

# Kenny-Caffey 症候群類縁疾患の実態調査と 診断指針作成のための研究 二次調査票

ご施設名		記入者名	
------	--	------	--

昨年度、「Kenny-Caffey 症候群類縁疾患の実態調査と診断指針作成のための研究」

にてご報告頂きました患者様につきまして、

おわかりになる範囲でご記入をお願い申し上げます。

(Fax 頂きました一次調査の結果を添付させていただきますので、ご参照頂けますと幸いです。)

患者家系 / 番号 (例: A1)					
診断名	<input type="checkbox"/> <sup>1</sup> Kenny-Caffey 症候群 <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> HRD 症候群 <input type="checkbox"/> <sup>3</sup> Osteocraniostenosis <input type="checkbox"/> <sup>4</sup> 低カルシウム血症を伴う低身長 (22q11.2 欠失症候群を除く)				
生年月	西暦: _____年____月	性別	<input type="checkbox"/> <sup>1</sup> 男 <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 女		
出生時計測	身長_____cm, 体重_____cm, 頭囲_____cm (在胎____週____日)				
両親の身長	父 _____ cm ( _____年生まれ)、 母 _____ cm ( _____年生まれ)				
思春期開始年齢	_____ 歳    _____ か月 *男子 Tanner2 度 (精巣容量 4ml 以上)、女子乳房 Tanner2 度で思春期開始とする				
血族婚	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり				
家族歴	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり ↓ (「あり」の場合、家系図等を記載してください) <div style="border: 1px solid black; height: 100px; width: 100%; margin-top: 5px;"></div>				
遺伝子解析施行 の有無	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> 未施行 <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> 施行 ↓ (「施行」の場合、解析施設名および結果を記載してください) <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 5px;"> <tr> <td style="width: 30%; padding: 5px;">解析施設</td> <td style="padding: 5px;"> <input type="checkbox"/><sup>1</sup> 自施設   <input type="checkbox"/><sup>2</sup> 他 ( _____ )               </td> </tr> </table>			解析施設	<input type="checkbox"/> <sup>1</sup> 自施設  <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 他 ( _____ )
解析施設	<input type="checkbox"/> <sup>1</sup> 自施設  <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 他 ( _____ )				

■不明の項目には「不明」や「－」などを記入してください。

## 臨床所見

診断年齢	_____歳_____か月	現在の年齢	_____歳_____か月
診断時身長	_____cm	診断時体重	_____kg
精神発達遅滞	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明	特異的顔貌	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明
低カルシウム血症	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明	眼の異常	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明
歯牙形成不全	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明	免疫異常	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明
骨膜の肥厚	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明	肝機能障害	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明
成長ホルモン分泌不全	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明	貧血	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明
腎機能障害	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明	血小板減少	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明
低マグネシウム血症	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明	性腺機能低下症	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明
甲状腺機能異常	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明	副腎機能異常	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明
心機能障害	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明	染色体検査 <sup>(*)</sup>	
成長ホルモン治療	<input type="checkbox"/> <sup>0</sup> なし <input type="checkbox"/> <sup>1</sup> あり <input type="checkbox"/> <sup>2</sup> 不明	その他の治療	
受診/診断の契機			
診断理由			

診断後に出現した症状 (治療内容もこの欄にご 記載をお願いします)	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (ありの場合、所見を御記載ください)
---	--

(\*) G-band 検査や FISH 検査を施行している場合には、結果の記載をお願いします。

### 顔貌の特徴・眼の異常

前額突出	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> 不明	深い眼球	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> 不明
低い鼻梁	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> 不明	薄い上口唇	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> 不明
小顎	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> 不明	前傾の鼻孔	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> 不明
長い人中	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> 不明	耳介の異常	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> 不明
その他顔貌の特徴			
眼の異常の詳細			

### 低カルシウム血症診断時の検査データ

検査年月日	年 月 日	痙攣の有無	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> 不明
血清カルシウム	mg/dL	血清リン	mg/dL
血清 Intact PTH	pg/mL	血清 ALP	IU/L
血清マグネシウム	mg/dL	血清 1,25 (OH)D	pg/mL

血清 25 (OH)D	ng/mL	FGF23	pg/mL
血清尿素窒素	mg/dL	血清クレアチニン	mg/dL
尿中カルシウム		尿中リン	
尿中クレアチニン		%TRP	
治療内容			
その他特記事項			

### その他(自由記載)

免疫能評価	
成長ホルモン負荷試験	
下垂体機能評価	
貧血	
肝機能評価	
腎機能評価	
その他	

■不明や未施行項目には「不明」や「-」などを記入してください。

### ■身体計測値 1歳未満（およそ下記の月齢間隔でなるべく記入する）

1ヶ月齢頃	年 月 日	cm	g	10ヶ月齢頃	年 月 日	cm	g
4ヶ月齢頃	年 月 日	cm	g	12ヶ月齢頃	年 月 日	cm	g

7ヶ月齢頃	年 月 日	cm	g
-------	-------	----	---

■身体計測値 1歳以上（3ヶ月以上の間隔で可能な限り多く記入する）

年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg

年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg
年 月 日	. cm	. kg

（別紙添付でも可：ホチキス止め）

アンケートは以上です。ご協力ありがとうございました。

## 患者さん用説明書

### 患者さんにご家族の方へ

東京大学医学部附属病院小児科では、「Kenny-Caffey症候群類縁疾患の実態調査と診断作成のための研究」を行い、別紙のような遺伝子解析方法のシステムを構築いたしました。

本文書は、あなた（または、提供者本人の代わりをつとめるあなた）に、遺伝子解析をご希望される方のために、病気と遺伝子との関係、研究内容などについて説明したものです。（なお、以降本文にあらわれる「あなた」は、「提供者本人または、本人の代わりをつとめるあなた」を意味します。）遺伝子解析は、保険診療では行われなため研究という位置づけになるため説明と同意が必要になります。

この文書をよく理解した上で、あなたが遺伝子解析をご希望される場合には、「遺伝子解析研究への同意文書」に署名することにより同意の表明をお願いいたします。もちろん、同意いただけないからといって、それを理由にあなたが不利益を被ることはありません。

以下に、遺伝子解析に関する説明と研究協力への同意に係わるいくつかの重要な点を説明します。

#### 「遺伝子とは」

「遺伝」という言葉は、「親の体質が子に伝わること」を言います。ここでいう「体質」の中には、顔かたち、体つきのほか、性格や病気にかかりやすいことなども含まれます。ある人の体の状態は、遺伝とともに、生まれ育った環境によって決まりますが、遺伝は基本的な部分で人の体や性格の形成に重要な役割を果たしています。「遺伝」という言葉に「子」という字がつき「遺伝子」となりますと、「遺伝を決定する小単位」という科学的な言葉になります。人間の場合、3万個以上の遺伝子が働いていますが、その本体は「DNA」という物質です。「DNA」は、A、T、G、Cという四つの印の連続した鎖です。印は、一つの細胞の中で約30億個あり、その印がいくつかつながって遺伝子を司っています。このつながりが遺伝子です。一つの細胞の中には約3万個以上の遺伝子が散らばって存在しています。この遺伝情報を総称して「ゲノム」という言葉で表現することもあります。人間の体は、60兆個の細胞から成り立っていますが、細胞の一つ一つにすべての遺伝子が含まれています。

