

表 3

TABLE III. Comparison of Clinical Features of Patients Caused by Mutations in Each Gene (Growth, Craniofacial Features, and Skeletal Features)

Genes	SMARCB1	SMARCA4	SMARCE1	ARID1A	Total
Growth and feeding					
Prenatal growth					
Birth weight (mean SD score)	-1.5 (n=11)	-1.2 (n=11)	-1.8 (n=2)	-0.8 (n=6)	-1.3 (n=31)
Birth length (mean SD score)	-1.5 (n=6)	-1.9 (n=6)	-2.1 (n=2)	-1.3 (n=2)	-1.7 (n=17)
Birth OFC (mean SD score)	-0.8 (n=6)	-1.1 (n=6)	-2.1 (n=2)	2.2 (n=1)	-0.9 (n=15)
Postnatal growth at the last observation					
Weight (mean SD score)	-2.4 (n=9)	-1.9 (n=12)	-3.3 (n=2)	-2.9 (n=5)	-2.3 (n=28)
Height (mean SD score)	-4.1 (n=11)	-2.4 (n=12)	-3.8 (n=3)	-3.3 (n=7)	-3.3 (n=33)
OFC (mean SD score)	-3.1 (n=10)	-2.9 (n=11)	-4.6 (n=1)	-1.2 (n=6)	-2.6 (n=28)
Sucking/feeding difficulty					
Tube feeding	100% (11/11)	92% (11/12)	100% (3/3)	100% (7/7)	99% (32/33)
Tube feeding	86% (6/7)	100% (5/5)	100% (2/2)	100% (6/6)	95% (19/20)
Weaned off tube feeding	17% (1/6)	67% (2/3)	100% (2/2)	20% (1/5)	38% (6/16)
Craniofacial features					
Sparse sculp hair	91% (10/11)	42% (5/12)	67% (2/3)	60% (3/5)	65% (20/31)
Hypertrichosis	73% (8/11)	100% (12/12)	100% (2/2)	100% (7/7)	91% (29/32)
Thick eyebrows	100% (11/11)	75% (9/12)	67% (2/3)	75% (6/8)	82% (28/34)
Long eyelashes	100% (11/11)	83% (10/12)	50% (1/2)	100% (6/6)	90% (28/31)
Ptosis	55% (6/11)	75% (9/12)	33% (1/3)	43% (3/7)	58% (19/33)
Nasal bridge					
Wide	55% (6/11)	0% (0/11)	0% (0/3)	80% (4/5)	60% (18/30)
Flat	18% (2/11)	45% (5/11)	33% (1/3)	0% (0/5)	27% (8/30)
Normal	18% (2/11)	36% (4/11)	33% (1/3)	20% (1/5)	27% (8/30)
Narrow	9% (1/11)	18% (2/11)	33% (1/3)	0% (0/5)	13% (4/30)
Philtrum					
Long	40% (4/10)	27% (3/11)	50% (1/2)	14% (1/7)	30% (9/30)
Short	0% (0/10)	45% (5/11)	50% (1/2)	29% (2/7)	27% (8/30)
Normal	20% (2/10)	18% (2/11)	0% (0/2)	14% (1/7)	17% (5/30)
Broad/long	10% (1/10)	9% (1/11)	0% (0/2)	43% (3/7)	17% (5/30)
Broad	20% (2/10)	0% (0/11)	0% (0/2)	0% (0/7)	7% (2/30)
Broad/short	10% (1/10)	0% (0/11)	0% (0/2)	0% (0/7)	3% (1/30)
Upper lip vermillion					
Thin	80% (8/10)	27% (3/11)	67% (2/3)	50% (3/6)	53% (16/30)
Normal	10% (1/10)	36% (4/11)	33% (1/3)	50% (3/6)	30% (9/30)
Everted	0% (0/10)	36% (4/11)	0% (0/3)	0% (0/6)	13% (4/30)
Thick	10% (1/10)	0% (0/11)	0% (0/3)	0% (0/6)	3% (1/30)
Lower lip vermillion					
Thick	73% (8/11)	83% (10/12)	100% (3/3)	86% (6/7)	82% (27/33)
Normal	27% (3/11)	17% (2/12)	0% (0/3)	14% (1/7)	18% (6/33)
Palatal abnormalities					
Cleft palate	20% (2/10)	33% (4/12)#	50% (1/2)	33% (2/6)	30% (9/30)
Skeletal-limb features					
Hypoplastic 5th fingers or toes	73% (8/11)	100% (12/12)	100% (3/3)	86% (6/7)	88% (29/33)
Hypoplastic 5th fingernails or toenails	100% (11/11)	100% (12/12)	100% (3/3)	88% (7/8)	97% (33/34)
Hypoplastic other fingernails and toenails	70% (7/10)	50% (5/10)	67% (2/3)	75% (6/8)	65% (20/31)
Prominent interphalangeal joints	44% (4/9)	27% (3/11)	50% (1/2)	20% (1/5)	33% (9/27)
Prominent distal phalanges	75% (6/8)	50% (5/10)	33% (1/3)	20% (1/5)	50% (13/26)
Scoliosis	78% (7/9)	10% (1/10)	50% (1/2)	29% (2/7)	39% (11/28)

#. Submucous cleft palate was observed in another patient; SD, standard deviation

表 4

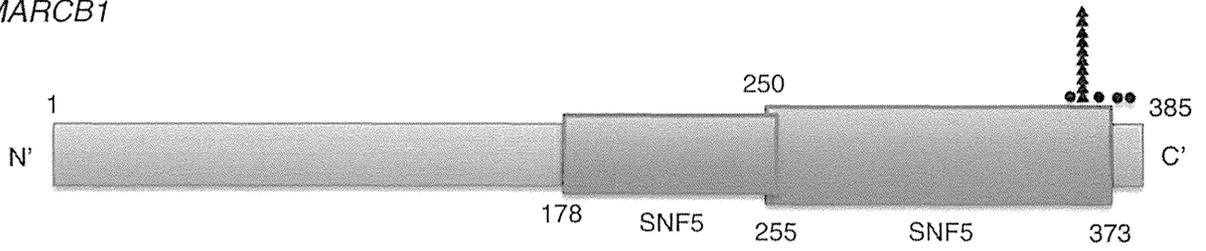
TABLE IV. Comparison of Clinical Features of Patients Caused by Mutations in Each Gene (Complications, Neurology, Development, and Behavior)

<i>Genes</i>	<i>SMARCB1</i>	<i>SMARCA4</i>	<i>SMARCE1</i>	<i>ARID1A</i>	<i>Total</i>
<i>Internal complications</i>					
Cardiovascular	45% (5/11)	42% (5/12)	67% (2/3)	38% (3/8)	15/34 (44%)
Gastrointestinal	70% (7/10)	67% (8/12)	50% (1/2)	57% (4/7)	65% (20/31)
Genitourinary	45% (5/11)	25% (3/12)	0% (0/1)	29% (2/7)	32% (10/31)
Hernia	88% (7/8)	55% (6/11)	0% (0/2)	25% (1/4)	56% (14/25)
<i>Hearing and vision</i>					
Hearing impairment	75% (6/8)	33% (4/12)	50% (1/2)	33% (2/6)	46% (13/28)
Visual impairment	56% (5/9)	45% (5/11)	100% (1/1)	75% (3/4)	56% (14/25)
<i>Immunology</i>					
Frequent infection	89% (8/9)	67% (8/12)	67% (2/3)	60% (3/5)	72% (21/29)
<i>Neurology</i>					
Hypotonia	73% (8/11)	73% (8/11)	33% (1/3)	88% (7/8)	73% (24/33)
Seizures	80% (8/10)	17% (2/12)	67% (2/3)	29% (2/7)	44% (14/32)
Structural CNS abnormalities	100% (9/9)	86% (6/7)	100% (2/2)	88% (7/8)	92% (24/26)
<i>Development and intelligence</i>					
Developmental delay and ID					
Severe	73% (8/11)	55% (6/11)	33% (1/3)	57% (4/7)	59% (19/32)
Moderate to severe	9% (1/11)	0% (0/11)	0% (0/3)	14% (1/7)	6% (2/32)
Moderate	9% (1/11)	36% (4/11)	67% (2/3)	0% (0/7)	22% (7/32)
Mild	9% (1/11)	9% (1/11)	0% (0/3)	29% (2/7)	13% (4/32)
Speech impairment					
No words	80% (8/10)	36% (4/11)	67% (2/3)	83% (5/6)	63% (19/30)
Several words	10% (1/10)	18% (2/11)	0% (0/3)	0% (0/6)	10% (3/30)
Sentences	10% (1/10)	45% (5/11)	33% (1/3)	17% (1/6)	27% (8/30)
<i>Behavior</i>					
Behavioral abnormalities	50% (4/8)	88% (7/8)	50% (1/2)	60% (3/5)	65% (15/23)

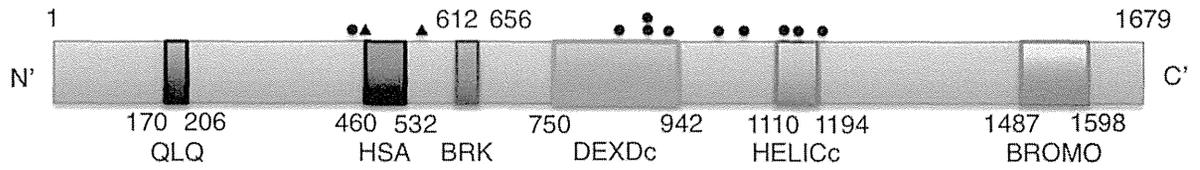
CNS, central nervous system; ID, intellectual disability

