

- study (JECS). *BMC Public Health* 2014 Jan 10;14:25. doi: 10.1186/1471-2458-14-25.
18. 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.
 19. 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.
 20. 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.
 21. 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.
 22. 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.
 23. 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.
 24. 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).
 25. 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).
 26. 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).
 27. Miyatake S, Koshimizu E, Fujita A, Fukai R, Imagawa E, Ohba C, Kuki I, Makita Y, **Ogata T**, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu 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).
 28. 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).
 29. 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)
 30. 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).
 31. 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).
 32. **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).

33. 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).
34. Momori Katsumi^a, Hiromichi Ishikawa^b, Yoko Tanaka^c, Kazuki Saito^{a,d}, Yoshitomo Kobori^c, 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).
35. 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.
36. 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.
37. 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

3. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

ヌーナン症候群類縁疾患を含む遺伝性循環器疾患パネル解析

研究分担者 黒澤健司

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立こども医療センター遺伝科

研究要旨

Noonan 症候群は、低身長、先天性心疾患（主に肺動脈狭窄など）、肥大型心筋症、さまざまな程度の発達遅滞を特徴とする先天性多発奇形症候群である。合併症は多岐にわたり、稀な合併症も含めるとほぼ全臓器にわたると考えられる。症例ごとの臨床像の違いが大きく、臨床症状のみでの診断の確定は困難であり、遺伝子診断が有用である。しかし、遺伝的異質性が高いために、診断の確定にはジレンマが伴う。今回、Noonan 症候群類縁疾患も含めた先天性循環器疾患をターゲットとしたパネル解析を用いて、実際の Noonan 症候群症例 1 例を含む合計 9 例で解析を行った。搭載遺伝子は PTPN11、RAF1、SOS1 を含む 92 遺伝子で、9 例の平均 read depths は 300 以上で、read depths > 20 がほぼ全例でターゲット領域 97%以上となった。Noonan 症候群症例では、PTPN11 (NM_002834) の exon13 c.1528C>G (p.Q510E) を検出することができた。ヌーナン症候群類縁疾患解析では、次世代シーケンス解析の導入と症例ごとの解析後の検証が今後の課題と考えられた。

A. 研究目的

Noonan 症候群は、低身長、先天性心疾患（主に肺動脈狭窄など）、肥大型心筋症、翼状頸、胸郭変形、さまざまな程度の発達遅滞を特徴とする先天性多発奇形症候群である。そのほか、男性では停留精巣を合併することもある。原因遺伝子は PTPN11（検出された変異全体の 50%）を中心として、KRAS（同<5%）、SOS1（10–13%）、RAF1（3–17%）などが知られている。遺伝形式としては常染色体優性遺伝形式を示す。その合併症は多岐にわたり、稀な合併症も含めるとほぼ全臓器にわたると考えられる。症例ごとの臨床像の違いが大きく、臨床症

状のみでの診断の確定は困難であり、遺伝子診断が有用である。しかし、遺伝的異質性が高いために、診断の確定にはジレンマが伴う。ヌーナン症候群を含めて遺伝性疾患では、診断の確定がされない場合には、再発の可能性評価や予後の推定が難しくなる。発端者の診断がヌーナン症候群類縁疾患の遺伝カウンセリングでは不可欠である。一般に遺伝的異質性が高い疾患の遺伝子診断は膨大な労力を要する。このことは、精神遅滞や自閉症スペクトラムの病因解析で明らかになりつつある事実である。ヌーナン症候群類縁疾患も同様であり、網羅的解析が今後の課題である。次世代シーケンサ

一の導入はこうした遺伝的異質性の高い疾患の診断に対してきわめて有効である。しかし、その導入に当たっては多くの考慮すべき内容がある。今回、次世代シーケンスをヌーナン症候群類縁疾患および先天性の小児循環器疾患に導入することを前提とした場合の解析に関連する問題を検討した。Noonan 症候群類縁疾患も含めた先天性循環器疾患をターゲットとしたパネル解析を用いて、実際の Noonan 症候群症例での解析が可能か検討した。