遺伝子には二つの重要な働きがあります。一つは、遺伝子が精密な「人体の設計図」であるという点です。受精した一つの細胞は、分裂を繰り返して増え、一個一個の細胞が「これは目の細胞」、「これは腸の細胞」と決まりながら、最終的には60兆個まで増えて人体を形作りますが、その設計図はすべて遺伝子に含まれています。第2の重要な役割は「種の保存」です。両親から子供が生まれるのもやはり遺伝子の働きです。人類の先祖ができてから現在まで「人間」という種が保存されてきたのは、遺伝子の働きによっています。

#### 「遺伝子と病気」

こうした非常に大事な役割を持つ遺伝子の違いはさまざまな病気の原因になります。完成された人体を形作る細胞で遺伝子の違いが起きると、違いのある細胞を中心にその人限りの病気が発生することがあります。これを体細胞変異といい、がんがその代表的な病気です。一方、ある遺伝子に

生まれつき違いがある場合には、その違いが子、孫へと伝わってしまいます。この場合、遺伝する病気が出てくる可能性が生じます。

本研究はお子様の病気であるKenny-Caffey症候群類縁疾患の遺伝子診断を目的としています。Kenny-Caffey症候群類縁疾患には、TBCE遺伝子が原因であるKenny-Caffey症候群1型とHRD (hypoparathyroidism - retardation- dysmorphism) 症候群、FAM111A遺伝子が原因であるKenny-Caffey症候群2型とOsteocraniostenosisに加えて、低カルシウム血症を伴う低身長症が含まれます。

#### 「遺伝病における原因遺伝子解析研究の特徴」

遺伝子には、「人体の設計図」、「種の保存」という二つの重要な役割があることをすでに述べました。ある病気の原因となる遺伝子に生まれつきの違いが生じている場合には、この二つの役割に応じた遺伝子解析研究の有用性が考えられます。まず、原因となる遺伝子の生まれつきの違いを持つ人では、将来かかる病気を予測することが可能となり、その情報をもとに、病気を予防したり、早期発見をすることができます。また、患者さんの血縁者の中から患者さんを見つけだし、予防につとめ、また早期発見、早期治療により病気を治すことが可能となります。

しかし、今は健康な人に対し、将来病気になることを告げること、あるいは一人の患者さんの診療によって、その家族の遺伝病を予測してしまうということは従来の医療には見られなかったことです。この結果、新たな倫理的、法的、社会的問題が生じてきますが、これには、将来の発病に対する不安、就職・結婚・生命保険加入などへの影響、家族の中での不安など、様々な問題が考えられます。

本遺伝子解析研究への協力の可否を決めるに当たっては、遺伝子解析研究の持つ利点と不利な点をご理解いただきたいのです。

#### 「遺伝子解析への協力について」

この遺伝子解析は、Kenny-Caffey症候群類縁疾患の原因遺伝子を解析することを目的とします。血液から取り出した遺伝子を調べることによって同定することを目的としています。すなわち、血液を診療記録とともに、この研究に利用させていただきます。血液の採取は大きな危険を伴いません。具体的には、まず、あなたにこの研究への協力をお願いするため、研究の内容を含め、あなたが同意するための手続きについて説明を行います。あなたこの説明をよく理解でき、研究に協力して血液や体の一部を提供することに同意しても良いと考える場合には、「遺伝子解析研究への協力の同意書」に署名することにより同意の表明をお願いいたします。

## 同意の表明の前提

### (1) 研究協力の任意性と撤回の自由

この研究への協力の同意はあなたの自由意思で決めてください。同意しなくても、あなたの不利益になるようなことはありません。また、いったん同意した場合でも、あなたが不利益を受けることなく、いつでもお渡しする『同意撤回書』により、同意を取り消すことができ、その場合は採取した血液や遺伝子を調べた結果は廃棄され、診療記録などもそれ以降は研究目的に用いられることはありません。

### (2) 研究計画

#### 【研究題目】

Kenny-Caffey症候群類縁疾患の原因遺伝子の同定

#### 【研究機関名および研究責任者氏名】

この研究が行われる研究機関と責任者は下に示すとおりです。

研究機関 東京大学医学部附属病院小児科

研究責任者 東京大学医学部附属病院小児科 准教授北中幸子

(ただし、この他に共同研究を行う研究機関や研究責任者が追加される可能性があります。)

#### 【研究目的】

今回は、Kenny-Caffey症候群類縁疾患の原因遺伝子を明らかにすることを目的としています。同意が得られた後に、患者様とご家族の方から、末梢血を体格に応じて2-10ml程度採取して、ゲノムDNAおよびmRNAを抽出します。また、リンパ球を芽球化し保存いたします。別紙のようにTBCE遺伝子およびFAM111A遺伝子を調べます。上記2つの遺伝子変異が同定されなかった場合には、同意が得られれば保存して症例を蓄積して、可能であれば新しい原因検索を行う予定です。

#### 【研究方法】

血液を2-10mlほど採血します。採血は診療に必要な採血と同時に行いますので、身体の危険性はほとんどありません。血液から遺伝子を取り、目的に記した方法で、Kenny-Caffey症候群類縁疾患の原因遺伝子を調べます。また、臨床情報（経過・検査所見・治療）を収集します。この病気の原因をはっきりさせるためには、ご家族の遺伝子検査も参考になります。ご家族の遺伝子と症状を調べることにより、原因がより明らかになり、今後の遺伝性の評価にも役立ちます。結果がでるまでには数か月かかる見込みです。なお、検体の提供に対しての報酬は支払われません。

#### 【研究計画書等の開示】

希望があれば、この研究の研究計画書の内容を見ることができます。また、遺伝子を調べる方法等に関する資料が必要な場合も用意します。

### (3) 試料提供者にもたらされる利益および不利益

遺伝子検査で診断がつけば、それに応じた治療方針を立てられるようになります。また、将来的な病気の見通しもつくようになります。どのように遺伝するかがわかると、今後の遺伝性の

見通しがつけられます。ご家族の場合は、病気が発症する前に診断することができたり、自分が保因者であるかがわかったりします。また、遺伝子の解析がすすむと、その病気の研究が進みます。ただし、検査をうけても原因や遺伝性がわからない場合もあります。

一方、遺伝性疾患であることがはっきりすると、誰かに知られるなどと心配になるかもしれません。しかし、結果を第三者に知らせることは絶対にありません。それでも不安がある時や、さらに詳しい情報を知りたい場合は、主治医にご相談いただくか遺伝カウンセリングを受けることができます。

#### (4) 個人情報の保護

遺伝子の研究結果は、様々な問題を引き起こす可能性があるため、他の関係する人に漏れないように、取扱いを慎重に行う必要があります。あなたの血液などの試料や診療記録は、分析する前に住所、氏名、生年月日などの個人情報を削り、代わりに新しく符号をつけ、どこの誰の試料かが分からないようにした上で、東京大学医学部附属病院小児科において厳重に保管します。このどこの誰の試料か分からないようにしたことにより、あなたの遺伝子の分析結果は、分析を行う研究者を含む誰にも、あなたのものであると分からなくなります。ただし、遺伝子解析の結果、必要な場合には、東京大学医学部附属病院小児科あるいは受診されている病院においてこの符号を元の氏名などに戻す操作を行い、結果をあなたにお知らせすることが可能になります。