图 1

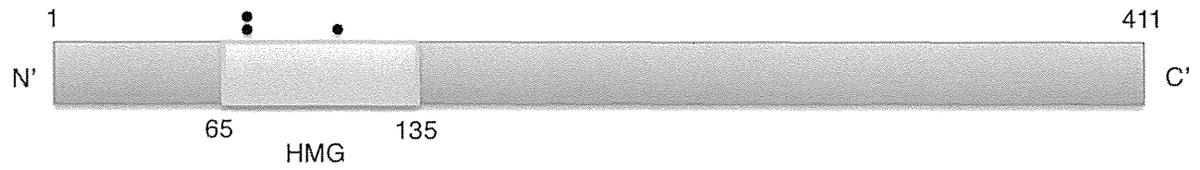
SMARCB1



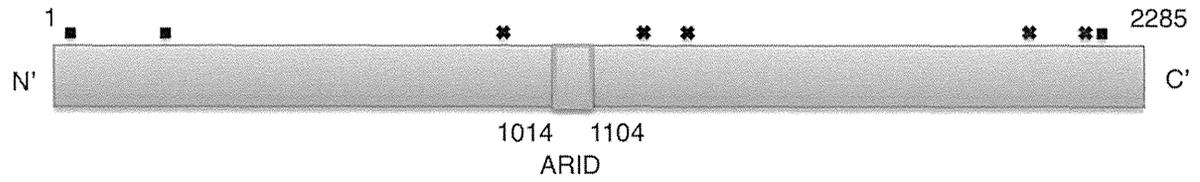
SMARCA4



SMARCE1



ARID1A

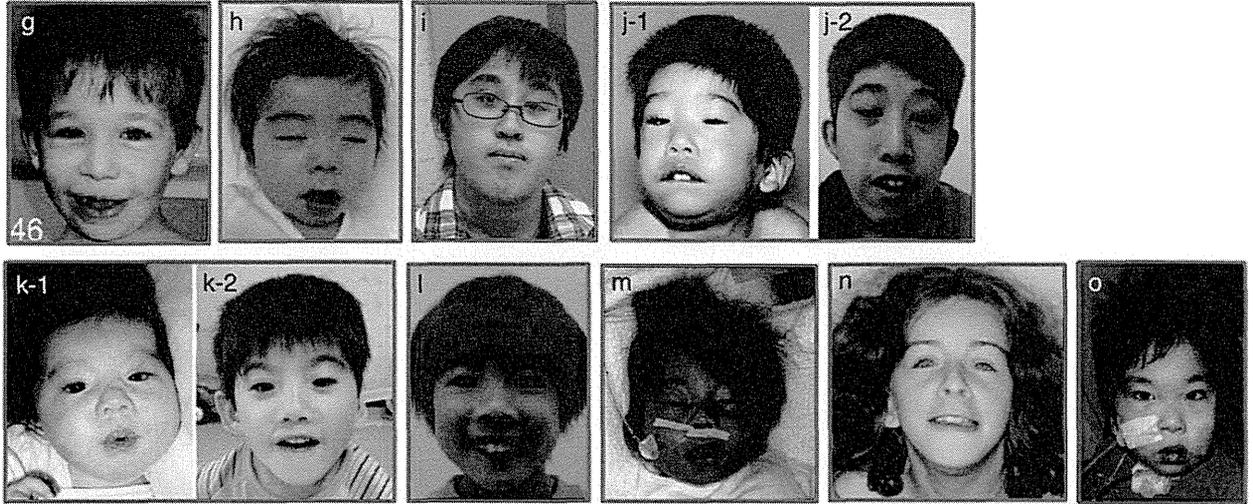


☒ 2

SMARCB1



SMARCA4



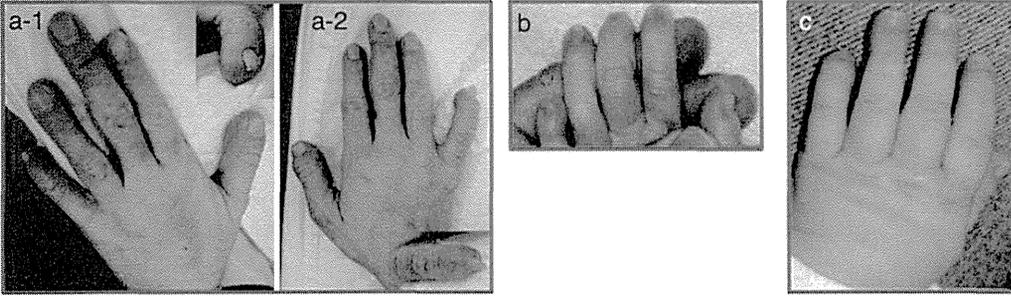
SMARCE1

ARID1A

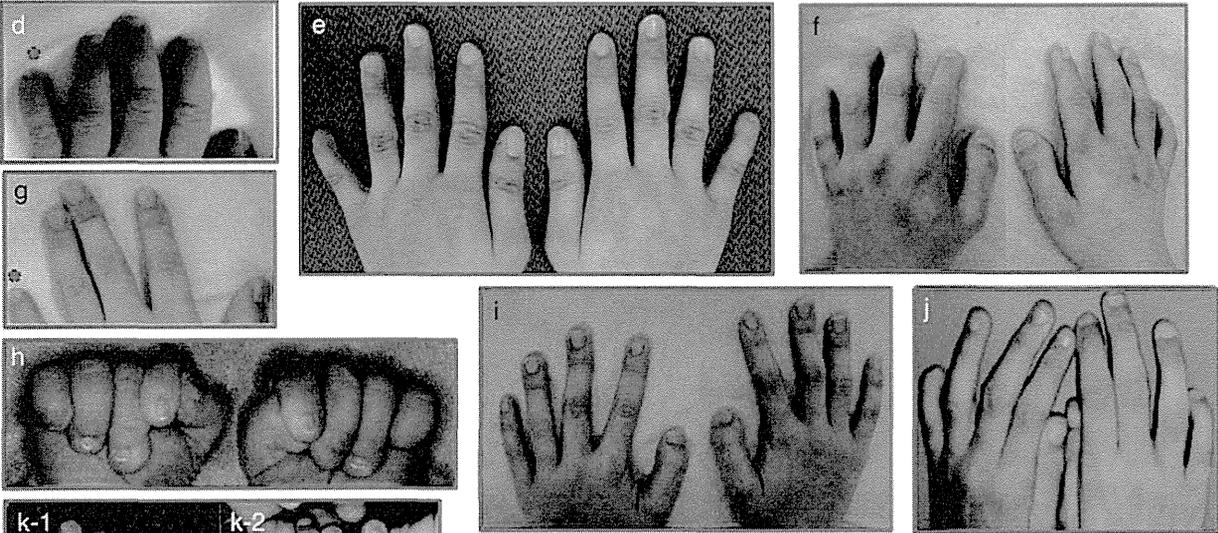


图 3

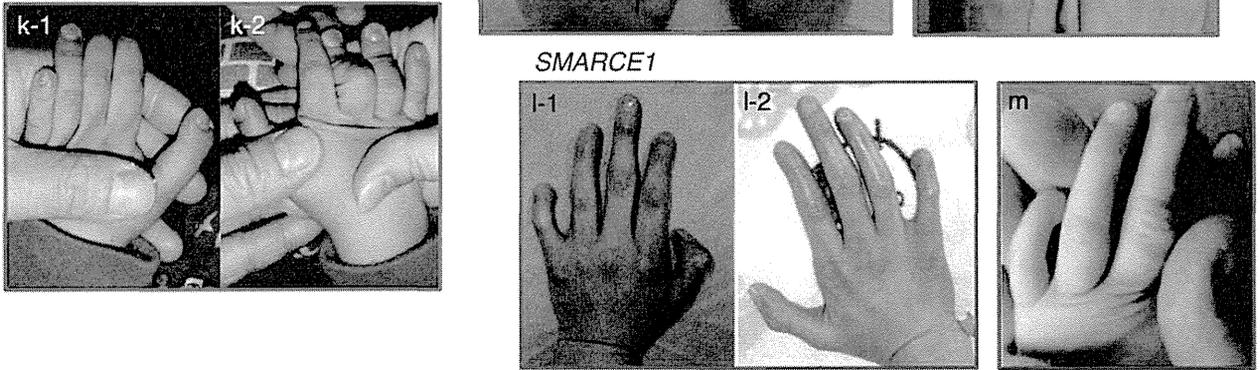
SMARCB1



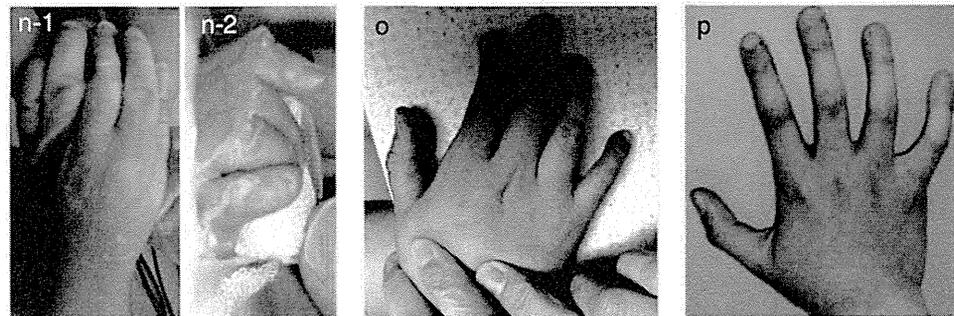
SMARCA4



SMARCE1

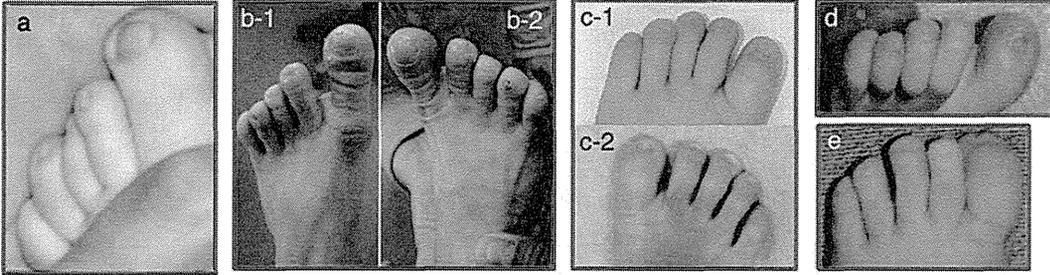


ARID1A

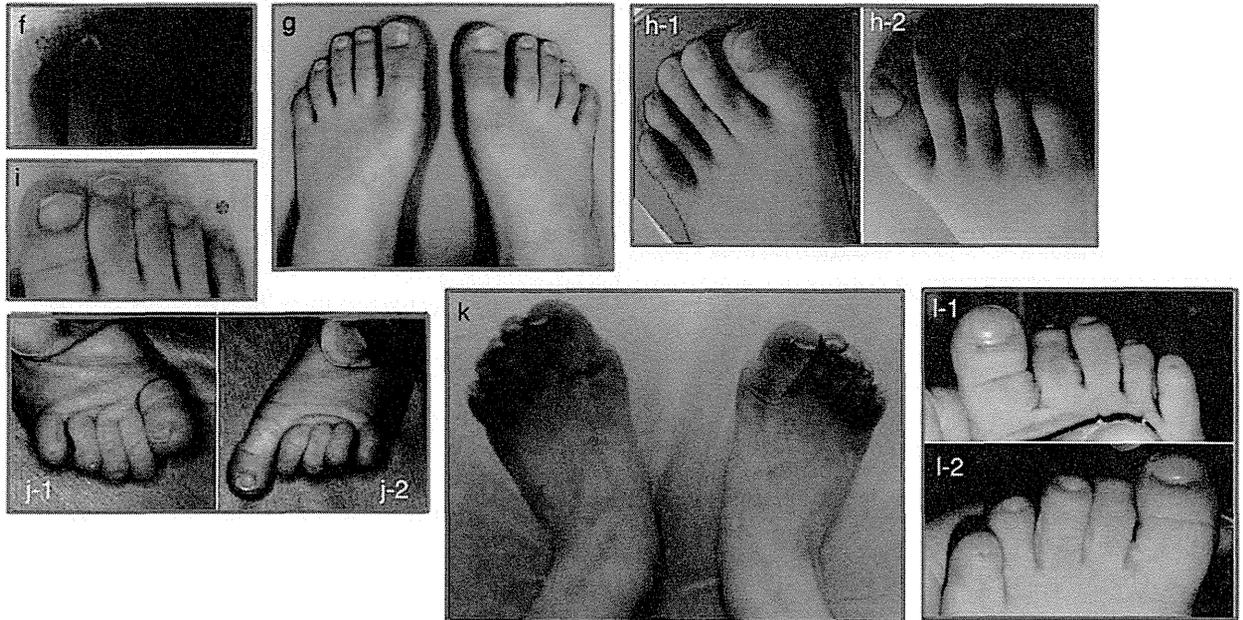


☒ 4

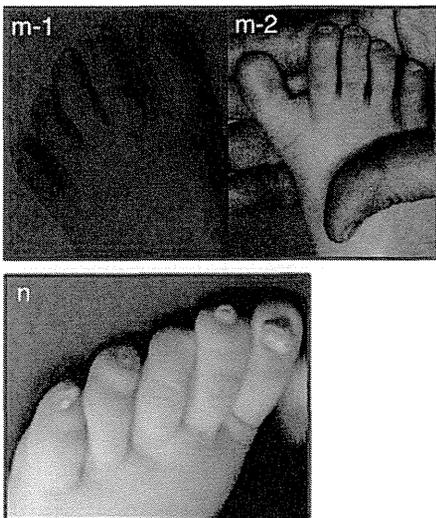
SMARCB1



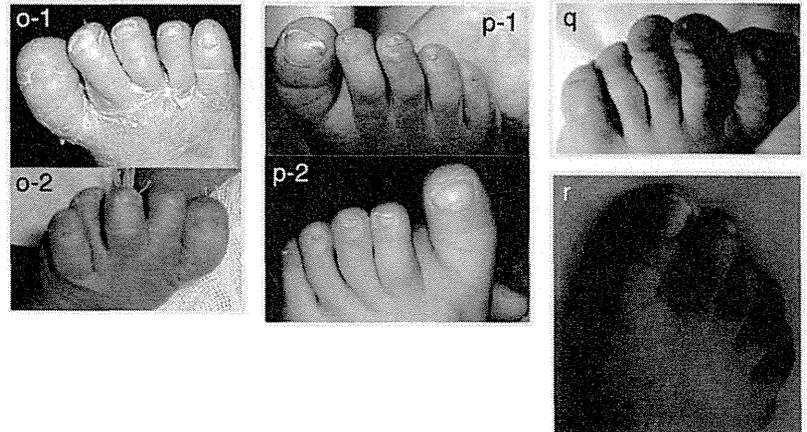
SMARCA4



SMARCE1



ARID1A



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

インプリンティング異常症

研究分担者 緒方勤 浜松医科大学小児科 教授

研究要旨

本研究班の目的は、国際標準に立脚した奇形症候群領域の診療指針を樹立することであり、われわれはヒトインプリンティング疾患を担当し、特に、シルバーラッセル症候群と第14染色体父性・母性ダイソミー関連疾患についてEuropean Imprinting Disorder partners (EUCID.net) (European network for Human Congenital Imprinting Disorders)と共同で、検討を行っている。

本年度は、第14染色体父性ダイソミー関連疾患について、第14染色体父性ダイソミー患者23例、エピ変異患者5例、様々な微細欠失患者6例を対象として詳細な臨床像を解析した。その概要は以下のとおりである。(1) 臨床症状は、第14染色体父性ダイソミー、エピ変異、微細欠失で同等であり、発症原因の主因はすべてに共通するRTL1の過剰発現（約2.5倍）である。(2) 豊満な頬と口唇の突出を伴う特徴的顔貌と、coat hanger angleの増加を伴う胸郭低形成は本疾患に特異的かつ長期（10歳以上）観察される所見である。(3) 胎児期成長、特に体重、はよく保たれ（これはマウスのデータから筋肉量の増加を反映すると推測される）、一方、出生後の成長は、嚥下困難や呼吸不全を反映して悪化する。(4) 胸郭低形成に一致して、ほぼ全例がレスピレーターによる呼吸管理を受けている（中央値1カ月）。(5) 臍帯ヘルニアなどの腹壁異常は全例で認められる。(6) 精神運動発達は例外なく低下している（DQ/IQ中央値55）。(6) 嚥下困難はほぼ全例に認められ、チューブ管理を要する（中央値6.5カ月）。(7) 3例の患者で肝芽腫が生じた。(8) 34例中8例が4歳までに死亡し、4例は呼吸器感染に伴う志望であった。(9) 胎盤過形成と羊水過多はほぼ必発の所見であり、羊水過多は胎盤過形成による産生増加と嚥下困難による消化管への吸収低下に起因する。