B. 研究方法

対象は、臨床症状からヌーナン類縁疾患と診断された 1 例を含む 9 例で、他に複雑心奇形、心筋症症例を含んだ。解析方法として、HaloPlex カスタムパネル (Agilent) を用いて卓上型次世代シーケンサー MiSeq (Illumina) で解析を進めた。搭載遺伝子は、PTPN11、RAF1、SOS1 を含む 92 遺伝子で、設計は Agilent の専用ウィザードに従った。得られたデータは、当施設でのオリジナルパイプラインを用いた。variant マッピング: BWA 0.7.5a、重複検証: Picard 1.98、variant calling と indel realignments: GATK 2.7.2.、機能推定: ANNOVAR を組み合わせた。データの可視化は、IGV (Integrative Genomics Viewer) を用いた。参照ゲノムデータベースは、Exome Variant Server (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>)、1000 Genomes Project, などを用いた。また、HGMD (Human Gene Mutation Database: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>) の最新版も参考とした。日本人データベースとして Human Genetic Variation Database (<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB/>) を参照した。さらに日本人データの不足を補うため、施設内既存データ (in-house

データ) も参照する系とした。

解析にあたっては施設内倫理審査を経たのちに、対象症例に対して文書による同意のもとで解析を進めた。

(倫理面への配慮)

検討にあたっては全ての個人情報には潜在化させた。

C. 研究結果

9 症例は同時に 1 回のラン解析が可能であった。9 例の平均 read depths は 300 以上で、read depths > 20 がほぼ全例でターゲット領域 97%以上となった。Noonan 症候群症例では、PTPN11 (NM_002834) の exon13 に疾患特異的変異 c.1528C>G (p.Q510E) を検出することができた。この変異は、SHIFT および PolyPhen-2 いずれでも damaging score であり、種々のデータベースを参照した結果からも臨床症状に矛盾ないことを確認した。両親解析を進める予定とした。

D. 考察

ヌーナン症候群類縁疾患の遺伝子診断方法として、ヌーナン症候群類縁疾患責任遺伝子の一部を含む先天性の小児循環器疾患パネル解析の有用性を検証するために、同疾患遺伝子 92 個を搭載したパネル解析を行った。臨床応用として有用とみなされるカバー率や read depths を全例で確認でき、かつ実際の未検症例で疾患特異的変異を検出することができた。しかし、次世代シーケンスのプラットフォームに由来する解析の pitfall の可能性は否定できず、平均 depths は十分であるものの、領域ごとの差の潜在は否定できず、十分な注意が必要と考えられた。こうした浅い read 領域に疾患原因となる変異が存在する場合には variant call が

なされない可能性が高い。次世代シーケンスの臨床導入で注意すべき点と考えられた。また、既存データベースには限界があるため、in-house のデータベースの充実や、国内のデータの集約が課題である。

E. 結論

ヌーナン症候群類縁疾患の遺伝子診断における次世代シーケンスの導入を実際の症例を用いてパネル解析で検討した。データベースの有用性や限界、次世代シーケンスの pitfall への注意が必要である。そういった限界はあるものの、それでもなおその有用性は極めて高く、症例ごとの解析後の検証が今後の課題である。

F. 研究危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kuroda Y, Ohashi I, Tominaga M, Saito T,

Nagai JI, Ida K, Naruto T, Masuno M, Kurosawa K. De novo duplication of 17p13.1-p13.2 in a patient with intellectual disability and obesity. *Am J Med Genet A*. 2014;164:1550-4.

黒澤健司 ゲノムデータベースの利用 医学のあゆみ 2014;250:349-352.

黒澤健司 先天異常概論 別冊日本臨床 No.29.神経症候群（第2版）IV. 7-13.

2. 学会発表

黒澤健司 診療における次世代シーケンス解析 - 結果のまとめ方と伝え方 - 第38回日本遺伝カウンセリング学会 2014.27-29. 東大阪市

黒澤健司 小児科診療における次世代シーケンス解析. 第59回日本人類遺伝学会 2014.11.20-22. 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究委託業務（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患等実用化研究事業（難治性疾患実用化研究事業）））