#### (5) 遺伝子解析結果の開示

今回の結果は、説明を望まれる場合はお伝えしたいと思います。遺伝子解析結果の開示は、本人に対してのみ行います。未成年の方については、成人後にご本人の意志を確かめてから、お伝えするようにしたいと考えております。説明は、本人に対してのみ行い、本人と代諾者の承諾または依頼なし他人に結果を告げることはいたしません。

#### (6) 研究成果の公表

あなたの協力によって得られた研究の成果は、提供者本人やその家族の氏名などが明らかにならないようにした上で、学会発表や学術雑誌およびデータベース上で公に発表させていただきたいと思えます。

#### (7) 研究から生じる知的財産権の帰属

遺伝子解析研究の結果として特許権などが生じる可能性があります。その権利は国、研究機関、民間企業を含む共同研究機関および研究遂行者などに属し、あなたはこの特許権などを持っていることができません。また、その特許権などをもととして経済的利益が生じる可能性があります。あなたはこれについても権利はありません。これは、遺伝子解析が非常に難しく、複雑で、また多数の方のご協力によりはじめて可能となるからです。

#### (8) 遺伝子解析研究終了後の試料等の取扱いの方針

あなたの血液などの試料は、本研究のためにだけ用いさせていただきます。しかし、もし、あなたが同意していただければ、将来の研究のための貴重な資源として、研究終了後も保管させていただきます。符号によってどこの誰の試料かが分からないようにした上で、試料が使い切られるまで保管します。なお、将来、試料を新たな研究に用いる場合は、改めてその研究計画書を倫理審査委員会において、承認をうけた上で利用します。

#### (9) 費用負担に関する事項

ここで行われる遺伝子解析に必要な費用は、研究費でまかなわれますので、あなたに負担を求め

ることはありません。

#### (10) 遺伝カウンセリング

あなたが、病気のことや遺伝子解析研究に関して、不安に思うことがあったり、相談したいことがある場合は、主治医あるいはインフォームド・コンセント担当者にその旨申し出てください。

研究責任者

東京大学医学部附属病院小児科

准教授 北中幸子

東京都文京区本郷7-3-1

03-3815-5411

## 遺伝子解析研究への協力の同意文書（患者様用）

東京大学医学部附属病院病院長 殿

私は遺伝子解析研究（Kenny-Caffey症候群類縁疾患の原因遺伝子の同定）について、説明担当医より説明文書を用いて説明を受け、その方法、危険性、分析結果のお知らせの方法等について十分理解しました。ついては、次の条件で研究協力の同意いたします。

説明を受け理解した項目（□の中にご自分でチェック☐をつけてください。）

- 遺伝子の分析を行うこと
- 研究協力の任意性と撤回の自由
- 研究目的
- 研究方法
- 研究計画書等の開示
- 試料提供者にもたらされる利益および不利益
- 個人情報の保護
- 遺伝子解析結果の開示
- 研究成果の公表
- 研究から生じる知的財産権の帰属
- 遺伝子解析研究終了後の試料等の取扱の方針
- 費用負担に関する事項
- 遺伝カウンセリング

研究協力への同意

1. 提供する生体試料等が、本遺伝子解析研究に使用されることに同意します。

はい ــــــــــــــــ いいえ

2. 提供する生体試料等が、長期間保存され、将来、新たに計画・実施される、Kenny-Caffey症候群に関連する遺伝子の分析を含む医学研究に使用されることに同意します（「（8）遺伝子解析研究終了後の試料等の取扱の方針」を参照）。

はい ــــــــــــــــ いいえ

結果の通知の希望

結果の通知を希望します。	はい	いいえ	
通知する人	両親のみ	本人のみ	両者

平成 年 月 日

氏名（患者氏名） \_\_\_\_\_

（代諾者） \_\_\_\_\_ （自署）

（代諾者の場合は、本人との関係） \_\_\_\_\_

住所 〒 \_\_\_\_\_

電話 \_\_\_\_\_

説明者の所属 \_\_\_\_\_

説明者の署名または記名・捺印 \_\_\_\_\_

## 遺伝子解析研究への協力の同意文書（ご家族用）

東京大学医学部附属病院病院長 殿

私は遺伝子解析研究（Kenny-Caffey症候群類縁疾患の原因遺伝子の同定）について、説明担当医より説明文書を用いて説明を受け、その方法、危険性、分析結果のお知らせの方法等について十分理解しました。ついては、次の条件で研究協力の同意いたします。

説明を受け理解した項目（□の中にご自分でチェック□をつけてください。）

- 遺伝子の分析を行うこと
- 研究協力の任意性と撤回の自由
- 研究目的
- 研究方法
- 研究計画書等の開示
- 試料提供者にもたらされる利益および不利益
- 個人情報の保護
- 遺伝子解析結果の開示
- 研究成果の公表
- 研究から生じる知的財産権の帰属
- 遺伝子解析研究終了後の試料等の取扱いの方針
- 費用負担に関する事項
- 遺伝カウンセリング

研究協力への同意

1. 提供する生体試料等が、本遺伝子解析研究に使用されることに同意します。

はい ــــــــــــــــــــــــ いいえ

2. 提供する生体試料等が、長期間保存され、将来、新たに計画・実施される、Kenny-Caffey症候群に関連する遺伝子の分析を含む医学研究に使用されることに同意します（「（8）遺伝子解析研究終了後の試料等の取扱いの方針」を参照）。

はい ــــــــــــــــــــــــ いいえ

平成 年 月 日

氏名（患者氏名） \_\_\_\_\_

（試料提供者） \_\_\_\_\_

（本人との関係） \_\_\_\_\_

（提供者が未成年の場合代諾者） \_\_\_\_\_ （自署）（提供者との関係） \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

住所 〒 \_\_\_\_\_

電話 \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

説明者の所属 \_\_\_\_\_

説明者の署名または記名・捺印 \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## 研究協力への同意撤回書

東京大学医学部附属病院 病院長 殿

私は、以下の研究について研究協力に同意しておりましたが、この度同意を撤回したいと存じますので何卒宜しくお願い申し上げます。

研究課題名：Kenny-Caffey 症候群類縁疾患の原因遺伝子の同定  
研究者 所属・氏名：東京大学医学部附属病院小児科・磯島豪

これまでの同意の状況：本研究協力へ同意された内容について1、2に○を付けて下さい。

1. 提供する生体試料等が、本遺伝子解析研究に使用されること
2. 提供する生体試料等が、本研究終了後も保存され、将来、新たに計画・実施される Kenny-Caffey 症候群に関連する遺伝子の分析を含む医学研究に使用されること

### 同意撤回の内容

1. 提供した生体試料が、本遺伝子解析研究に使用されることへの同意を撤回しますので試料の破棄をお願いします。

署名 \_\_\_\_\_

2. 提供する生体試料等が、本研究に使用されることには同意しますが、本研究終了後も保存され、将来新たに計画・実施される、Kenny-Caffey 症候群に関連する遺伝子の分析を含む医学研究に使用されることの同意は撤回します。