この成果は、本疾患の診断特異的所見や自然歴を明確とするものであり、本疾患の診療指針作成に大きく貢献すると期待される。なお、本疾患は、本臨床研究および過去のわれわれの遺伝学的研究成果から、EUCID.netによりKagami-Ogata syndrome (KOS14)という疾患名が与えられた。

A. 研究目的

本研究班の目的は、国際標準に立脚した奇形症候群領域の診療指針を樹立することである。この中で、われわれはヒトインプリンティング疾患を担当し、特に、シルバーラッセル症候群と第14染色体父性・母性ダイソミー関連疾患についてEuropean Imprinting Disorder partners (EUCID.net) (European network for Human Congenital Imprinting Disorders)と共同で、検討を行っている。

本年度は、第14染色体父性ダイソミー関連疾患について、詳細な臨床像を解明した。そして、過去のわれわれの遺伝学的研究成果と相まって、EUCID.netによりKagami-Ogata syndrome (KOS14)という疾患名が承認された。

B. 研究方法

対象：臨床的にKagami-Ogata syndrome (KOS14)-第14染色体父性ダイソミー関連疾患と診断された日本人患者34例である。内訳は第14染色体父性ダイソミー患者が23例、エピ変異患者が5例、様々な微細欠失患者が6例である。主治医に対し、詳細な臨床情報データシートを送り、臨床所見を聴取した。
遺伝学的解析：本研究の遂行にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針を遵守して行い、検体は、書面によるインフォームド・

コンセントを取得後に収集した。なお、下記の研究課題が、浜松医科大学倫理委員会で承認されていることを付記する。

成長障害における遺伝的原因の探索
先天性奇形症候群における遺伝的原因の探索
胎児・胎盤の成長・発達における遺伝および環境因子の検討
分子生物学的解析では、シークエンス解析、メチル化解析、マイクロサテライト解析、アレイCGH解析、MLPA解析など、現在なしうる解析を全て行った。

C. 研究結果

詳細な臨床症状は、表1のとおりである。また、第14染色体父性ダイソミー、エピ変異、種々の微細欠失において想定される遺伝子発現パターンは、図1のとおりである。

3グループの比較：第14染色体父性ダイソミー、エピ変異、微細欠失で同等であり、発症原因の主因はすべてに共通するRTL1の過剰発現（約2.5倍）と考えられる。

疾患特異的的症状：すべての症状のうち、豊満な頬と口唇の突出を伴う特徴的顔貌と、coat hanger angleの増加を伴う胸郭低形成は本疾患に特異的かつ長期（10歳以上）観察される所見であった。

Table 1. Clinical manifestations in 33 Japanese and one Irish patients with UPD(14)pat and related conditions (Kagami-Ogata syndrome)