研究分担報告書

「細胞内シグナル伝達異常による先天奇形症候群の病態解明と治療法開発の研究」

分担研究：ヌーナン症候群における中枢神経系奇形の研究

分担研究者：大阪府立母子保健総合医療センター 遺伝診療科主任部長 岡本伸彦

研究要旨

当科で診療を行ったNoonan症候群の中枢神経奇形合併例について検討を行った。ヌーナン症候群では中枢神経系の先天異常の合併はまれであるが、脳梁欠損や水頭症の合併例を経験した。RAS/MAPK系遺伝子は中枢神経系の発生においても重要な役割を有する。ヌーナン症候群では精神運動発達遅滞や発達障害などの臨床症状だけでなく、画像的にも明確な異常所見を認める例が存在する。

研究協力者

大阪府立母子保健総合医療センター

遺伝診療科

松田圭子、山本悠斗、吉井啓示、三島祐子

A. 研究目的

ヌーナン症候群（以下 NS）は先天性心疾患、成長障害、特徴的顔貌、精神運動発達遅滞、血液凝固障害、リンパ管形成障害、停留精巣などを特徴とする代表的な RAS-MAPK 系異常症（Rasopathy）である。常染色体性優性遺伝性疾患で、日本では 2000 人に 1 人程度の罹患率とされる。PTPN11 など複数の責任遺伝子が知られている。

RAS-MAPK 系異常症では精神運動発達遅滞やてんかんの合併があり、特に CFC 症候群ではその傾向がめだつ。

NS における中枢神経奇形の合併につい

て検討したので報告する。

B. 研究方法

検討対象は、当センター遺伝診療科で診療を受けた NS のうち、軽度脳室拡大などの軽微な異常を除く中枢神経系の合併症を伴った例である。

遺伝子解析の詳細は各論文に記載した。解析の前後に詳細な遺伝カウンセリングを行い、倫理的な配慮を行った。

C. 研究結果

【症例 1】 5 歳男児。

40 週 2930g、身長 47 cm、頭囲 30cm で出生。周産期に特記すべき異常なし。先天性の高度先天難聴を認めた。両側停留精巣で手術を受けた。心疾患の合併はなかった。乳児期より精神運動発達遅滞あり、座位は 1 歳すぎ、歩行開始は 3 歳であった。言語発達の遅れも顕著で、重度知的

障害を認めている。身長は 90.7cm (-1.8SD)、体重 14.3 kg (-0.4SD) 頭囲 48.3cm (-1.1SD)であった。発達遅滞の精査目的行った頭部 MRI で完全型脳梁欠損を認めた。特異顔貌と脳梁欠損の合併から Mowat-Wilson 症候群を疑ったが *ZEB2* 遺伝子変異はなかった。核型は 46,XY で、マイクロアレイ染色体検査でも病的な CNV 異常はなかった。

エクソーム解析で *PTPN11* 遺伝子 Exon3 に、c. A188G、p. Y63C 変異を同定した (Okamoto et al. Clin Genet)。この変異は NS の最初の *PTPN11* 遺伝子変異の報告 [Tartaglia et al. Nat Genet 2001] を含め、複数例で報告されている変異であった。臨床的に再評価したところ、NS の特徴を満たすと判断した。

一般的な NS 症例と比較して、精神運動発達遅滞が重く、相対的頭囲拡大傾向も認めなかった。

【症例 2】 10 歳女児。

在胎 39 週 3900g、53cm と出生体重は大きかった。羊水過多であった。特記すべき家族・既往症なし。心雑音あり心エコー検査で心房中隔欠損症、肺動脈狭窄を認めた。身体所見より NS を疑い、*PTPN11* 遺伝子変異を検索したが変異はなかった。

頭囲は相対的に大きめであり、眼間開離、両側眼瞼下垂、耳介低位、耳介後方回転、翼状頸、鳩胸変形など特徴的身体所見を認めた。10 歳で身長、体重とも -1.3SD と軽度の低身長であった。