署名 \_\_\_\_\_

平成 年 月 日

氏名（試料提供者本人または代諾者） \_\_\_\_\_  
（代諾者の場合は、本人との関係） \_\_\_\_\_

住所 \_\_\_\_\_

署名 \_\_\_\_\_

研究成果の刊行に関する一覧表

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
Isojima T, Doi K, Mitsui J, Oda Y, Tokuhiko E, Yasoda A, Yorifuji T, Horikawa R, Yoshimura J, Ishiura H, Morishita S, Tsuji S, Kitanaka S.	A recurrent <i>de novo</i> <i>FAM111A</i> mutation causes Kenny-Caffey syndrome type 2.	J Bone Miner Res	29	992-8	2014
Isojima T, Harita Y, Furuyama M, Sugawara N, Ishizuka K, Horita S, Kajiho Y, Miura K, Igarashi T, Hattori M, Kitanaka S	<i>LMX1B</i> Mutation with Residual Transcriptional Activity as a Cause of Isolated Glomerulopathy.	Nephrol Dial Transplant	29	81-8	2014
Isojima T, Kushima R, Goishi K, Tsuchida S, Watanabe T, Takahashi N, Kitanaka S.	Mineral status of premature infants in early life and linear growth at age three.	Pediatr Int	Epub		2015
Tsuyoshi Isojima, Michiyasu Ishizawa, Kazuko Yoshimura, Mayuko Tamura, Shinichi Hirose, Makoto Makishima, Sachiko Kitanaka	Hereditary 1,25-dihydroxyvitamin D-resistant rickets (HVDR) caused by a VDR mutation: A novel mechanism of dominant inheritance.	Bone Report	2	68-73	2015

# A Recurrent De Novo *FAM111A* Mutation Causes Kenny–Caffey Syndrome Type 2

Tsuyoshi Isojima,<sup>1</sup> Koichiro Doi,<sup>2</sup> Jun Mitsui,<sup>3</sup> Yoichiro Oda,<sup>4</sup> Etsuro Tokuhira,<sup>5</sup> Akihiro Yasoda,<sup>6</sup> Tohru Yorifuji,<sup>7</sup> Reiko Horikawa,<sup>8</sup> Jun Yoshimura,<sup>2</sup> Hiroyuki Ishiura,<sup>3</sup> Shinichi Morishita,<sup>2</sup> Shoji Tsuji,<sup>3</sup> and Sachiko Kitanaka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

<sup>2</sup>Department of Computational Biology, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, Kashiwa, Japan

<sup>3</sup>Department of Neurology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

<sup>4</sup>Department of Pediatrics, Ohta Nishinouchi Hospital, Koriyama, Japan

<sup>5</sup>Department of Pediatrics, Odawara City Hospital, Odawara, Japan

<sup>6</sup>Department of Medicine and Clinical Science, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan

<sup>7</sup>Department of Pediatric Endocrinology and Metabolism, Children's Medical Center, Osaka City General Hospital, Osaka, Japan

<sup>8</sup>Division of Endocrinology and Metabolism, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan

## ABSTRACT

Kenny–Caffey syndrome (KCS) is a rare dysmorphic syndrome characterized by proportionate short stature, cortical thickening and medullary stenosis of tubular bones, delayed closure of anterior fontanelle, eye abnormalities, and hypoparathyroidism. The autosomal dominant form of KCS (KCS type 2 [KCS2]) is distinguished from the autosomal recessive form of KCS (KCS type 1 [KCS1]), which is caused by mutations of the tubulin-folding cofactor E (*TBCE*) gene, by the absence of mental retardation. In this study, we recruited four unrelated Japanese patients with typical sporadic KCS2, and performed exome sequencing in three patients and their parents to elucidate the molecular basis of KCS2. The possible candidate genes were explored by a de novo mutation detection method. A single gene, *FAM111A* (NM\_001142519.1), was shared among three families. An identical missense mutation, R569H, was heterozygously detected in all three patients but not in the unaffected family members. This mutation was also found in an additional unrelated patient. These findings are in accordance with those of a recent independent report by a Swiss group that KCS2 is caused by a de novo mutation of *FAM111A*, and R569H is a hot spot mutation for KCS2. Although the function of *FAM111A* is not known, this study would provide evidence that *FAM111A* is a key molecule for normal bone development, height gain, and parathyroid hormone development and/or regulation. © 2014 American Society for Bone and Mineral Research.

**KEY WORDS:** KENNY–CAFFEY SYNDROME; *FAM111A*; PARATHYROID-RELATED DISORDERS; HYPOMAGNESEMIA

## Introduction

Kenny–Caffey syndrome (KCS) (OMIM #244460, %127000) is a rare dysmorphic syndrome characterized by severe proportionate short stature with adult heights of 121 to 149 cm, cortical thickening and medullary stenosis of tubular bones, delayed closure of the anterior fontanelle, eye abnormalities, and hypocalcemia owing to hypoparathyroidism.<sup>(1–4)</sup> KCS is classified into two types according to its clinical features and inheritance pattern. Classical cases have normal intelligence and are transmitted as an autosomal dominant trait or sporadically and are called KCS type 2 (KCS2) (OMIM %127000).<sup>(5)</sup> Cases having mental and prenatal growth retardation and transmitted as an autosomal recessive trait are called KCS type 1 (KCS1) (OMIM #244460).<sup>(4,6,7)</sup>

In 2002, a study of 65 individuals from 34 pedigrees of Middle Eastern origin resulted in the identification of mutations of the tubulin-folding cofactor E (*TBCE*) gene as the cause of KCS1. *TBCE* encodes a molecular chaperone required for heterodimerization of  $\alpha$ -tubulin with  $\beta$ -tubulin.<sup>(8)</sup> KCS2 is extremely rare, with only 5 sporadic cases reported in Japan.<sup>(9–12)</sup> Because of this rarity, the cause of KCS2 has been unknown until it was recently reported to involve the “family with sequence similarity 111, member A” (*FAM111A*) gene (NM\_001142519.1) by a Swiss group in 2013.<sup>(13)</sup>

In this study, we recruited 4 Japanese patients with typical sporadic KCS2 having normal intelligence and performed whole exome sequencing in 3 unrelated trios to elucidate the molecular basis of KCS2. We hypothesized that KCS2 is caused by de novo mutations and built a de novo mutation detection pipeline to

Received in original form June 10, 2013; revised form August 21, 2013; accepted August 27, 2013. Accepted manuscript online August 31, 2013.

Address correspondence to: Sachiko Kitanaka, MD, PhD, Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8655, Japan. E-mail: sachi-ty@umin.ac.jp

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

Journal of Bone and Mineral Research, Vol. 29, No. 4, April 2014, pp 992–998

DOI: 10.1002/jbmr.2091

© 2014 American Society for Bone and Mineral Research

process the raw data from exome sequencing. Using this method, we found an identical de novo mutation in *FAM111A* in all 4 patients. This and the reported independent studies provide evidence that *FAM111A* is the cause of KCS2, and R569H is a hot spot mutation for KCS2.