	UPD(14)pat		Epimutations		Microdeletions			Total
					Subtype 1	Subtype 2	Subtype 3	Subtotal
	Pts 1-23 (n=23)	Pts 24-28 (n=5)	Pts 29-31 (n=3)	Pt 32 (n=1)	Pts 33-34 (n=2)	Pts 29-34 (n=6)	Pts 1-34 (n=34)	
Age at the last examination or death (y)	2.9 (0.0-15.0)	2.0 (0.8-5.5)	2.8 (0.8-8.9)	(Four days)	4.5 (3.8-5.1)	3.3 (0.0-8.9)	2.8 (0.0-15.0)	
Sex (male:female)	9:14	3:2	1:2	0:1	0:2	1:5	13:21	
<Molecular findings>								
IG-DMR of maternal origin	Absent	Methylated	Deleted	Unmethylated	Deleted			
MEG3-DMR of maternal origin	Absent	Methylated ^a	Deleted/methylated ^a	Deleted	Deleted			
DLK1 expression level	2 ×	2 ×	1 or 2 ×	2 × (1 ×) ^a	1 or 2 ×			
RTL1 expression level	~5 ×	~5 ×	~5 ×	~5 × (1 × or ~2.5 ×) ^a	~2.5 ×			
MEGs expression level	0 ×	0 ×	0 ×	0 × (1 × or 0 ×) ^a	0 ×			
<Pregnancy and delivery>								
Polyhydramnios	23/23	5/5	3/3	0/1	2/2	5/6	33/34	
Gestational age at Dx (w)	25 (14-30)	27.5 (22-30)	Unknown	...	21	21	25.5 (14-30)	
Amnioreduction	18/20	4/5	2/3	0/1	1/2	3/6	25/31	
Amnioreduction (>30 w)	18/18	4/4	2/2	...	1/1	3/3	25/25 ^p	
Placentomegaly ^b	14/17	4/4	3/3	0/1	2/2	5/6	23/27	
Prenatal Dx of thoracic abnormality	8/20 ^m	2/3	0/1	...	0/1	0/2	10/25	
Gestational age at Dx (w)	26 (22-33)	27.5 (25-30)	26 (22-33)	
Prenatal Dx of abdominal abnormality	6/18	3/3	1/1	...	0/1	1/2	10/23	
Gestational age at Dx (w)	26 (22-28)	25	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown	25.5 (22-28)	
Gestational age (w)	34.5 (24-38)	35 (30-37)	30 (27-33)	28	32.5 (30-35)	30 (27-35)	34 (24-38)	
Premature delivery (<37 w)	17/23	4/5	3/3	1/1	2/2	6/6	27/34	
Delivery (Caesarean:Vaginal)	15:8	4:1	2:1	0:1	2:0	4:2	23:11	
Medically assisted reproduction	1/18	0/1	0/1	Unknown	0/1	0/2	1/21	
<Growth pattern>								
Prenatal growth failure ^c	0/23	0/5	0/3	0/1	0/2	0/6	0/34	
Prenatal overgrowth ^d	13/23	3/5	3/3	0/1	1/2	4/6	20/34	
Birth length (patient number)	21	5	1	1	2	4	30	
SD score, median (range)	-0.3 (-1.7 ~ +3.0)	-0.5 (-0.9 ~ +1.4)	0.0	-1.1	+0.7 (-0.1 ~ +1.5)	-0.1 (-1.1 ~ +1.5)	=0 (-1.7 ~ +3.0)	
Actual length (cm), median (range)	45.0 (30.6 ~ 51.0)	43.5 (41.0 ~ 50.0)	43.0	34.0	43.5 (42.0 ~ 45.0)	42.5 (34.0 ~ 45.0)	44.7 (30.6 ~ 51.0)	
Birth weight (patient number)	23	5	3	1	2	6	34	
SD score, median (range)	-2.2 (-0.1 ~ +8.8)	+2.2 (+0.5 ~ +3.7)	+2.8 (+2.4 ~ +3.7)	+1.5	+1.7 (+0.9 ~ +2.5)	+2.5 (+0.9 ~ +3.7)	+2.3 (-0.1 ~ +8.8)	
Actual weight (cm), median (range)	2.79 (1.24 ~ 3.77)	2.9 (1.61 ~ 3.28)	2.04 (1.30 ~ 2.84)	1.32	2.24 (1.55 ~ 2.94)	1.79 (1.30 ~ 2.94)	2.79 (1.24 ~ 3.77)	
Postnatal growth failure ^e	7/20	2/5	2/3	...	0/2	2/5	11/30	
Postnatal overgrowth ^f	1/20	1/5	0/3	...	0/2	0/5	2/30	
Present stature (patient number)	20	5	3	...	1	4	29	
SD score, median (range)	-1.6 (-8.7 ~ +1.1)	-1.8 (-7.1 ~ +0.9)	-2.2 (-3.3 ~ -1.3)	...	-1.6	-1.9 (-3.3 ~ -1.3)	-1.6 (-8.7 ~ +1.1)	
Present weight (patient number)	20	5	3	...	2	5	30	
SD score, median (range)	-1.0 (-6.0 ~ +2.4)	-0.6 (-5.5 ~ +4.0)	-1.3 (-2.2 ~ =0)	...	-1.1 (-1.3 ~ -0.9)	-1.3 (-2.2 ~ =0)	-1.0 (-6.0 ~ +4.0)	
<Craniofaciocervical features>								
Frontal bossing	17/22	4/5	1/3	1/1	2/2	4/6	25/33	
Hairy forehead	18/22	1/5	3/3	1/1	0/2	4/6	23/33	
Blepharophimosis	18/22	3/5	2/3	0/1	1/2	3/6	24/33	
Small ears	8/21	2/5	1/3	1/1	0/2	2/6	12/32	
Depressed nasal bridge	23/23	5/5	3/3	0/1	1/2	4/6	32/34	
Anteverted nares	19/22	4/5	3/3	0/1	2/2	5/6	28/33	
Full cheek	20/21	4/4	2/2	0/1	1/1	3/4	27/29	
Protruding philtrum	23/23	5/5	3/3	0/1	2/2	5/6	33/34	
Puckered lips	11/21	3/5	3/3	0/1	0/2	3/6	17/32	
Micrognathia	20/21	5/5	3/3	1/1	1/2	5/6	30/32	
Short webbed neck	22/22	5/5	3/3	1/1	2/2	6/6	33/33	
<Thoracic abnormality>								
Small bell-shaped thorax in infancy ^g	23/23	5/5	3/3	1/1	2/2	6/6	34/34	
Coat-hanger appearance in infancy ^h	23/23	5/5	3/3	1/1	2/2	6/6	34/34	
Laryngomalacia	8/20	2/5	2/3	...	0/1	2/4	12/29	
Tracheostomy	7/21	1/4	0/2	...	2/2	2/4	10/29	
Mechanical ventilation	21/23	5/5	3/3	1/1	2/2	6/6	32/34	
Duration of ventilation (m) ⁱ	1.2 (0.1-17)	0.7 (0.1-0.9)	5 (0.22-10)	...	1.5 (1-2)	2 (0.2-10)	1.0 (0.1-17)	
<Abdominal wall defects>								
Omphalocele	7/23	2/5	1/3	1/1	0/2	2/6	11/34	
Diastasis recti	16/23	3/5	2/3	0/1	2/2	4/6	23/34	
<Developmental delay>								
Developmental delay	21/21	5/5	3/3	...	2/2	5/5	31/31	
Developmental/intellectual quotient	55 (29-70)	52 (48-56)	Unknown	Unknown	Unknown	...	55 (29-70)	
Delayed head control (> 4 m) ^j	14/16	4/4	1/1	...	1/1	2/2	20/22	
Age at head control (m) ^k	7 (3-36)	7 (6-11)	6	...	6	6 (6)	7 (3-36)	
Delayed sitting without support (> 7 m) ^j	16/16	4/4	2/2	...	1/1	3/3	23/23	
Age at sitting without support (m) ^k	12 (8-25)	11.5 (10-20)	22.5 (18-27)	...	18	18 (18-27)	12 (8-27)	
Delayed walking without support (>14 m) ^j	17/17	3/3	2/2	...	2/2	4/4	24/24	
Age at walking without support (m) ^k	25.5 (20-49)	25 (22-39)	60 (30-90)	...	24	30 (24-90)	25.5 (20-90)	
<Other Features>								
Feeding difficulty	20/21	5/5	3/3	...	2/2	5/5	30/31	
Duration of tube feeding (m) ^l	6 (0.1-72)	8.5 (0.5-17)	59.5 (30-89)	...	51	51 (30-89)	7.5 (0.1-89)	
Joint contractures	14/22	3/5	3/3	0/1	0/2	3/6	20/33	
Constipation	12/20	3/4	1/2	...	0/2	1/4	16/28	
Kyphoscoliosis	9/21	3/5	1/2	0/1	0/1	1/4	13/30	
Coxa valga	6/21	1/5	3/3	0/1	1/2	4/6	11/32	
Cardiac disease	5/22	1/5	0/3	1/1	1/2	2/6	8/33	
Inguinal hernia	5/22	1/5	2/3	0/1	0/2	2/6	8/33	
Seizure	1/21	0/5	0/3	0/1	0/2	0/6	1/32	
Hepatoblastoma	3/23	0/5	0/3	0/1	0/2	0/6	3/34	
<Mortality within the first five years>								
Alive:Deceased	18:5	5:0	2:1	0:1	1:1	3:3	26:8	
<Parents>								
Paternal age at childbirth (y)	35 (24-47)	30 (26-36)	37 (34-39)	25	31.5 (27-36)	35 (25-39)	34 (24-47)	
Maternal age at childbirth (y)	31 (25-43)	28 (25-35)	31 (27-36)	25	30.5 (28-33)	29.5 (25-36)	31 (25-43)	
Advanced childbearing age (≥35 y)	8/23	1/5	1/3	0/1	0/2	1/6	8/34	

Patient #32 is Irish, and the remaining patients are Japanese; the Irish patient has also been examined by Beygo *et al.*⁴

y: year; m: month; w: week; and Dx: diagnosis;

Age data are expressed by median and range.

The denominators indicate the number of patients examined for the presence or absence of each feature, and the numerators represent the number of patient assessed to be positive for that feature; thus, differences between the denominators and numerators denote the number of patients evaluated to be negative for the feature.

^a For details, see Supplementary Figure S1 and Supplementary Figure S2.

^b Placental weight > 120% of the gestational age-matched mean placental weight.³⁴

^c Birth length and/or birth weight < -2 SD of the gestational age- and sex-matched Japanese reference data (<http://jspe.umin.jp/medical/keisan.html>).

^d Birth length and/or birth weight > +2 SD of the gestational age- and sex-matched Japanese reference data (<http://jspe.umin.jp/medical/keisan.html>).

^e Present length/height and/or present weight < -2 SD of the age- and sex-matched Japanese reference data (<http://jspe.umin.jp/medical/taikaku.html>).

^f Present length/height and/or present weight > +2 SD of the age- and sex-matched Japanese reference data (<http://jspe.umin.jp/medical/taikaku.html>).

^g The ratio of mid to widest thorax diameter (M/W ratio) below normal range (see Figure 2).

^h The coat-hanger angle (CHA) above the normal range (see Figure 2).

ⁱ The duration in patients in whom mechanical ventilation could be discontinued.

^j The age when 90% of infants pass each gross motor developmental milestone (based on Revised Japanese Version of Denver Developmental Screening Test) (http://www.dinf.ne.jp/doc/japanese/prdl/jsrd/norma/n175/img/n175_078i01.gif).

^k The median (range) of ages in patients who passed each gross motor developmental milestone; patients who have not passed each milestone are not included.

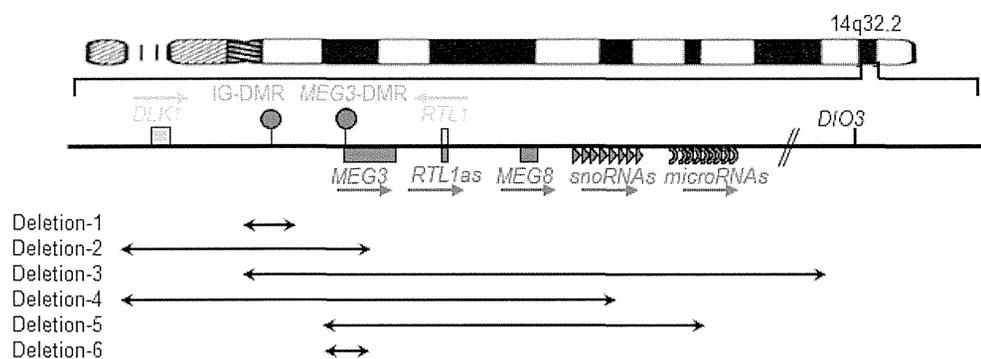
^l The duration in patients in whom tube feeding could be discontinued.

^m The diagnosis of UPD(14)pat has been suspected in two patients (patients #7 and #21).

ⁿ The *MEG3*-DMR is predicted to be grossly hypomethylated in the placenta.

^o Expression patterns of the imprinted genes are predicted to be different between the body and the placenta in this patient, while they are predicted to be identical between the body and the placenta in other patients (See Supplementary Figure S1).

^p Amnioreduction was performed ≥ 2 times in 23 of the 25 pregnancies.



	Body			Placenta		
	Schematic representation	Expression dosage	Phenotype	Schematic representation	Expression dosage	Phenotype
Control		<i>PEGs</i> 1 X <i>MEGs</i> 1 X	Normal		<i>PEGs</i> 1 X <i>MEGs</i> 1 X	Normal
UPD(14)pat		<i>DLK1</i> 2 X <i>RTL1</i> ~5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14		<i>DLK1</i> 2 X <i>RTL1</i> ~5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14
Epimutation		<i>DLK1</i> 2 X <i>RTL1</i> ~5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14		<i>DLK1</i> 2 X <i>RTL1</i> ~5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14
Deletion-1		<i>DLK1</i> 2 X <i>RTL1</i> ~5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14		<i>DLK1</i> 2 X <i>RTL1</i> ~5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14
Deletion-2		<i>DLK1</i> 1 X <i>RTL1</i> ~5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14		<i>DLK1</i> 1 X <i>RTL1</i> ~5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14
Deletion-3		<i>DLK1</i> 2 X <i>RTL1</i> ~2.5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14		<i>DLK1</i> 2 X <i>RTL1</i> ~2.5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14
Deletion-4		<i>DLK1</i> 1 X <i>RTL1</i> ~2.5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14		<i>DLK1</i> 1 X <i>RTL1</i> ~2.5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14
Deletion-5		<i>DLK1</i> 2 X <i>RTL1</i> ~2.5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14		<i>DLK1</i> 1 X <i>RTL1</i> ~2.5 X <i>MEGs</i> * 0~1 X	KOS14
Deletion-6		<i>DLK1</i> 2 X <i>RTL1</i> ~5 X <i>MEGs</i> 0 X	KOS14		<i>DLK1</i> 1 X <i>RTL1</i> 1 X <i>MEGs</i> * 0~1 X	Normal?