頭部 MRI で完全型脳梁欠損症を認めた。てんかん発作はなく、脳波でも棘波はなかった。

両側の眼瞼下垂があり、眼瞼挙上術を受けた。

軽度精神運動発達遅滞であり、特別支援教育を必要とした。

新規遺伝子 *RITI* の解析の結果、変異が同定された (Aoki et al. 2013 Am J Hum Genet)。

【症例 3】 7 歳女児。

38 週 3200g で出生。NS に合致する身体所見、低身長、精神運動発達遅滞、肥大型心筋症、不整脈を認めた。進行性に頭囲増加があり、頭部 CT 検査を行ったところ、水頭症が判明し、脳神経外科でシャント手術を受けた。東北大学遺伝病学での解析で *RAF1* 遺伝子変異が判明した (p. S259F)。遺伝カウンセラーとともに遺伝子変異について説明した。DQ74 と境界域の遅れである。水頭症シャント術後、脳室拡大は存在するが経過は順調である。心筋症を合併している。-4SD 以下の低身長である。

D. 考察

NS の責任遺伝子が解明される以前に、臨床的に NS と診断された例で脳梁欠損の報告はあるが、症例 1 と 2 は遺伝子変異も同定された例である。

症例 1 は *PTPN11* 遺伝子変異による NS である。頭部 MRI で完全型脳梁欠損を合併した。本児にみられた *PTPN11* 遺伝子変異は過去にも複数例報告されているが、脳梁欠損の合併の記載はない。本例の精神運動発達遅滞は顕著で、他の *PTPN11* 変異例と比較してあきらかな差が見られた。これは脳梁欠損症が影響したと考えられ

る。この症例では脳梁欠損症の存在から、当初はNS以外の先天異常症候群の可能性を考慮したが、次世代シーケンサー解析では *PTPN11* 遺伝子以外にあきらかな病的変異は同定されなかった。

症例2は新しいNS責任遺伝子である、*RITI* 変異であった。現時点では本例以外に中枢神経奇形の合併例は報告されていない。*RITI* は神経系の分化や維持に役割をもつことが判明しており、中枢神経系の合併症についても注意すべきと考えられた。

症例3は先天性水頭症を合併した。NSやNS類縁疾患(RAS/MAPK症候群)での水頭症の報告は少ない。RAS/MAPK症候群では軽度の脳室拡大は時々経験するが、本例のように先天性水頭症でシャント手術を必要とする例はまれである。Zarateらは、*RAF1* 変異による Noonan 症候群6歳男児例でキアリ奇形I型、シャントを要した良性外水頭症、脳血管異常を認めた例を報告した。

Noonan 症候群類縁疾患は頭囲が大きい例が多く、水頭症が看過される可能性が否定できない。進行性の頭囲増加がみられる場合はCTやMRIによる精査が必要である。

Grippらは、*SHOC2* 異常によるNSで脳構造異常例を報告した。相対的大頭、良性外水頭症を示唆するくも膜下腔拡大、小さな後頭蓋窩、小脳扁桃下垂、脳室周囲異所性灰白質などの所見を見いだした。当センターで経験した *SHOC2* 遺伝子変異にいる Noonan 症候群症例では脳室拡大は認めず、*SHOC2* 異常例でも脳室拡大は必発所見ではないと考えられる。

NSでの中枢神経系の合併についてはほとんど報告はない。NSであっても、水頭症や脳梁欠損症を認めた場合、NSを鑑別から除外してしまう可能性があり、未診断例が存在する可能性もある。NSでは中枢神経系奇形を合併する可能性があることを念頭におくべきであろう。

E. 結論

大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科で診療を行った、NSと中枢神経系の先天異常の合併例をまとめた。

過去にはNSと中枢神経奇形の合併についてはまとまった報告はほとんどなかった。

NSにおいて精神運動発達遅滞の強い例や頭囲大の顕著な症例ではMRI検査などによる積極的な評価が必要と考えられた。

脳梁欠損症の鑑別においてもNSを考慮する必要がある。

参考文献

Zarate YA, Lichty AW, Champion KJ, Clarkson LK, Holden KR, Matheus MG. Unique Cerebrovascular Anomalies in Noonan Syndrome With *RAF1* Mutation. *J Child Neurol.* 2013;29:NP13-NP17.

Gripp KW, Zand DJ, Demmer L, Anderson CE, Dobyns WB, Zackai EH, Denenberg E, Jenny K, Stabley DL, Sol-Church K. Expanding the *SHOC2* mutation associated phenotype of Noonan syndrome with loose anagen hair:

structural brain anomalies and myelofibrosis.
Am J Med Genet A. 2013 ;161A:2420-30.