## Materials and Methods

### Subjects

#### Case 1

This 10-year-old girl (Fig. 1, I-1)<sup>(9)</sup> was born at 40 weeks of gestation to nonconsanguineous, healthy Japanese parents. Polysyndactyly was noticed at birth. At 3 months of age, she was referred to a pediatric endocrinologist because of growth retardation. Her body length, body weight, and head circumferences were 55 cm (−2.5 SD), 5092 g (−1.8 SD), and 37.3 cm (0.2 SD), respectively. She was found to have liver dysfunction with a serum aspartate aminotransferase (AST) level of 227 U/L (reference range 21 to 75) and serum alanine aminotransferase (ALT) level of 227 U/L (reference range 11 to 69). Basal serum insulin-like growth factor (IGF-I), calcium (Ca), and phosphorus (P) levels were within normal limits. At the age of 1 year, hypocalcemia was revealed. Her serum Ca, P, and intact parathyroid hormone (PTH) levels were 1.6 mmol/L (reference range 2.1 to 2.4), 2.6 mmol/L (reference range 0.88 to 1.4), and 11 ng/L (reference range 15 to 50), respectively, with a normal magnesium (Mg) level of 0.86 mmol/L (reference range 0.74 to 0.90). Her serum 1,25(OH)<sub>2</sub>D level, serum alkaline phosphatase level, and urine Ca/creatinine ratio were within normal ranges. Brain computed tomography (CT) revealed calcification in the basal ganglia (Fig. 2A). She was diagnosed with primary hypoparathyroidism and was treated with alfacalcidol [1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub>]. At 2 years of age, she was diagnosed with KCS2 based on clinical manifestations of proportionate short stature, cortical thickening and medullary stenosis confirmed by radioscopic study (Fig. 2B), macrocephaly with delayed closure of the anterior fontanelle, eye abnormalities (hypermetropia and pseudopapilledema), and normal intelligence. Magnesium oxide was administered because of a low serum Mg level (below 0.62 mmol/L) at 3 years of age.

#### Case 2

This 16-year-old boy (Fig. 1, II-4)<sup>(10)</sup> was born at 41 weeks of gestation to nonconsanguineous, healthy Japanese parents. When he was 23 days old, he had a generalized convulsion because of hypocalcemia. At this time, his serum Ca, P, Mg, and intact PTH levels were 1.5 mmol/L, 3.1 mmol/L, 0.74 mmol/L, and undetectable, respectively. T-cell subset was normal. He was treated with alfacalcidol on the basis of a diagnosis of primary hypoparathyroidism. Magnesium sulfate was added because of his low serum Mg level at the age of 1 year. He suffered repeated bouts of acute otitis media until the age of two years. His serum IgG level was within the normal range. At 3 years and 1 month, his height, weight, and head circumference were 77.9 cm (−4.4 SD), 9.9 kg (−2.7 SD), and 47.4 cm (−1.5 SD), respectively. He had normal intelligence for his age. He was diagnosed with KCS2 based on clinical findings of proportionate short stature, medullary stenosis revealed by radiography, a widely open anterior fontanelle (Fig. 2C, skull radiograph at 9 years), and hypermetropia. He also suffered severe atopic dermatitis after

normalization of his serum Ca levels. His growth chart is shown in Fig. 2D.

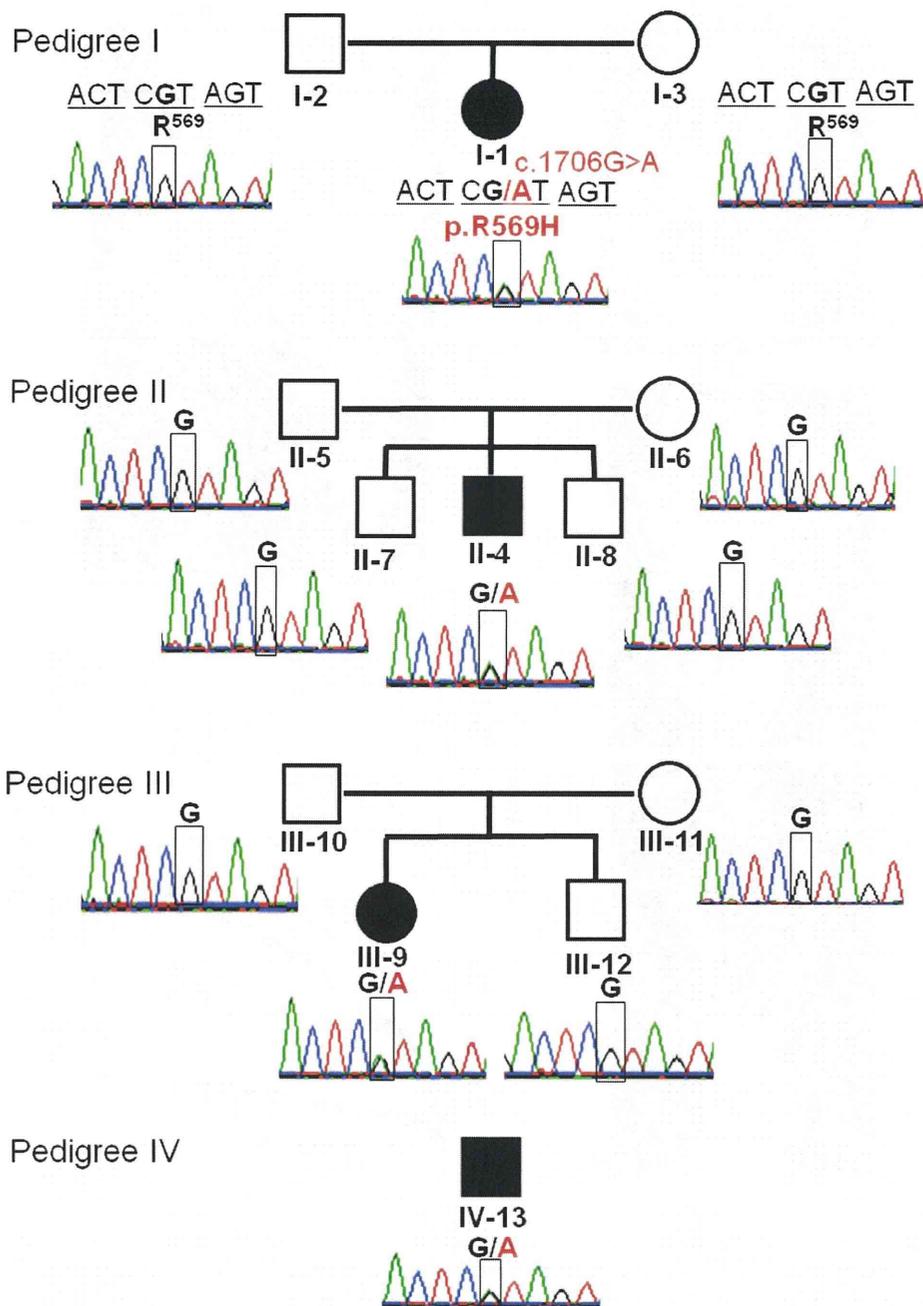
#### Case 3

This 22-year-old woman (Fig. 1, III-9)<sup>(11)</sup> was born at 40 weeks of gestation to nonconsanguineous, healthy Japanese parents following an uneventful pregnancy. At 1 month, she had an episode of generalized convulsions because of hypocalcemia. At this episode, her serum Ca, P, Mg, and intact PTH levels were 1.3 mmol/L, 2.9 mmol/L, 0.49 mmol/L, and undetectable, respectively. Oral alfacalcidol administration was started on the basis of a diagnosis of primary hypoparathyroidism. At the age of 5 years 1 month, she was referred to another hospital. Her height was 84.2 cm (−5.3 SD), and her weight was 12.2 kg (−2.2 SD). She had normal intelligence. Brain CT revealed fine calcification in the basal ganglia. Based on clinical manifestations of proportionate short stature, medullary stenosis of the long bones typical of KCS, a 1 × 1-cm opening of her anterior fontanelle, normal intelligence, and hypermetropia, she was diagnosed with KCS2. The patient was started with a combination therapy of vitamin D and magnesium sulphate. Fig. 2E shows her radiograph at 14 years of age.