図1. 遺伝子発現パターンのまとめ

成長パターン: 胎児期成長は、身長 $-1.7\sim+3.0$ SD、体重 $+0.1\sim+8.8$ SDとよく保たれていた。特に、過耐重は、マウスのデータから筋肉量の増加を反映すると推測される。一方、出生後成長は、約1/3の症例で -2 SD以下の身長あるいは体重が認められ、これは、生後の嚥下困難や呼吸不全を反映すると考えられる。

顔貌: きわめて特徴的であり、特に、満な頬と口唇の突出は、本疾患に特異的であった。

胸郭低形成: これは、顔貌と並んで、本疾患に特異的である(図2)。特に、coat-hanger angle (CHA)とmid to widest thorax diameter ratio (M/W ratio)が客観的指標になることが判明した。さらに、M/W ratio乳児期以降正常範囲になることにたいし、CHAは10歳以降も増加していた。したがって、CAHは長期にわたる疾患特異的診断指標となることが判明した。また、全例がレスピレーターによる呼吸管理を受けていた(中央値1カ月)。

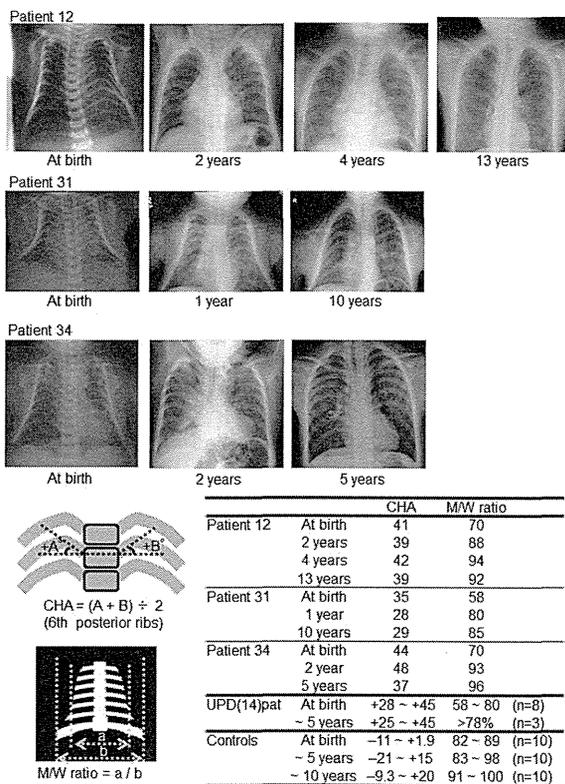


図2. レントゲン所見

腹壁異常: 臍帯ヘルニアあるいは腹直筋乖離が全例で認められた。

精神運動発達: 全例で低下していた(DQ/IQ中央値55)。

その他: 嚥下困難はほぼ全例に認められ、チューブ管理を要した(中央値6.5カ月)。

肝芽腫: 3例において13カ月までに認められた(図3)。2例では手術が行われたが、化学療法は全身状態不良で試行しえなかった。残る1例では手術も試行しえなかった。

死亡例: 34例中8例が4歳までに死亡した(図4)。死亡のリスクとして29週以前の出生、および4例が呼吸器感染に伴う死亡であったことから、呼吸器感染症が挙げられた。

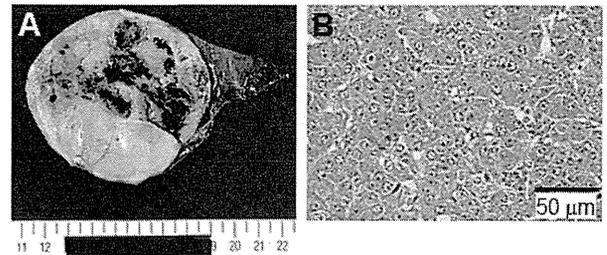
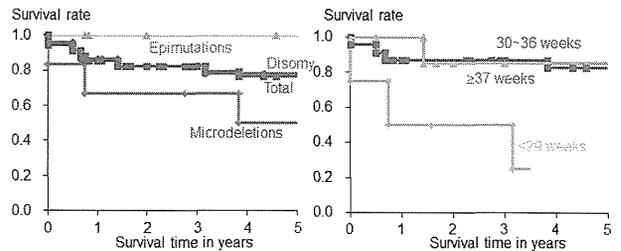


図3. 肝芽腫の外観と組織像。



Patient	(Epi)genetic cause	GA	Cause of death	Age of death
1	UPD(14)pat (S-1)	34	Respiratory failure	2 hours
8	UPD(14)pat (S-1)	24	Influenza infection	3 2/12 yrs
15	UPD(14)pat (S-3)	34	Necrotizing enterocolitis	6 mos
17	UPD(14)pat (S-3)	32	Hepatoblastoma	8 mos
18	UPD(14)pat (S-3)	37	Hemophagocytic syndrome	1 5/12 yrs
30	Microdeletion (S-1)	27	Sudden death at URI	9 mos
32	Microdeletion (S-2)	28	Intracranial hemorrhage	4 days
33	Microdeletion (S-3)	35	RS virus infection	3 10/12 yrs

図4. Kaplan-Meier生存曲線

胎盤過形成と羊水過多: ほぼ必発の所見であり、胎盤過形成は、拡張した絨毛腔に肥厚した血管内皮膚繊維芽細胞細胞を伴い、また、pericytesの歩行を認めた。予測される発現パターンに一致して、免疫染色では、RTL1が強く染色された。羊水過多は胎盤過形成による産生増加と嚥下困難による消化管への吸収低下に起因することが判明した。

D. 考察

本研究は、本疾患の包括的な臨床的解析を行ったものである。その成果は、本疾患の診断特異的所見や自然歴を明確とするものであり、本疾患の診療指針作成に大きく貢献すると期待される。特に、診断特異的かつ長期的に認められる症状を明確としたことは特筆される。これはホルモン疾患の臨床診断に大きく貢献するものである。また、過去の論文に記載されていなかった成長パターンの特徴、精神発達遅滞の存在と程度、肝芽腫の発症リスク、死亡発症リスクを明らかにしたことは、長期宜しくお伝えください。小屋患者支援の体制を考えるうえで有用である。

われわれは、過去に本疾患において、DLK1-GTL2 intergenic differentially methylated region (IG-DMR)とMEG3-DMRを見出し、その後の詳細な分子遺伝学的解析に基づいて、以下のことを世界で初めてを見出している。(1) 配偶子形成時に樹立されるIG-DMRは胎盤におけるインプリンティングセンター(IC)である。(2) 受精後

に樹立される *MEG3*-DMRは個体におけるICである。(3) IG-DMRは個体における *MEG3*-DMRのメチル化パターン制御機能を有する。(4) *MEG3*-DMR にはCTCFタンパク結合部位が存在する。(5) Upd(14)pat症候群の表現型は主に父性発現遺伝子 *RTL1*の過剰発現による。(6) Upd(14)mat症候群の表現型は主に父性発現遺伝子 *DLK1*および *RTL1*の発現低下に起因する。(7) 母性発現遺伝子 *RTL1as*にコードされる *microRNA*は *RTL1*の発現抑制機能を有する。(5) 胎盤におけるインプリンティング制御が個体と異なる。これらの成果は、Nature Geneticsをはじめとする雑誌に掲載され、本疾患の発症機序の解明に大きく貢献している。この基礎的成果、および、今回の臨床的成果は海外から高く評価され、EUCID.netにより Kagami-Ogata syndrome (KOS14) という疾患名が与えられた。

E. 結論

第14染色体父性ダイソミー関連疾患について、第14染色体父性ダイソミー患者23例、エピ変異患者5例、様々な微細欠失患者6例を対象として詳細な臨床像を解析し以下の成果を挙げた。(1) 臨床症状は、第14染色体父性ダイソミー、エピ変異、微細欠失で同等であり、発症原因の主因はすべてに共通する *RTL1*の過剰発現(約2.5倍)である。(2) 豊満な頬と口唇の突出を伴う特徴的顔貌と、coat hanger angleの増加を伴う胸郭低形成は本疾患に特異的かつ長期(10歳以上)観察される所見である。(3) 胎児期成長、特に体重、はよく保たれ(これはマウスのデータから筋肉量の増加を反映すると推測される)、一方、出生後の成長は、嚥下困難や呼吸不全を反映して悪化する。(4) 胸郭低形成に一致して、ほぼ全例がレスピレーターによる呼吸管理を受けている(中央値1カ月)。(5) 臍帯ヘルニアなどの腹壁異常は全例で認められる。(6) 精神運動発達は例外なく低下している(DQ/IQ中央値55)。(6) 嚥下困難はほぼ全例に認められ、チューブ管理を要する(中央値6.5カ月)。(7) 3例の患者で肝芽腫が生じた。(8) 34例中8例が4歳までに死亡し、4例は呼吸器感染に伴う志望であった。(9) 胎盤過形成と羊水過多はほぼ必発の所見であり、羊水過多は胎盤過形成による産生増加と嚥下困難による消化管への吸収低下に起因する。この成果は、本疾患の診断特異的所見や自然歴を明確とするものであり、本疾患の診療指針作成に大きく貢献すると期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

Fujisawa Y*, Yamaguchi R, Satake E, Ohtaka K, Nakanishi T, Ozono K, **Ogata T**: Identification of *AP2S1* mutation and effects of low calcium formula in an infant with hypercalcemia and hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab* 98 (12): E2022–2027, 2013.

Fukami M*, Suzuki J, Nakabayashi K, Tsunashima R, **Ogata T**, Shozu M, Noguchi S: Lack of genomic rearrangements involving the aromatase gene *CYP19A1* in breast cancer. *Breast Cancer* 21 (3): 382–385, 2014.

Nagasaki K*, Asami T, Sato H, Ogawa Y, Kikuchi T, Saitoh A, **Ogata T**, Fukami M: Long term follow up study for a patient with Floating-Harbor syndrome due to a hotspot *SRCAP* mutation. *Am J Med Genet A* 164 (3): 731–735, 2014.

Shihara D, Miyado M, Nakabayashi K, Shozu M, Nagasaki K, **Ogata T**, Fukami M*: Aromatase excess syndrome in a family with upstream deletion of *CYP19A1*. *Clin Endocrinol* 81(2): 314–316, 2014.

Tsuchiya T, Shibata M, Numabe H, Jinnno T, Nakabayashi K, Nishimura G, Nagai T, **Ogata T**, Fukami M*: Compound heterozygous deletions in pseudoautosomal region 1 in an infant with mild manifestations of Langer mesomelic dysplasia. *Am J Med Genet A* 164A (2): 505–510, 2014.

Yagasaki H*, Nakane T, Saito T, Koizumi K, Kobayashi K, **Ogata T**: Disorder of sex development in an infant with molecularly confirmed 46,XY,+der(10)t(10;21)(q21.1;q21.3),-21. *Am J Med Genet A* 164 (3): 841–843, 2014.

