達遅滞と行動異常に関連していると考えられた。Xq22 欠失の日本人患者から iPS 細胞研究のための皮膚線維芽細胞の提供を受けた。

結論:

マイクロアレイ染色体検査で明らかになった 2 人の患者情報から発展させ、2 つの新規染色体微細欠失症候群を確立することができた。希少疾患においては、世界的なデータベースを活用することが重要である。今後、患者から提供された皮膚線維芽細胞から疾患 iPS 細胞を樹立させ、神経系細胞における病態をさらに解析する予定である。

A. 研究目的

本研究班においては、マイクロアレイによる網羅的なゲノムコピー数解析が普及することによって初めて明らかになってきた染色体微細構造異常によって発達障害を来す疾患を研究対象としている。調査対象とし

てマイクロアレイが普及する前には知られていなかった 30 の染色体微細構造異常を選定した。しかし、発達障害を来す染色体微細構造異常はこれだけではなく、まだ確立していない症候群も存在する。本研究においては、過去に論文としてもまったく報告の

ない、15q22.2欠失とXq22微細欠失を示す2人の日本人患者を同定した。患者の臨床症状がこの染色体微細構造異常によるものとして矛盾がないかどうかは、他の同様の患者と比較するしか方法がない。そこで世界的なデータベースであるDECIPHERを検索して同じ領域の微細欠失を示す患者情報を収集した。

B. 研究方法

(1) 診断支援

原因不明の発達障害患者を対象にアレイCGHによる網羅的なゲノムコピー数解析を行った。

(2) アレイCGH法による解析

Agilent社製60K Human Genome Arrayを用いて解析した。ゲノムコピー数の異常が認められた場合には、それが真の疾患関連変異であることを確認するために両親も合わせてトリオ解析とした。必要に応じてFISH解析による確認を行った。

(3) 倫理面への配慮

本研究においては患者情報に基づく疫学調査を行うことから、個人情報に配慮する必要があるため、東京女子医科大学の倫理委員会に申請し、承認を得た。アレイCGH解析については、書面に基づく説明と書面によるインフォームド・コンセントを得て実施する。収集される検体には、二重連結可能匿名化番号を付与し、匿名化番号、同意書のコピー1部、および患者情報票のコピー1部について個人情報管理者が管理する。個人情報と匿名化後のIDを連結する対応表はコンピューターの外部記憶装置に

保存し、鍵のかかるキャビネット内で個人情報管理者が保管する。試料等に関するデータベースをコンピューターを用いて取り扱う場合は、インターネットや他のコンピューターから切り離れた状態で取り扱う。

C. 研究結果

(1) 新規染色体微細欠失の同定

発達障害を示す2例の患者において、15q22.2欠失とXq22という過去に報告の無い染色体微細欠失を同定した。いずれも両親には欠失がなく、*de novo*変異であった。

(2) データベースの検索と情報収集

過去に報告の無い15q22.2欠失とXq22について、DECIPHERデータベースを検索したところ、複数の症例の登録があった。登録施設から患者の臨床情報の提供を受け、検討したところ、発達障害やてんかん、行動異常など、共通する症状が認められ、症候群としての疾患概念を満たすものと考えられた。Genotypeとphenotypeを比較検討し、それぞれの共通した欠失範囲内にある*NARG2*と*RORA*、*BEX*遺伝子クラスターの欠失がこれらの症状の原因となっている可能性が考えられ、国際医学雑誌に投稿し、受理された。