#### Case 4

This 38-year-old man (Fig. 1, IV-13)<sup>(12)</sup> was born at 40 weeks of gestation to nonconsanguineous, healthy Japanese parents following an uneventful pregnancy. At 8 days of age, he had a generalized convulsion, and hypocalcemia (0.75 mmol/L) and hypomagnesemia (0.18 mmol/L) were detected. The convulsion was controlled by intravenous administration of Ca gluconate and magnesium sulfate until he was 15 days old. At 4 years of age, he again had an episode of generalized convulsion because of hypocalcemia. At this episode, his serum Ca, P, and intact PTH levels were 1.2 mmol/L, 2.6 mmol/L, and undetectable, respectively. He was diagnosed with primary hypoparathyroidism, and oral alfacalcidol and Ca lactate administration were started. He suffered repeated acute otitis media during infancy and was affected with empyema and bacterial meningitis at 4 years of age. Hypogammaglobulinemia was found, and he was administered gamma globulin intermittently. At 12 years of age, he was referred to another hospital for further investigation. His height was 99 cm (−6.3 SD), and his weight was 16.2 kg (−3.3 SD). He had normal intelligence with an intelligence quotient score of 105. Brain CT revealed fine calcification in the basal ganglia. Based on clinical manifestations of proportionate short stature, medullary stenosis of the long bones, a 4.2 × 1.8-cm opening of his anterior fontanelle, and eye abnormalities (hypermetropia, amblyopia, and pseudopapilledema), he was diagnosed with KCS2. Mg loading and Ca restriction tests revealed that his hypoparathyroidism was secondary to hypomagnesemia. The patient was then changed from vitamin D and Ca lactate to magnesium sulfate treatment, which successfully corrected his serum Ca levels.

We recruited these 4 Japanese patients with clinically diagnosed typical sporadic KCS2 (Fig. 1). Supplemental Table S1{TBL S1} summarizes the clinical characteristics of the 4 patients. We obtained peripheral blood samples from all 4 patients, together with those of 9 unaffected parents or siblings, with informed consent for DNA analysis (Fig. 1). The study was performed with the approval of the Ethics Committee of The University of Tokyo and of each institution where the samples

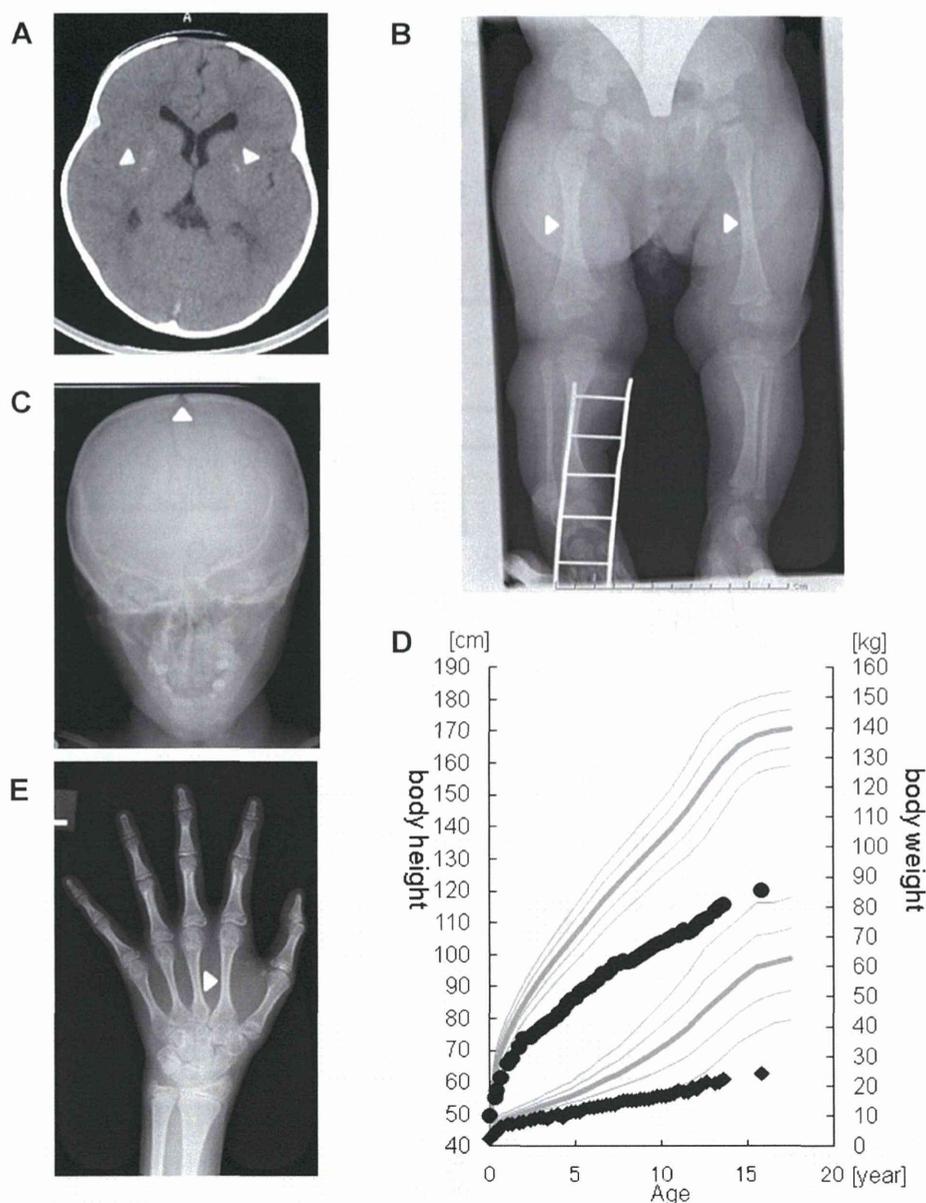


**Fig. 1.** Four pedigrees analyzed in this study, showing the chromatograms of Sanger sequencing reactions of the *FAM111A* mutation in patients and family members. Data were obtained by Sanger sequencing during the confirmation process. All mutations were checked by bidirectional sequencing. In each pedigree, a black symbol represents the proband, a square indicates a male, and a circle shows a female. In the chromatogram, black letters indicate the wild-type nucleotide sequence. Nucleotides in red indicate mutations. R569H was identified in all probands but not in any of the unaffected family members.

were collected, and conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. Genomic DNA was extracted from peripheral white blood cells of the patients and family members using a QIAamp DNA Blood Midi Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Healthy Japanese volunteers were recruited, and DNA was extracted with informed consent.