Sasaki A, Sumie M, Eada S, Kosaki R, Kurosawa K, Fukami M, Sago H, **Ogata T**, Kagami M*: Prenatal Genetic testing for a microdeletion at chromosome 14q32.2 imprinted region leading to upd(14)pat-like phenotype. *Am J Med Genet A* 164A (1): 264–266, 2014.

Kitsuda K*, Yamaguchi R, Nagata E, Nakagawa Y, Ohzeki T, **Ogata T**, Ishii M, Nakanishi T: Hypertrophic cells in hypophagic intrauterine growth retarded rats without catch-up growth. *Kitasato Med J* 44 (1): 38–46, 2014.

Kato F, Hamajima T, Hasegawa T, Amano N, Horikawa R, Nishimura G, Nakashima S, Fuke T, Sano S, Fukami M, **Ogata T***: IMAGE syndrome: clinical and genetic implications based on investigations in three Japanese patients. *Clin Endocrinol* 80 (5): 706–713, 2014.

Court F, Tayama C, Romanelli V, Martin-Trujillo A, Iglesias-Platas I, Okamura K, Sugahara N, Simon C, Moore H, Harness J, Keirstead H, Vicente Sanchez-Mut J,

Kaneki E, Lapunzina P, Soejima H, Wake N, Esteller M, **Ogata T**, Hata K, Nakabayashi K, Monk D*: Genome-wide parent-of-origin DNA methylation analysis reveals the intricacies of the human imprintome and suggests a germline methylation independent establishment of imprinting. *Genome Res* 24 (4): 554–569, 2014.

Amano N, Mukai T, Ito Y, Narumi S, Tanaka T, Yokoya S, **Ogata T**, Hasegawa T*: Identification and functional characterization of two novel *NPR2* mutations in Japanese patients with short stature. *J Clin Endocrinol Metab* 99 (4): E13–18, 2014.

Ogata T*, Niihori T, Tanaka N, Kawai M, Nagashima T, Funayama R, Nakayama K, Nakashim S, Kato F, Fukami M, Aoki Y, Matsubara Y: *TBX1* mutation identified by exome sequencing in a Japanese family with 22q11.2 deletion syndrome-like craniofacial features and hypocalcemia. *PLoS One* 9 (3): e91598, 2014.

Yamamoto M, Iguchi G, Bando H, Fukuoka H, Suda K, Takahashi M, Nishizawa H, Matsumoto R, Tojo K, Mokubo A, **Ogata T**, Takahashi Y*: A missense single-nucleotide polymorphism in the sialic acid acetyl esterase gene is associated with anti-PIT-1 antibody syndrome. *Endocr J* 61 (6): 641–644, 2014.

Suzuki J, Azuma N, Dateki S, Soneda S, Muroya K, Yamamoto Y, Saito R, Sano S, Nagai T, Wada H, Endo A, Urakami T, **Ogata T**, Fukami M*: Mutation Spectrum and Phenotypic Variation in Nine Patients with *SOX2* abnormalities. *J Hum Genet* 59 (6): 353–356, 2014.

Matsubara K, Kataoka N, Ogata S, Sano S, **Ogata T**, Fukami M*, Katsumata N: Uniparental disomy of chromosome 8 leading to homozygosity of a *CYP11B1* mutation in a patient with congenital adrenal hyperplasia: Implication for a rare etiology of an autosomal recessive disorder. *Endocr J* 61 (6): 629–633, 2014.

Ohishi A, Nakashima S, **Ogata T**, Iijima S: Early vitamin K deficiency bleeding in a neonate associated with maternal Crohn's disease. *J Perinatol* 34 (8): 636–639, 2014

Suzuki E, Yatsuga S, Igarashi M, Miyado M, Nakabayashi K, Hayashi K, Hata K, Umezawa A, Yamada G, **Ogata T**, Fukami M*: De novo frameshift mutation in fibroblast growth factor 8 in a male patient with gonadotropin deficiency. *Horm Res Paediatr* 81 (2): 139–44, 2014

Kawamoto T, Nitta H, Murata K, Toda E, Tsukamoto N, Hasegawa M, Yamagata Z, Kayama F, Kishi R, Ohya Y, Saito H, Sago H, Okuyama M, **Ogata T**, Yokoya S, Koresawa Y, Shibata Y, Nakayama S, Michikawa T, Takeuchi A, Saitoh H: Rationale and study design of the Japan environment and children's study (JECS). *BMC Public Health* 2014 Jan 10;14:25. doi: 10.1186/1471-2458-14-25.

Higashimoto K, Jozaki K, Kosho T, Matsubara K, Sato T, Yamada D, Yatsuki H, Maeda T, Ohtsuka Y, Nishioka K, Joh K, Koseki H, **Ogata T**, Soejima H*: A novel *de novo* point mutation of OCT-binding site in the *IGF2/H19* imprinting control region in a patient with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Clin Genet* 86 (6): 539–544, 2014.

Maeda T, Higashimoto K, Jozaki K, Hitomi H, Nakabayashi K, Makita Y, Tonoki H, Okamoto N, Takada F, Ohashi H, Migita M, Kosaki R, Matsubara K, **Ogata T**, Matsuo M, Hamasaki Y, Ohtsuka Y, Nishioka K, Joh K, Mukai T, Hata K, Soejima H*: Comprehensive and quantitative multilocus methylation analysis reveals the susceptibility of specific imprinted differentially methylated regions (DMRs) to aberrant methylation in Beckwith-Wiedemann syndrome with epimutations. *Genet Med* 16 (12): 903–912, 2014.

Izumi Y, Suzuki E, Kanzaki S, Yatsuga S, Kinjo S, Igarashi M, Maruyama T, Sano S, Horikawa R, Sato N, Nakabayashi K, Hata K, Umezawa A, Ogata T, Yoshimura Y, Fukami M*: Genome-wide copy number analysis and systematic mutation screening in 58 patients with hypogonadotropic hypogonadism. *Fertil Steril* 102 (4): 1130–1136, 2014.

Ishikawa T*, Takehara Y, Yamashita S, Iwashima S, Sugiyama M, Wakayama T, Johnson K, Wieben O, Sakahara H, **Ogata T**: Hemodynamic assessment in a child with renovascular hypertension using time-resolved three-dimensional cine phase-contrast MRI. *J Magn Reson Imaging* 41 (1): 165–168, 2015.

Nakashima S, Oishi A, Takada F, Kawamura H, Igarashi M, Fukami M, **Ogata T***: Clinical and molecular studies in four patients with

SRY-positive 46,XX testicular disorders of sex development: implications for variable sex development and genomic rearrangements. *J Hum Genet* 59 (10):549-53, 2014.

Nagata E, Kano H, Kato F, Yamaguchi R, Nakashima S, Takayama S, Kosaki R, Tonoki H, Mizuno S, Watanabe S, Yoshiura K, Kosho T, Hasegawa T, Kimizuka M, Suzuki A, Shimizu K, Ohashi H, Haga N, Numabe H, Horii E, Nagai T, Yoshihashi H, Nishimura G, Toda T, Takada S, Yokoyama S, Asahara H, Sano S, Fukami M, Ikegawa S, **Ogata T***: Japanese founder duplications/triplications involving *BHLHA9* are associated with split-hand/foot malformation with or without long bone deficiency and Gallop-Wolfgang complex. *Orphanet J Rare Dis* 9 (1): 125, 2014.

Kagami M, Mizuno S, Matsubara K, Nakabayashi K, Sano S, Fuke T, Fukami M, **Ogata T***: Epimutations of the IG-DMR and the *MEG3*-DMR at the 14q32.2 imprinted region in two patients with Silver-Russell syndrome-compatible phenotype. *Eur J Hum Genet* (in press).

Izumi Y, Musha I, Suzuki E, Iso M, Jinno T, Horikawa R, Amemiya S, **Ogata T**, Fukami M, Ohtake A: Hypogonadotropic hypogonadism in a female patient previously diagnosed as having Waardenburg syndrome due to a *SOX10* mutation. *Endocrine* (in press).

Nakashima S, Kato F, Kosho T, Nagasaki K, Kikuchi T, Kagami M, Fukami M, **Ogata T***: Silver-Russell syndrome without body asymmetry in three patients with duplications of maternally derived chromosome 11p15 involving *CDKN1C*. *J Hum Genet* (in press).

Miyatake S, Koshimizu E, Fujita A, Fukai R, Imagawa E, Ohba C, Kuki I, Makita Y, **Ogata T**, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saito H, **Matsumoto N***: Detecting copy number variations in whole exome sequencing data using exome hidden markov model - an expectation of "exome-first" approach. *J Hum Genet* (in press).

Saito K, Miyado M, Kobori Y, Tanaka Y, Ishikawa H, Yoshida A, Katsumi M, Saito H, Kubota T, Okada H, **Ogata T**, Fukami M*: Copy-number variations in Y chromosomal azoospermia factor regions identified by multiplex ligation-dependent probe amplification. *J Hum Genet* (in press).

Kagami M, Kurosawa K, Miyazaki O, Ishino F, Matsuoka K, **Ogata T***: Comprehensive clinical studies in 34 patients with molecularly defined UPD(14)pat and related conditions (Kagami-Ogata syndrome). *Eur J Hum Genet* (in press)

Igarashi M, Wada Y, Kojima Y, Miyado M, Nakamura M, Muroya K, Mizuno K, Hayashi Y, Nonomura K, Jofri K, **Ogata T**, Fukami M*: Novel splice site mutation in *MAMLD1* in a patient with hypospadias. *Sex Dev* (in press).

Kon M, Suzuki E, Dung VC, Hasegawa Y, Mitsui T, Muroya K, Ueoka K, Igarashi N, Nagasaki K, Oto Y, Hamajima T, Yoshino K, Igarashi M, Kato-Fukui Y, Nakabayashi K, Hayashi K, Hata K, Matsubara Y, Moriya K, **Ogata T**, Nonomura K, Fukami M*: Molecular basis of non-syndromic hypospadias: Systematic mutation screening and genome-wide copy-number analysis of 62 patients. *Hum Reprod* (in press).

Fujisawa Y, Napoli E, Wong S, Song G, Yamaguchi R, Matsui T, Nagasaki K, **Ogata T**, Giulivi C Impact of a novel homozygous mutation in nicotinamide nucleotide transhydrogenase on mitochondrial DNA integrity in a case of familial glucocorticoid deficiency. *BBA Clinical* (in press).

Igarashi M, Mikami H, Katsumi M, Miyado M, Izumi Y, **Ogata T**, Fukami M*: *SOX3* overdosage permits normal sex development in females with random X inactivation. *Sex Dev* (in press).

Momori Katsumi^a, Hiromichi Ishikawa^b, Yoko Tanaka^c, Kazuki Saito^{a, d}, Yoshitomo Kobori^e, Hiroshi Okada^e, Hidekazu Saito^d, Kazuhiko Nakabayashi^f, Yoichi Matsubara^g, Tsutomu Ogata^{a, h}, Maki Fukami^a, Mami Miyado^a Microhomology-Mediated Microduplication in the Y Chromosomal Azoospermia Factor a (AZFa) Region in a Male with Mild Asthenozoospermia. *Cytogenetic and Genome Research* (in press).