D. 考察

本研究により、これまでに知られていない2つの新規染色体微細構造異常症候群を確立させた。いずれも精神発達遅滞、あるいは発達障害などの神経症状を共通して示していた。

E. 結論

リスト化した 30 疾患に該当しない新規染色体微細構造異常症候群の存在を明らかにした。今後もこのような新規症候群が明らかになってくる可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamamoto T, Shimojima K: Pelizaeus-Merzbacher disease as a chromosomal disorder. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 3-8, 2013.
2. Shimada S, Okamoto N, Ito M, Arai Y, Momosaki K, Togawa M, Maegaki Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T: MECP2 duplication syndrome in both genders. *Brain Dev* 35: 411-419, 2013.
3. Okumura A, Shimojima K, Kubota T, Abe S, Yamashita S, Imai K, Okanishi T, Enoki H, Fukasawa T, Tanabe T, Dibbens LM, Shimizu T, Yamamoto T: PRRT2 mutation in Japanese children with benign infantile epilepsy. *Brain Dev* 35: 641-6, 2013.
4. Shimada S, Maegaki Y, Osawa M, Yamamoto T: Mild developmental delay and obesity in two patients with mosaic 1p36 deletion syndrome. *Am J Med Genet* 161A: 1779-85, 2013.
5. Ishii A, Shioda M, Okumura A, Kidokoro H, Sakauchi M, Shimada S, Shimizu T, Osawa M, Hirose S, Yamamoto T: A recurrent KCNT1 mutation in two sporadic cases with malignant migrating partial seizures in infancy. *Gene* 531:467-71, 2013.
6. Eto K, Sakai N, Shimada S, Shioda M, Ishigaki K, Hamada Y, Shinpo M, Azuma J, Tominaga K, Shimojima K, Ozono K, Osawa M, Yamamoto T: Microdeletions of 3p21.31 characterized by developmental delay, distinctive features, elevated serum creatine kinase levels, and white matter involvement. *Am J Med Genet* 161A: 3049-3056, 2013.
7. Shimada S, Maegaki Y, Osawa M, Yamamoto T: Mild developmental delay and obesity in two patients with mosaic 1p36 deletion syndrome. *Am J Med Genet* 164A : 415-420, 2014.
8. Yamamoto T, Togawa M, Shimada S, Sangu N, Shimojima K, Okamoto N: Narrowing of the responsible region for severe developmental delay and autistic behaviors in WAGR syndrome down to 1.6 Mb including PAX6, WT1, and PRRG4. *Am J Med Genet* 164A: 634-638, 2013.
9. Sangu N, Shimojima K, Shimada S, Ando T, Yamamoto T: Growth patterns of patients with 1p36 deletion syndrome. *Congenit Anom (Kyoto)* (in press)
10. Numata Y, Gotoh L, Iwaki A, Kurosawa K, Takanashi J, Deguchi K, Yamamoto T, Osaka H, Inoue K: Epidemiological, clinical, and genetic landscapes of hypomyelinating leukodystrophies. *J Neurol*. [Epub ahead of print]
11. Yamamoto T, Mencarelli MA, Di Marco C, Mafalda M, Vascotto M, Balestri P, Gérard M, Mathieu-Dramard M,

- Andrieux J, Breuning M, Hoffer MJV, Ruivenkamp CAL, Shimada S, Sangu N, Shimojima K, Umezu R, Kawame H, Matsuo M, Saito K, Renieri A, Mari F: Overlapping microdeletions involving 15q22.2 narrow the critical region for intellectual disability to NARG2 and RORA. *Eur. J. Med. Genet.* [Epub ahead of print]
12. Yamamoto T, Wilsdon A, Joss S, Isidor B, Erlandsson A, Suri M, Sangu N, Shimada S, Shimojima K, Le Caignec C, Samuelsson L, Stefanova M: An emerging phenotype of Xq22 microdeletions in females with severe intellectual disability, hypotonia, and behavioral abnormalities. *J Hum. Genet.* (in press)
 13. Okumura A, Hayashi M, Tsurui H, Yamakawa Y, Abe S, Kudo T, Suzuki R, Shimizu T, Yamamoto T: Lissencephaly with marked ventricular dilation, agenesis of corpus callosum, and cerebellar hypoplasia caused by TUBA1A mutation. *Brain Dev* 35: 274-279, 2013.
 14. Shichiji M, Ito Y, Shimojima K, Nakamu H, Oguni H, Osawa M, Yamamoto T: A cryptic microdeletion including MBD5 occurring within the breakpoint of a reciprocal translocation between chromosomes 2 and 5 in a patient with developmental delay and obesity. *Am J Med genet A* 161A: 850-855, 2013.
 15. Kobayashi S, Inui T, Wakusawa K, Tanaka S, Nakayama T, Uematsu M, Takayanagi M, Yamamoto T, Haginoya K: A case of atypical benign partial epilepsy with action myoclonus. *Seizure* 22 : 242-245, 2013.
 16. Yamamoto T, Matsuo M, Shimada S, Sangu N, Shimojima K, Aso S, Saito K: De novo triplication of 11q12.3 in a patient with developmental delay and distinctive facial features. *Mol Cytogenet* 6: 15, 2013.
 17. Shimojima K, Shimada S, Sugawara M, Yoshikawa N, Niijima S, Urao M, Yamamoto T: Challenges in genetic counseling because of intra-familial phenotypic variation of oral-facial-digital syndrome type 1. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 155-159, 2013.
 18. Usui D, Shimada S, Shimojima K, Sugawara M, Kawasaki H, Shigematu H, Takahashi Y, Inoue Y, Imai K, Yamamoto T: Interstitial duplication of 2q32.1-q33.3 in a patient with epilepsy, developmental delay, and autistic behavior. *Am J Med Genet A* 161A: 1078-1084, 2013.
 19. Sangu N, Shimosato T, Inoda H, Shimada S, Shimojima K, Ando T, Yamamoto T: A novel nucleotide mutation leading to a recurrent amino acid alteration in SH3BP2 in a patient with cherubism. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 166-169, 2013.
 20. Abe Y, Kobayashi S, Wakusawa K, Tanaka S, Inui T, Yamamoto T,