#### Exome sequencing

Exome sequences were enriched using a TruSeq Exome Enrichment Kit (Illumina, San Diego, CA, USA) from 1  $\mu$ g of genomic DNA, according to the manufacturer's instructions. The captured DNA samples were subjected to massively parallel



**Fig. 2.** Radiographic studies and growth charts of probands. (A) Brain computed tomography of patient I-1. The arrowheads indicate calcification in the basal ganglia. (B) Radiograph of patient I-1 at diagnosis. Cortical thickening and medullary stenosis are evident. The object shown in the right leg is used for fixing a peripheral catheter. (C) Radiograph of patient II-4 at age 9 years. It is of note that the anterior fontanelle is open. (D) Growth chart of patient II-4 superimposed on the standard growth chart for a Japanese boy. Black circles indicate the patient's height, and black squares indicate his weight. (E) Radiograph of patient III-9. Cortical thickening and medullary stenosis can be observed.

sequencing (100-bp paired-end reads) on an Illumina HiSeq2000 sequencing system (Illumina). An average of 95 million reads of the sequence data was obtained for each individual. On an average, 98.50% of the total bases were mapped to the reference genome with a mean coverage of  $140.5 \times$ , which encompassed 91.94% of the targeted regions with coverage  $>10 \times$  (Supplemental Table S2). [TBL S2] The Burrows-Wheeler Aligner (BWA) package<sup>(14)</sup> and SAMtools<sup>(15)</sup> were used as default settings for alignment of raw reads and detection of single-nucleotide variants (SNVs) and indels. Subsequently, SNVs and indels were

filtered with three trio samples (ie, pedigrees I, II, and III) (Supplemental Fig. S1). We extracted both homo/heterozygous nonsynonymous coding variants, which were called in the proband, and filtered these candidates using the following three steps:

Step 1: Using candidate de novo mutations that are homozygous references in both parents and are supported by 10 or more high-quality reads at the mutated sites for every trio member.

Step 2: Using reliable homozygous references in each parent such that the likelihood of heterozygosity,  $nC_i (1/2)^i (1/2)^{n-i}$ , is less than that of homozygosity,  $nC_i (999/1000)^i (1/1000)^{n-i}$ , where the average error rate is assumed to be 1/1000,  $n$  represents the number of total reads, and  $i$  is the number of reads consistent with the reference. One may have an impression that this condition does not often hold true; however, we often observed cases that violated this condition, especially when the reference base was mutated into one of the other three bases with an almost equal probability.

Step 3: Using reliable de novo mutations of the proband such that the number of alternative allele reads was at least 30% among the total reads, which is the condition proposed in a recent report.<sup>(16)</sup>

### Sanger sequencing

Sanger sequencing was performed to detect *TBCE* (KCS1) and validate the presence of each variant detected by exome sequencing in patients with KCS2 and the absence of each in the genomes of the parents and siblings. The entire coding region and exon–intron boundaries of *TBCE* and *FAM111A* were amplified from genomic DNA by polymerase chain reaction (PCR) using the designed PCR primers (Supplemental Table S3). [TBL S3] Subsequently, PCR products were sequenced using an ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and the forward and reverse primers used for PCR amplification. Direct sequencing in both directions was performed on an autosequencer (PE Applied Biosystems 3130 × 1, Genetic Analyzer).

### *FAM111A* mRNA expression analysis

Total RNA was prepared using ISOGEN reagent (Nippon Gene, Osaka, Japan), according to the manufacturer's instructions, from peripheral white blood cells of the patients and family members. Total RNA (4 μg) was used to synthesize cDNA with the SuperScript Preamplification System for first-strand cDNA synthesis (Life Technologies, Rockville, MD, USA). mRNA levels were measured using an ECO real-time PCR system (Illumina) and KAPA SYBR Fast qPCR Kit (Kapa Biosystems, Woburn, MA, USA) using the following primer pairs: FAM111Ae5-2F and FAM111Ae5-2R; FAM111Ae5-3F and 5'-CCTCATCACTCATTTCTACATCC-3'; GAPDH, 5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3' (F) and 5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3' (R). The relative mRNA level was calculated using an arithmetic formula based on the difference between the threshold cycle of a given target cDNA and that of an endogenous reference cDNA. Direct sequencing of the RT-PCR products was performed by Sanger sequencing as for DNA samples.

## Results

We first confirmed by Sanger sequencing that none of the 4 patients had *TBCE* mutations. This finding, together with the fact that all the patients were of normal intelligence, distinguishes these patients from patients with KCS1.

We hypothesized that these sporadic cases may be caused by de novo mutations in novel nonsynonymous coding variants. Whole exome sequencing was performed for 3 patients (I-1, II-4, and III-9; Fig. 1) and their parents (I-2, I-3, II-5, II-6, III-10, and III-11; Fig. 1). Statistical data of exome sequencing experiments are

shown in Supplemental Table S2. The candidate variants were selected according to the processes described in Materials and Methods based on the de novo mutation detection pipeline designed in the present study (Supplemental Fig. S1). Supplemental Table S4 [TBL S4] summarizes the results of filtering to detect candidate genes for KCS2. To select variants as candidate mutations for KCS2, variations that caused amino acid substitution were extracted, which resulted in 11,024 (pedigree I), 10,828 (pedigree II), and 11,020 (pedigree III) SNVs and indels. After three filtering steps, 5 (pedigree I), 5 (pedigree II), and 6 (pedigree III) SNVs were identified. Among the candidate genes filtered using the three aforementioned filtering steps, only one single gene, *FAM111A* (NM\_001142519.1), was shared among all 3 families. Sanger sequence analysis of all exons of *FAM111A* confirmed an identical c.1706G > A heterozygous mutation in exon 5 in all 3 patients (Fig. 1). This mutation is predicted to result in substitution of arginine to histidine in codon 569 (R569H). None of the unaffected family members had this mutation, indicating that R569H was a de novo mutation. This mutation was also found in an additional unrelated patient (IV-13).

R569H is not present in 373 Japanese healthy control subjects of an in-house exome database, and not in another 100 alleles from 50 unrelated healthy Japanese individuals by Sanger sequencing. It was also not found in the Japanese SNP control database established by the National Bioscience Data Base Center that has 1 million genome-wide SNPs of 700 samples ([http://gwas.biosciencedbc.jp/snpdb/snp\\_top.php](http://gwas.biosciencedbc.jp/snpdb/snp_top.php)), nor among 6500 samples listed on the exome variant server (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>), implying that the minor allele frequency is less than 0.01% in these data. However, one SNP was found in the 1000 Genomes database at R569 (rs184251651), which results in substitution to "cysteine" (minor allele frequency 0.1%).

We assessed the functionality of the R569H mutation using the Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT) (<http://sift.jcvi.org>) and Polymorphism Phenotyping 2 (PolyPhen2) (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2>) tools, by homology modeling and threading. These in silico studies predicted R569H as "tolerated" and "benign," respectively.

We analyzed the expression levels of *FAM111A* mRNA in peripheral white blood cells by real-time PCR. *FAM111A* expression levels in the patients were comparable with those in unaffected family members and normal controls (data not shown). We also found that mutant and wild-type *FAM111A* were equivalently expressed in the patients, which were identified by sequencing the reverse-transcribed PCR products.