Shi GX, Cai W, Andres DA.
Rit subfamily small GTPases: regulators in neuronal differentiation and survival.
Cell Signal. 2013 ;25:2060-8.

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

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. 2014 Aug 25. doi: 10.1111/cge.12492. [Epub ahead of print]

他別途記載

2. 学会発表

H. 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

Noonan 症候群の乳幼児期の排便に関する研究

研究分担者 愛知県心身障害者コロニー中央病院
臨床第一部長 水野誠司

研究要旨

知的障害を伴う多くの先天異常症候群において、乳児期から新生児期の排便に間隔が長い、もしくは排便時に苦痛を伴う「便秘」が主要な合併症の一つであるのに対して、Noonan, Costello, CFC 症候群等の RAS/MAPK シグナル伝達系に関与する遺伝子群の変異に由来する症候群では、便秘の訴えを聞くことは少なく、むしろ排便の回数が多いことを実際の臨床の場で経験する。今回、分担研究者の勤務する病院に通院する上記症候群の患者を対象に、予備調査として聞き取りを行った。

Noonan 症候群の特徴として、「便秘が無い」ことが示唆された。多くの先天異常症候群の小児期において、便秘は家族が苦慮する合併症の一つであることから、本所見は他の先天異常症候群と RAS/MAPK 系の遺伝子群の先天異常症候群の鑑別診断に資する情報であると考えられる。

研究協力者

青木洋子(東北大学医学部 遺伝学)
村松友佳子(名古屋大学医学部小児科学)

名、SOS1:2名、KRAS:2名、SHOC2:1名)、CFC 症候群の患児9名(BRAF:6名、MEK1/2:3名)に対して、診察時に下記の項目を問診した。

問診項目と選択枝は以下の通り

乳幼児期に便秘で困ったことはあったか

| | 選択枝 |
|----|---------------------|
| a) | 便秘で対応に難渋、時に治療を要する |
| b) | どちらかという便秘傾向 |
| c) | どちらでもない |
| d) | どちらかという排便回数が多い |
| e) | 排便回数多く下痢気味 時に治療を要する |

A. 研究目的

遺伝学的な原因による先天異常症候群には、その症候群に特有の合併症、身体的特徴、認知行動の特性がある。それらの特徴を知ることにより、患者の全生活史における健康管理に役立たせることができる他、数多くの先天異常症候群の中から、特定の症候群を臨床診断するためにも有用である。

今回我々は臨床の場で、Noonan 症候群、CFC 症候群、Costello 症候群の乳幼児に便秘の訴えが少なく、むしろ他の小児よりも排便回数が多いことに着目し、予備調査として通院中に患児を対象に診察時に聞き取り調査を行った。

これらが明らかになることによって、本症候群の健康管理や育児指導に資する情報が得られると考える。

B. 研究方法

通院する Noonan 症候群の患児 15 名 (PTPN11: 9

(倫理面への配慮)

当院通院中の患者は未成年でありかつ知的障害を有するため、研究への参加としての情報の収集に際しては代理人である両親に対して説明を行い同意を得た上で、個人情報の保護の観点から患者氏名が特定されることのないように留意している。本研究の聞き取りは診療の範囲内の問診であり、集計上は個人情報が特定されるものはない。

C. 研究結果

問診結果を下記表 1 に示す。

Noonan 症候群患児 15 名中、乳幼児期に治療が必要な便秘、もしくはどちらかという便秘傾向を選択した症例は無く、どちらかという便の回数が多いが過半数であった。2 例は毎食後に排便がある、便の回数が多いことが日常生活での問題点になっていた。

CFC 症候群においては、便秘でも下痢でもどちらでもないが最多の 5 例であり、薬剤の使用を毎日必要とする便秘が 2 例、どちらかという回数が多いが 2 例であった。

| | a | b | c | d | e |
|--------|---|---|---|----|---|
| Noonan | 0 | 0 | 3 | 10 | 2 |
| CFC | 2 | 0 | 5 | 2 | 0 |

D. 考察

先天異常症候群において便秘の合併症は多く、知的障害を有する疾患においても、合併症として便秘のあるものは、ダウン症候群をはじめとする染色体異常症の他、Sotos 症候群、Pitt-Hopkins 症候群、FG 症候群など OMIM 検索においても 100 を越える先天異常症候群に便秘の合併症の記載がある。