Fukami M*, Miyado M, Nagasaki K, Shozu M, **Ogata T**: Aromatase excess syndrome: a rare autosomal dominant disorder leading to pre- or peri-pubertal onset gynecomastia. *Pediatr Endocr Rev* 11 (3): 298-305, 2014.

Shozu M*, Fukami M, **Ogata T**: Understanding the pathological manifestations of aromatase excess

syndrome: lessons for the clinic. *Expert Rev Endocrinol Metab* 9 (4): 397–409, 2014.
Fukami M*, Ogata T: Cytochrome P450 oxidoreductase deficiency: Rare congenital disorder leading to skeletal malformations and steroidogenic defects. *Pediatr Int* 2014 Oct 8. doi: 10.1111/ped.12518. [Epub ahead of print]

2. 学会発表
省略

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

Angelman症候群とPitt-Hopkins症候群の診断法の確立

研究分担者 齋藤伸治

名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野・教授

研究要旨

Angelman症候群（AS）およびPitt-Hopkins症候群（PHS）との診断法の確立を目的として、体系的な遺伝学的診断法を構築した。AS疑い例86例に対して遺伝学的診断を実施し、33例（38%）の診断を確定することができた。診断できなかった53例に対して、PHSの原因遺伝子TCF4を含む6遺伝子を次世代シーケンサーにより網羅的に解析した。その結果、TCF4遺伝子変異は同定されず、MECP2変異を1例、CDKL5変異を1例に同定した。ASとPHSは臨床的に似ているので、体系的遺伝学的診断法は確定診断を得るために、重要である。

A. 研究目的

Angelman症候群（AS）およびPitt-Hopkins症候群（PHS）は共に知的障害を主要な症状とする疾患である。いずれも乳児期に発達の遅れで気づかれる。ASが疑われた例の2%がPHSであったとの報告もあり、乳児期に両疾患を区別することは難しい。ASとPHSとの原因遺伝子はUBE3AとTCF4であることが明らかにされているため、遺伝学的診断により確定診断を得ることができる。そこで、私たちは両疾患を診断するための体系的遺伝学的診断法を開発した。

B. 研究方法

ASもしくはPHSが疑われた患者86例から末梢血を採取し、ゲノムDNAを抽出した。すでにFISH法にて15q11-q13の欠失が同定された患者は除外されている。可能であれば、両親の採血も行った。

体系的遺伝学的診断法はまず、ASの診断を先行して行い、次にTCF4の変異解析を行う流れとした。ASの遺伝学的診断は、SNURF-SNRPN遺伝子のDNAメチル化テストをまず行い、陽性の場合には両親の検体を用いて多型解析を行い、片親性ダイソミーもしくは刷り込み変異の診断を行った。メチル化テスト陰性例にはUBE3A変異解析をサンガー法にて実施した。これらの解析でも変異が同定されなかった場合は、TCF4を含む6個の遺伝子（SLC9A6、TCF4、MBD5、CDKL5、MECP2、FOXP1）のコーディング領域を対象とするシーケンズパネルを

AmpliSeq（Lifetechnologies）により作成し、Ion PGMを用いて解析した。

（倫理面への配慮）

本研究は名古屋市立大学大学院医学研究科倫理審査委員会にて承認を受けており、解析にあたっては、両親から書面による同意を得た。

C. 研究結果

86例中、DNAメチル化テストは14例（16%）で陽性であった。内6例で両親解析が実施され、3名が15番染色体父性片親性ダイソミーであり、3例が刷り込み変異であった。メチル化テスト陰性64例のなかで、19例（全体の22%）にUBE3Aの変異を同定した。いずれの変異も同定されなかった53例に対して6遺伝子を含むシーケンズパネル解析を実施したが、TCF4変異は同定されなかった。それ以外として、MECP2変異が1例に、CDKL5変異が1例に同定された。

D. 考察

今回の解析は主としてASが疑われた患者を対象とした解析であったために、PHS患者は同定されなかった。しかし、前述したように乳児期に両疾患の症状は良く似ているため、臨床的に区別することは難しい。今回両疾患を含めた体系的遺伝学的診断システムを構築することができたことは意義があると考えられる。

ASと確定できたのは38%に過ぎない。最も多い欠失例が除外されているとはいえ、これまで

の報告では、非欠失例の半数がUBE3A変異例と考えられてきた。ASの臨床症状が揃う前に遺伝学的診断が求められる状況となっていることが、診断率の低さに繋がっていると考えられる。特に、乳児期には臨床的に確定診断は難しく、AS以外の疾患が混じっている可能性が高くなる。実際、今回の解析でもMECP2変異とCDKL5変異が1例ずつ同定されている。MECP2変異はレット症候群の原因遺伝子であることから、この例はレット症候群と考えられる。また、CDKL5は乳児期発症のてんかん性脳症の原因遺伝子として知られており、時に、早発型レット症候群の原因となる。レット症候群とASもしくはPHSとは乳児期には必ずしも区別することが難しいことを示している。より早い時期の診断が求められていることを考えると、体系的な遺伝学的診断法の導入がより一層求められていると考える。

今回、次世代シーケンサーを用いたパネル解析を導入するにあたり、ASと似た表現型が報告されている6遺伝子を搭載した。その中にTCF4も含めることでPHSの診断に対応することができた。実際2例の診断が得られたことから、有用性が示されたと考えている。しかし、ASに似た表現型を示す疾患はこれら6疾患のみではない。自閉症を含めると、候補遺伝子は数百におよぶ。一方、数を増やせば増やすほど、それぞれの遺伝子の陽性率は低くなる。次世代シーケンサーの普及により、網羅的遺伝子解析が手の届く技術となってきてはいるが、搭載遺伝子数の選択など解決しなければならない課題は多い。特に、日本では健康保険適応の壁が、このような遺伝学的検査の普及を妨げている。正確な診断を得るためには、遺伝子解析は避けて通ることができない。より効率的で実施可能な検査法の確立と普及が課題である。

E. 結論

ASとPHSとに対する体系的遺伝学的診断システムを構築した。本システムによりASとPHSとを乳児期から正確に診断することが可能になる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Ueda H, Sugiura T, Takeshita S, Ito K, Kakita H, Nagasaki R, Kurosawa K, Saitoh S. Combination of Miller-Dieker syndrome and VACTERL association causes extremely severe clinical presentation. *Eur J Pediatr* 173:1541-1544, 2014.

2) Goto M, Saito Y, Honda R, Saito T, Sugai K, Matsuda Y, Miyatake C, Takeshita E, Ishiyama A, Komaki H, Nakagawa E, Sasaki M, Uto C, Kikuchi K, Motoki T, Saitoh S. Episodic tremors representing cortical myoclonus are characteristic in Angelman syndrome due to UBE3A mutations. *Brain Dev* [Epub ahead of print]

3) Negishi Y, Hattori A, Takeshita E, Sakai C, Ando N, Ito T, Goto Y-I, Saitoh S. Homoplasmy of a mitochondrial 3697G>A mutation causes Leigh syndrome. *J Hum Genet* 59: 405-407, 2014.

4) Okamoto N, Miya F, Tsunoda T, Yanagihara K, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K. KIF1A mutation in a patient with progressive neurodegeneration. *J Hum Genet* 59:639-641, 2014.

5) Okamoto N, Miya F, Tsunoda T, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Shimizu A, Torii C, Kanemura Y, Kosaki K. Targeted next-generation sequencing in the diagnosis of neurodevelopmental disorders. *Clin Genet* [Epub ahead of print]

5) Sumi S, Miyachi T, Ohya K, Ohashi K, Saitoh S. Application of final DSM-5 criteria for young children with autism spectrum disorder. *Autism-Open Access* 4:135, 2014.

2. 学会発表

Takao Togawa, Tokio Sugiura, Koichi Ito, Takeshi Endo, Atsuo Kikuchi, Natsuko Ichinoi, Shigeo Kure, Shinji Saitoh. Comprehensive mutation analysis using Ion PGM in 95 patients with neonatal intrahepatic cholestasis. 64th Annual Meeting of American Society of Human Genetics, San Diego, USA, 10/18-21/2014

Yutaka Negishi, Ayako Hattori, Ikumi Hori, Naoki Ando, Fuyuki Miya, Tsunoda Tatsuhiko, Nobuhiko Okamoto, Mitsuhiro Kato, Mami Yamasaki, Yonehiro Kanemura, Kenjiro Kozaki, Shinji Saitoh. Truncating mutation of *NF1A* causes a brain malformation and urinary tract defect. 64th Annual Meeting of American Society of Human Genetics, San Diego, USA, 10/18-21/20

堀いくみ、上田博子、伊藤孝一、服部文子、杉浦時雄、長崎理香、加藤丈典、安藤直樹、齋藤伸治 当院における胎児期脳室拡大児 41 例の検討、日本小児科学会学術集会 平成 26 年 4 月 11-13 日 (名古屋)

服部文子、堀いくみ、根岸豊、安藤直樹、伊藤

哲哉、齋藤伸治 デュシェンヌ型筋ジストロフィーにおける心拍変動の特性（第一報） 第 56 回日本小児神経学会学術集会 平成 26 年 5 月 29-31 日（浜松）

根岸豊、堀いくみ、服部文子、安藤直樹、伊藤哲哉、齋藤伸治 当院におけるミトコンドリア病に対するピルビン酸ナトリウム療法の経過 第 56 回日本小児神経学会学術集会 平成 26 年 5 月 29-31 日（浜松）

堀いくみ、根岸豊、服部文子、安藤直樹、早川文雄、辻健史、久保田哲夫、奥村彰久、夏目淳、齋藤伸治 重症・劇症型脳症の臨床的検討 第 56 回日本小児神経学会学術集会 平成 26 年 5 月 29-31 日（浜松）

根岸豊、堀いくみ、服部文子、安藤直樹、齋藤伸治、水野健太郎、宮冬樹、角田達彦、岡本伸彦、加藤光広、山崎麻美、金村米博、小崎健次郎 NFIA 遺伝子変異は 1p32-p31 欠失症候群の中核症状を規定する 第 59 回日本人類遺伝学会 平成 26 年 11 月 20-22 日（東京）

横井摂理、石原尚子、夏目淳、堤真紀子、大江瑞恵、加藤武馬、稲垣秀人、柳原格、齋藤伸治、倉橋浩樹 水無脳症を呈した TUBA1A 遺伝子異常の一例 第 59 回日本人類遺伝学会 平成 26 年 11 月 20-22 日（東京）

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
分担研究報告書

Mowat-Wilson 症候群の臨床診断と健康管理指針に関する研究

研究分担者 水野誠司
愛知県心身障害者コロニー中央病院 臨床第一部長

研究要旨

モワット・ウィルソン症候群は精神遅滞、てんかん、特異な顔貌を呈する先天異常症候群の一つであり、2001年に愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所の若松らが染色体転座を伴う同症候群例から染色体2q22のZFHX1B遺伝子のハプロ不全が原因であることを示した。本遺伝子がコードするタンパクは神経堤由来細胞の発生分化に関わり中枢神経や神経節の形成に重要な役割を持つために、精神遅滞、てんかん、ヒルシュスプルング病、内部奇形などのさまざまな重度の合併症を引き起こすことが明らかとなっている。