## Discussion

In the present study, we identified *FAM111A* as the gene responsible for KCS2 by applying an exome sequencing strategy, and we identified a heterozygous identical de novo *FAM111A* mutation, R569H, in 4 Japanese patients with KCS2. While preparing this article, another independent research group from Switzerland reported similar findings following whole exome sequencing of the patients.<sup>(13)</sup> They reported that all 5 clinically diagnosed KCS2 patients had de novo *FAM111A* mutations. Most interestingly, 4 of the 5 patients from different countries had the same R569H mutation as detected in our patients. Our 4 pedigrees are unrelated to each other and live in different areas in Japan. Moreover, the parents of the 3 patients did not have the mutation, suggesting that this recurrent mutation was caused by sporadic mutation. Taken together, these two independent

studies confirm that *FAM111A* is the causative gene for KCS2, and R569H is the hot spot mutation of KCS2.

*FAM111A* encodes a previously uncharacterized protein consisting of 611 amino acids. The carboxy-terminal half of the protein has homology to trypsin-like peptidases, and the catalytic triad specific to such peptidases is conserved.<sup>(17)</sup> Transcriptional expression of *FAM111A* is ubiquitous according to the human protein atlas (<http://www.proteinatlas.org/ENSG00000166801/normal>). It is expressed in the parathyroid gland and bone, but the expression levels are similar to those in other tissues. *FAM111A* has 35% amino acid homology to *FAM111B*, a paralog located on 11q12.1 at a distance of only 16 kb from *FAM111A*. The functions of *FAM111A* and *FAM111B* are largely unknown. A recent report showed that *FAM111A* functions as a host range restriction factor and is required for viral replication and gene expression by specifically interacting with Simian Virus 40 large T antigen (LT).<sup>(17)</sup> In addition, *FAM111A* mRNA and protein levels have been shown to be regulated in a cell cycle-dependent manner with the lowest expression during the G0 or quiescent phase and peak expression during the G2/M phase.<sup>(17)</sup> Another recent report revealed that variants in the region including *FAM111A* and *FAM111B* were associated with prostate cancer.<sup>(18)</sup> However, the clinical course of disease in our 4 patients revealed neither increased viral infections nor carcinogenesis up to early adulthood.

In silico analyses suggested that the de novo mutation (R569H) would not significantly affect the function of *FAM111A*. We also found that the mutant *FAM111A* mRNA was expressed similarly to the wild type in peripheral blood cells. This raises the question of how this mutation causes KCS2. One hypothesis is that this mutation does not cause loss of function of the protein but rather modulates its peptidase activity for a particular target peptide in a mutant-specific way. Another possibility is that *FAM111A* functions with some physiological partner(s) and the disease occurs as a result of specific modulation of this putative network. This may fit the observation that *FAM111A* is regulated in a cell-dependent manner and interacts with the LT C-terminal region.<sup>(17)</sup> We speculate that one of the candidate partner proteins is TBCE because KCS1 and KCS2 share distinctive phenotypic features: skeletal dysmorphic features and primary hypoparathyroidism.

Some diseases are caused by specific mutations of a single gene. Some mutations may cause a gain-of-function effect, as in achondroplasia or McCune–Albright syndrome,<sup>(19,20)</sup> whereas others have an unknown function, as in Caffey syndrome caused by mutations in *COL1A1*<sup>(21)</sup> or in several diseases related to *FGFR3*. In this study, we found that a specific mutation (R569H) of *FAM111A* would lead to KCS2. Intriguingly, one SNP was found in the 1000 Genomes database at R569 (rs184251651), which results in substitution to “cysteine.” This SNP has been reported to have minor allele frequency of 0.1% (only one allele) and is not validated. Moreover, the absence of the SNP in 6500 samples in the exome variant server suggests a possibility of sequencing error in the database. Nevertheless, it might be speculated that a specific change to “histidine” may lead to an unidentified function of this protein resulting in KCS2, which is not caused by other amino acids. This hypothesis will be supported by the fact that this amino acid is not well conserved among various species (Fig. 3).

It is reported that 95% and 97% of KCS1 cases had prenatal and postnatal growth retardation, and mental retardation, respectively.<sup>(22)</sup> In contrast, most of the reported KCS2 patients, including our patients with *FAM111A* mutations, had normal

	R569H
<i>Homo sapiens</i>	GFAYTYQNETR[S]IIEFGSTME
<i>Macaca mulatta</i>	GFAYTYQNQTR[S]IIEFGSTME
<i>Ornithorhynchus anatinus</i>	GYLHTYRRRVR[S]IIEIGYSMD
<i>Equus caballus</i>	GFPYLYPNTVH[S]TIIIEFGPTLE
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	GFAYEYQHEIS[S]IIEFGSAMK
<i>Loxodonta africana</i>	GYPYKYQNGES[S]IIEFGSAMK
<i>Cricetulus griseus</i>	GYTCEYQSGV[S]NIIEFGSTME
<i>Rattus norvegicus</i>	GITCTDQNGV[S]NIIEFGTME
<i>Mus musculus</i>	GITCTYQAGV[S]NIIEFGSIME
<i>Cavia porcellus</i>	GCTEKYEGETE[S]HIIEFGSAMQ
<i>Anolis cavolinestis</i>	GYLYRGKCKE[S]IIEFGYSMM

**Fig. 3.** Homologous comparison of the altered protein. Letters in the rectangular box indicate the human *FAM111A* R569 residue. It is of note that R569 is not well conserved among various species.

birth weight and length and normal intelligence (Supplemental Table S1).<sup>(13)</sup> These phenotypic differences between KCS1 and KCS2 suggest that the *FAM111A* mutation does not affect bone development and height gain in the fetus but becomes important postnatally. It also suggests that the *FAM111A* mutation does not affect mental development. Now that *FAM111A* has been identified as a causative gene for KCS2, further studies on the physiological function of *FAM111A* and TBCE should be performed to uncover the phenotypic differences between these two types.

There are several human diseases, as well as mouse models of hypoparathyroidism, caused by aberrations in the cascade of genes indispensable for the development and regulation of the parathyroid gland.<sup>(23,24)</sup> To date, *FAM111A* is not known to relate to any of these genes. There have been only a few reports describing the pathophysiology of hypoparathyroidism in KCS. Absence of the parathyroid glands has been reported in some patients with KCS2 and KCS1.<sup>(25,26)</sup> In contrast, some patients do not have hypoparathyroidism from early infancy, suggesting the presence of some parathyroid gland as in our patient I-1.<sup>(4,27)</sup> Furthermore, hypoparathyroidism may be secondary to hypomagnesemia as in our patient IV-13. Considering the fact that all of our 4 patients as well as another reported KCS2 case had hypomagnesemia,<sup>(4)</sup> *FAM111A* might be involved in magnesium homeostasis. Although further investigation is necessary to reveal the cause of hypoparathyroidism in KCS2, this study shows that a new gene, *FAM111A*, is indispensable for PTH development and/or regulation.

In conclusion, our finding that all 4 Japanese KCS2 patients we tested have the same de novo mutation (R569H) of *FAM111A* indicates that KCS2 is caused by a heterozygous mutation of *FAM111A*, and R569H is the hot spot mutation in patients with KCS2. Although the function of *FAM111A* is largely unknown, this study provides evidence that *FAM111A* is a key molecule for normal bone development, height gain, and PTH development and/or regulation. Our finding further creates a new research area in the fields associated with shared phenotypic features in KCS and different phenotypes between KCS1 and KCS2.

## Disclosures

TI has received research grants and speaker’s fees from Novo Nordisk and has received speaker’s fees from Eli Lilly. SK has received research grants and speaker’s fees from Novo Nordisk,