先天異常症候群を有する小児の便秘の原因として、甲状腺ホルモンなどの内分泌異常や代謝疾患による便秘、腸の狭窄や回転異常などの腸の形態異常による便秘、ヒルシュスプルング病や二分脊椎などの神経系の異常による便秘がある。しかし先天異常症候群に広く認められる軽度の便秘は原因を特定できない非特異的な便秘である。

今回 Noonan 症候群において、便秘傾向を示す症例は 1 例も無く、過半数は便の回数が多い、どちらかという下痢気味を回答とする症例が過半数であった。CFC 症候群においては、薬物治療を要する症例が 2 例あった他は多くがどちらでもないを選択していて、特に便の回数が多いことを訴える回答は 2 例のみであった。CFC 症候群の場合は知的障害の程度が Noonan 症候群に比べて重度であること、合併症の程度も Noonan 症候群よりも重度であることなど、便秘傾向に関わる別の要因の存在も影響する。

Noonan 症候群において、乳幼児期の便秘の合併症が無く排便回数が多い理由として、胎児期に始まる全身の浮腫とそれに伴う腸管の浮腫が関与している可能性、頭髪が抜けるのが早い、爪が薄いなど、RAS/MAPK 症候群全体の特徴として細胞レベルの代謝活性が異なることなどが推測される他、音や味覚や触覚に対する過敏性が RAS/MAPK 症候群全体として強いことから、排便に関する感じ方が異なることも要因の一つとなり得る。

成人期以降の合併症については過去の報告例は極めて少ないが、Noonan 症候群の成人に蛋白漏出性腸炎を認めた報告例がある。

今後 RAS/MAPK 症候群は排便回数が多いという仮説をさらに検証するためには、症例数の増加及び対照群の選定、他の合併症や食事形態のマッチングなど統計学的手法を用いた調査検討が必要であろう。

E. 結論

Noonan 症候群において、「便秘が無い」ことがその特異的な所見であることが示唆された。本所見は他の先天異常症候群と RAS/MAPK 系の遺伝子群の先天異常症候群の鑑別診断に資する情報であるとも考える。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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 lentigines.

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

2. 学会発表

H. 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

厚生労働科学研究委託業務（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患等実用化研究事業（難治性疾患実用化研究事業）））
分担研究報告書

先天性異常症候群の集団外来を通じた患者家族支援について

研究分担者 大橋博文・埼玉県立小児医療センター遺伝科科長

研究要旨

本年度は、種々の先天異常症候群の疾患集団外来の開催を通じた患者家族支援について、分担研究を行った。集団外来の主な柱は、健康管理を中心とした疾患関連情報の提供と家族同士の意見交換によるピアカウンセリングとしての心理支援である。2014年5月～2015年1月までの間に、計16回の外来を開催した。取り上げた対象疾患は、本研究班の中心的対象疾患の1つであるコストロ症候群の他、モザイク型ダウン症候群、4pモノソミー症候群、アンジェルマン症候群、1qモノソミー症候群、9pトリソミー症候群、ソトス症候群、12pトリソミー症候群、18qモノソミー・環状18症候群、性染色体数的過剰症候群、カブキ症候群、プラダーウィリー症候群（2回）、スミスジェニス症候群、22q11.2欠失症候群、ウィリアムズ症候群である。参加家族数は3～24家族（平均9家族）、また他県からの参加家族も平均2家族あった。また、ヌーナン症候群・CFC症候群の家族を対象として本研究班全体のシンポジウムも開催され、生活上の留意点についての情報提供も行った。今後、臨床サイドからの患者情報の研究への連携、そして研究成果を含めた医学情報の患者・家族へのわかりやすい情報還元とピアカウンセリングによる心理支援について、小児医療機関における集団外来が一つの有効な場となるようにさらに検討を進めていきたい。