先天異常症候群を診断する医学的なメリットは、その診断によって患者の全生活史における健康管理に資する情報が得られることである。先天異常症候群はその疾患毎に特徴的な合併症や成長の特性を示すことが知られており、疾患毎の診断と健康管理の指針を作成することにより、本症候群の診療にあたる臨床医が本症候群の患者に対して標準的な健康管理を行うことが可能となる。今回我々は本症候群の過去の報告例を元にして、モワット・ウィルソン症候群の健康管理指針を作成した。

A. 研究目的

先天異常症候群を診断する意義は、1. 発達特性や自然歴がわかる。2. 合併症の早期発見ができる。3. 正確な病態がわかる。4. 正確な遺伝カウンセリング（次子再罹患率の推計）ができる。5. 患者家族の交流が可能となるなど、患者及び家族に医療と生活の質の向上のための情報を還元することにある。

しかし稀少な疾患においては、その疾患情報の入手が困難であることが多い。モワット・ウィルソン症候群の頻度は過去に若松らが愛知県と神奈川県の実患者数から、その頻度を約10万人に1人とした。すなわち国内に約1000名の患者が存在する。

モワット・ウィルソン症候群は精神遅滞、てんかん、特異な顔貌を呈する先天異常症候群の一つであり、2q22のZFHX1B遺伝子のハプロ不全が原因であることを知られている。本遺伝子がコードするタンパクは神経堤由来細胞の発生分化に関わり中枢神経や神経節の形成に重要な役割を持つために、精神遅滞、てんかん、ヒルシュスプルング病、内部奇形などのさまざまな重度の合併症を引き起こす。その為本症候群を疑い、もしくは診断した以後は複数の臓器の合併症の早期発見と健康管理が必要である。全国のモワット・ウィルソン症候群の患者が等し

く標準的な医療を受けるため、年齢別の医療管理指針の作成を試みた。

B. 研究方法

過去の報告例及び文献、通院患者の診療録情報、既知の先天異常症候群の定期的フォローアップ検診プログラムなどを参考に年齢別に高頻度の合併症を抽出し、各々に対する検診及び専門診療科への紹介等必要な医療行為と患者指導を表にまとめた。

主な参考文献及び情報として下記が挙げられる。

Yamada Y, Nomura N, Yamada K et.al.
The spectrum of ZEB2 mutations causing the Mowat-Wilson syndrome in Japanese populations.
Am J Med Genet A. 2014
Aug;164A(8):1899-908

Garavelli L, Mainardi PC.
Mowat-Wilson syndrome.
Orphanet J Rare Dis. 2007 Oct 24;2:42

C. 研究結果

以下に作成した年齢別診療手引きを示す。

D. 考察

Mowat-Wilson症候群の患児家族への支援は、その診断に基づいた科学的な情報による治療と健康管理が最重要であり、また稀少な疾患をもつ子どもの両親の不安や戸惑いに対する心理的な支援も同様に重要である。

本研究では愛知県の心身障害者総合施設である心身障害者コロニー中央病院に通院するMowat-Wilson 症候群の患児の診療録の情報及び、グループ外来による家族支援時のアンケート情報、既報告の本症候群の症例報告、レビューを参考にして各年代別の診察時の医師が確認する事項の目安を示した。

今後の課題として、成人期及び老年期の本症候群に特異的な合併症について調査と、健康管理指針の作成が必要であろう。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nishi E, Mizuno S, Nanjo Y, Niihori T, Fukushima Y, Matsubara Y, Aoki Y, Kosho T. A novel heterozygous MAP2K1 mutation in a patient with Noonan syndrome with multiple lentiginos. *Am J Med Genet A*. 2014 Nov 25 .doi: 10.1002/ajmg.a.36842. [Epub ahead of print].

Kagami M, Mizuno S, Matsubara K, Nakabayashi K, Sano S, Fuke T, Fukami M, Ogata T. Epimutations of the IG-DMR and the MEG3-DMR at the 14q32.2 imprinted region in two patients with Silver-Russell syndrome-compatible phenotype. *Eur J Hum Genet*. 2014 Nov 5. doi: 10.1038/ejhg.2014.234. [Epub ahead of print]

Nagata E, Kano H, Kato F, Yamaguchi R, Nakashima S, Takayama S, Kosaki R, Tonoki H, Mizuno S, Watanabe S, Yoshiura KI, Kosho T, Hasegawa T, Kimizuka M, Suzuki A, Shimizu K, Ohashi H, Haga N, Numabe H, Horii E, Nagai T, Yoshihashi H, Nishimura G, Toda T, Takada S, Yokoyama S, Asahara H, Sano S, Fukami M, Ikegawa S, Ogata T. Japanese founder duplications/triplications involving BHLHA9 are associated with split-hand/foot malformation with or without long bone deficiency and Gollop-Wolfgang complex. *Orphanet J Rare Dis*. 2014 Oct 21;9(1):125.

Shimada S, Shimojima K, Okamoto N, Sangu N, Hirasawa K, Matsuo M, Ikeuchi M, Shimakawa S, Shimizu K, Mizuno S, Kubota M, Adachi M, Saito Y, Tomiwa K, Haginoya K, Numabe H, Kako Y, Hayashi A, Sakamoto H, Hiraki Y, Minami K, Takemoto K, Watanabe

K, Miura K, Chiyonobu T, Kumada T, Imai K, Maegaki Y, Nagata S, Kosaki K, Izumi T, Nagai T, Yamamoto T. Microarray analysis of 50 patients reveals the critical chromosomal regions responsible for 1p36 deletion syndrome-related complications. *Brain Dev*. 2014 Aug 26. pii: S0387-7604(14)00189-2. doi: 10.1016/j.braindev.2014.08.002. [Epub ahead of print]

Yamada Y, Nomura N, Yamada K, Matsuo M, Suzuki Y, Sameshima K, Kimura R, Yamamoto Y, Fukushi D, Fukuhara Y, Ishihara N, Nishi E, Imataka G, Suzumura H, Hamano S, Shimizu K, Iwakoshi M, Ohama K, Ohta A, Wakamoto H, Kajita M, Miura K, Yokochi K, Kosaki K, Kuroda T, Kosaki R, Hiraki Y, Saito K, Mizuno S, Kurosawa K, Okamoto N, Wakamatsu N. The spectrum of ZEB2 mutations causing the Mowat-Wilson syndrome in Japanese populations. *Am J Med Genet A*. 2014 Aug;164A(8):1899-908. Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Mizuno S, Matsumoto N, Makita Y, Fukuda M, Isidor B, Perrier J, Aggarwal S, Dalal AB, Al-Kindy A, Liebelt J, Mowat D, Nakashima M, Saito H, Miyake N, Matsumoto N. Coffin-Siris syndrome is a SWI/SNF complex disorder. *Clin Genet*. 2014 Jun;85(6):548-54. Shimizu K, Wakui K, Kosho T, Okamoto N, Mizuno S, Itomi K, Hattori S, Nishio K, Samura O, Kobayashi Y, Kako Y, Arai T, Tsutomu OI, Kawame H, Narumi Y, Ohashi H, Fukushima Y. Microarray and FISH-based genotype-phenotype analysis of 22 Japanese patients with Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet A*. 2014 Mar;164A(3):597-609

Nishi E, Takamizawa S, Iio K, Yamada Y, Yoshizawa K, Hatata T, Hiroma T, Mizuno S, Kawame H, Fukushima Y, Nakamura T, Kosho T. Surgical intervention for esophageal atresia in patients with trisomy 18. *Am J Med Genet A*. 2014 Feb;164A(2):324-30

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

モワット・ウィルソン症候群 年齢別 診療の手引き (0-3歳)

年齢	評価	必要により連携	注記
新生児期 (診断時)	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 脳神経／脳神経検査/脳画像検査 (MRI,CT) 脳梁欠損確認 <input type="checkbox"/> 消化器：ヒルシュスプルング病/難治性便秘/幽門狭窄 <input type="checkbox"/> 口腔：口蓋裂/口蓋垂裂の確認 <input type="checkbox"/> 眼：眼奇形、小眼球 <input type="checkbox"/> 心臓：心エコー・心電図 <input type="checkbox"/> 腎臓：尿路奇形／腎エコー <input type="checkbox"/> 聴覚：聴力検査 (ABR) <input type="checkbox"/> 外性器 (男児のみ)：尿道下裂の確認 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳 <input type="checkbox"/> 染色体異常の除外	<input type="checkbox"/> 泌尿器科 <input type="checkbox"/> 小児外科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 摂食・栄養指導 <input type="checkbox"/> 家族支援 (ソーシャルワーカー等の紹介)	
3か月	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達： <input type="checkbox"/> 聴覚／聴力検査 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳/体重増加 <input type="checkbox"/> 両親の疾患の受容 <input type="checkbox"/> 外性器 (男児のみ)：停留精巣	<input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 小児循環器科 <input type="checkbox"/> 摂食・栄養指導 <input type="checkbox"/> 家族支援 (保健師訪問)	
6か月	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達／療育 <input type="checkbox"/> 視覚：斜視 <input type="checkbox"/> 聴覚／聴力検査／反復性中耳炎 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳・摂食 <input type="checkbox"/> 中枢神経：MRI、点頭てんかん <input type="checkbox"/> (必要に応じて) 遺伝学的検査※	<input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> リハビリ科等 <input type="checkbox"/> 家族支援 (患者会等への紹介) <input type="checkbox"/> 療育等への紹介	
12か月	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達／療育 <input type="checkbox"/> 視覚：斜視 <input type="checkbox"/> 聴覚／聴力検査 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳・摂食／嚥下機能 <input type="checkbox"/> 便秘： <input type="checkbox"/> 甲状腺機能：(必要に応じて)	<input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 療育 (理学運動療法) <input type="checkbox"/> 家族支援	
18か月	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達／療育 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳・摂食／嚥下機能	<input type="checkbox"/> 療育 (理学運動療法) <input type="checkbox"/> 家族支援 <input type="checkbox"/> 手帳、福祉制度の案内	
2歳	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達／療育 <input type="checkbox"/> 聴覚／聴力検査 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳・摂食／嚥下機能 <input type="checkbox"/> 便秘： <input type="checkbox"/> 神経：脳波、てんかん 脳画像再評価	<input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 療育 (理学運動療法、作業療法) <input type="checkbox"/> 地域療育の案内 <input type="checkbox"/> 家族支援	
3歳	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達／療育 <input type="checkbox"/> 視覚：視力検査 <input type="checkbox"/> 聴覚／聴力検査、難聴、滲出性中耳炎 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳・摂食／嚥下機能 <input type="checkbox"/> 腎泌尿器：エコー、検尿／水腎症、腎奇形、膀胱尿管逆流 <input type="checkbox"/> 神経：脳波、てんかん <input type="checkbox"/> 便秘： <input type="checkbox"/> 骨格／側弯、補装靴作成 <input type="checkbox"/> 外性器：	<input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 整形外科 <input type="checkbox"/> 歯科 <input type="checkbox"/> 療育 (理学運動療法、作業療法) <input type="checkbox"/> 家族支援	