- Kunishima S, Haginoya K: Bilateral periventricular nodular heterotopia with megalencephaly: a case report. *J Child Neurol* (in press).
21. Okumura A, Hayashi M, Shimojima K, Ikeno M, Uchida T, Takanashi J, Okamoto N, Hisata K, Shoji H, Saito A, Furukawa T, Kishida T, Shimizu T, Yamamoto T: Whole-exome sequence for a unique brain malformation with periventricular heterotopia, cingulate polymicrogyria, and midbrain tectal hyperplasia. *Neuropathology* 33: 553-560, 2013.
 22. Shimojima K, Tanaka R, Shimada S, Sangu N, Nakayama J, Iwasaki N, Yamamoto T: A novel homozygous mutation of GJC2 derived from maternal uniparental disomy in a female patient with Pelizaeus–Merzbacher-like disease. *J Neurol Sci* 330: 123-126, 2013.
 23. Okamoto N, Ohmachi K, Shimada S, Shimojima K, Yamamoto T: 109 kb deletion of chromosome 4p16.3 limited to WHSCR2 in a patient with mild phenotype of Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet* 161A: 1465-9, 2013.
 24. Shimada S, Okamoto N, Nomura S, Fukui M, Shimakawa S, Sangu N, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T: Microdeletions of 5.5 Mb (4q13.2-q13.3) and 4.1 Mb (7p15.3-p21.1) associated with a saethre-chotzen-like phenotype, severe intellectual disability, and autism. *Am J Med Genet A* 161A: 2078-2083, 2013.
 25. Shimojima K, Shimada S, Tamasaki A, Akaboshi S, Komoike Y, Saito A, Furukawa T, Yamamoto T: Novel compound heterozygous mutations of POLR3A revealed by whole-exome sequencing in a patient with hypomyelination. *Brain Dev* (in press)
 26. Yamamoto T, Shimada S, Shimojima K: Fiber-FISH analyses as a diagnostic application for orientation of the microduplications. *World J Med Genet* 3; 5-8, 2013.
2. 著書
 1. 山本俊至: 遺伝子解析とマイクロアレイ染色体検査. *子どものけいれん・てんかんガイド*, 奥村彰久, ら 編. pp89-100, 中山書店, 東京, 2013.
 2. 山本俊至: Williams 症候群. *今日の神経疾患治療指針(第 2 版)*, 水澤英洋, ら 編. pp603-605, 2013.
 3. 山本俊至: 22q11.2 欠失症候群. *今日の神経疾患治療指針(第 2 版)*, 水澤英洋, ら 編. pp606-608, 2013.
 3. 学会発表
 1. 山本俊至, 島田姿野, 下島圭子, 松尾真理, 平澤恭子, 前垣義弘, 今井克美, 岡本伸彦: 非典型的な欠失範囲を示す 1p36 欠失症候群患者の臨床症状の検討 -Genotype-phenotype 関連解析 -. 第 55 回日本小児神経学会学術集会, 2013.5.30-6.1, 大分.
 2. 下島圭子, 山本俊至: 小児神経疾患

- 領域における疾患特異的 iPS 細胞の病態解析への応用. 第 55 回日本小児神経学会学術集会, 2013.5.30-6.1, 大分.
3. 小倉加恵子、荒川千賀子、下島圭子、竹下研三、山本俊至: 2q37 欠失症候群 2 例における神経心理学的症候の検討. 第 55 回日本小児神経学会学術集会, 2013.5.30-6.1, 大分.
 4. 山本俊至: 発達障害に関わるゲノム構造異常と疾患感受性遺伝子. 第 55 回日本小児神経学会学術集会, 2013.5.30-6.1, 大分.
 5. 山本俊至: [合同シンポジウム;個別化医療の新展開にむけて]染色体分析の今後. 第 20 回日本遺伝子診療学会, 2013.7.18-20, 浜松.
 6. 山本俊至: 次世代シーケンスによる小児神経疾患の解明. 第 53 回日本先天異常学会学術集会, 2013.7.21-23, 大阪.
 7. Yamamoto T: Practical application of chromosomal microarray testing. The 13th Annual Meeting of East Asian Union of Human Genetics Societies in conjunction with the 9th National Congress of Genetics Society of China, Harbin, China, Sep, 2013.
 8. 下島圭子、田中竜太、島田姿野、三宮範子、中山純子、岩崎信明、山本俊至: Pelizaeus-Merzbacher-like disease 患者に認められた GJC2 ホモ変異は母親性ダイソミーによる LOH によって生じた. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.20-23, 仙台.
 9. 島田姿野、前垣義弘、坂本晴子、下島圭子、大澤真木子、永田智、山本俊至: モザイクによる 1p36 欠失症候群の 3 症例とその臨床的な特徴. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.20-23, 仙台.
 10. 三宮範子、島田姿野、下島圭子、山本俊至: 1p36 欠失症候群の成長パターンに関する検討. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.20-23, 仙台.
 11. 山本俊至、下島圭子、島田姿野、三宮範子、松尾真理、斎藤加代子: 染色体微細 3 重複には 2 つのパターンが存在する. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.20-23, 仙台.

H. 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