研究協力者

清水 健司（埼玉県立小児医療センター遺伝科）
小島 美佐子（同上）
張 香理（同上）

A. 研究目的

先天異常症候群は、多様な合併症に成長と発達の障害を伴うことも多く、基本的には根本治療が難しい。そして、家族にとってその疾患の名前を聞くことすら初めてであることが稀ではない。従って、家族が疾患の情報を理解することも容易ではなく、また周りに相談できるような同じ疾患をもつ家族もいない。このような先天異常症候群の診断を受けた患児・家族のもつ不安と孤独は深刻である。

一方、先天異常症候群の原因解明を中心とする医学研究の進展は目を見張るものがある。そして、疾患特異的な自然歴情報の蓄積も徐々に進んできた。これらの基礎的・臨床的研究成果を臨床現場へよりよく還元することが重要であるが、一般の診療現場では必ずしも十分とはいえない。その状況において、小児医療施設における個別の外来診察による健康管理にくわえて、先天異常症候群と診断された患児・家族に対する疾患単位の集団外来の（標準化した）開催について分担研究として取り組んだ。

B. 研究方法

1. 集団外来の実施

1) スタッフ

遺伝科医師、看護師、認定遺伝カウンセラーをコアスタッフとして集団外来の基本的な計画と運営を行い、テーマによっては院内・外専門家の協力も得た。また、集団外来開催当日の会場の設営や保育スペース運営については、医療秘書と埼玉県ボランティアクラブからの人材派遣の協力を依頼した。

2) 集団外来の計画と事前準備

a) 疾患とテーマの選定

疾患は、比較的頻度が高く受診患者数が多い疾患や、新たに診断を受けた患児がいる疾患、集団外来開催を家族が希望している場合、共有すべき重要な情報や新たな知見がある場合、臨床研究の推進との関連、などを基準としてフタツツで検討の上選定した。情報提供のテーマとしては、疾患概要（原因、診断、症状、健康管理、遺伝性など）、発達と療育、社会福祉資源などからスタッフミー

ティングで決定した。対象者が少数の場合には、互いの症状の共通性や家族の状況などには特に留意して開催の適否を慎重に判断した。

b) 案内の適否の確認

開催疾患が決まったら、遺伝科外来通院中の患児をリストアップし、案内をすることが適切かどうかを判断した。すなわち、診断が正しいか？、遺伝科での継続フォローができていないか？、診察状況（患児の病状や家族の状況など含めて）はどうか？、などについてカルテ等で確認した。

c) 案内の発送・申し込みの受付

家族への案内は郵送で行い、事前にファックスか郵送で参加申し込みをもらった保育スペース利用希望も記載)。その際、集団外来で知りたい医学的な情報や他の家族と話したいテーマなどの希望も知らせてもらった。

d) 参加者の症状や家族状況の情報整理

参加者が確定したら、参加者の症状や家族状況などをカルテから情報を整理しておいて、当日の集団外来の準備を行っておくとともに、事前質問に対する回答の準備を行った。

e) 集団外来当日の進行

集団外来は情報提供と家族交流の2部構成を基本とした。まず第1部で、遺伝科医師が中心となり、テーマによっては関連する専門の職種のスタッフに依頼して、講義を行った。家族交流では、最初に自己紹介とともに子どもの状況（子どもの良いところの紹介も）、心配点、他の家族に聞きたいこと、などを発言してもらった。その後、事前に寄せられた質問も考慮して、いろいろな事柄についての家族同士の意見交換を進めた。発言が特定の家族に偏ることなく全員が発言できるように配慮した。この家族交流は、認定遺伝カウンセラーが進行を担当した。その後、記念の参加者全員の集合写真を撮影した後、スタッフ側のコーディネートは終了してまったくの自由な時間として、気兼ねなく家族同士で会話できる時間も確保した。解散時に、集団外来の感想、希望、今後取り上げてもらいたいテーマなどのアンケートを配布し、後日回答してもらおうようにして、今後の外来の参考とした。

集団外来中には、保育スペースを隣室に準備した。保育のボランティアとして埼玉県ボランティアクラブに協力を依頼した。完全に預かる保育はスタッフの人数や施設の条件などから困難であるため、あくまで保育スペースの提供として、子どもの管理は親御さんをお願いした。

(倫理面への配慮)

本研究は外来診療の枠組みで行う集団外来の実施であり、個人の生体試料を用いた遺伝学的解析等の施行はない。

C. 研究結果

2014年5月～2015年1月までの間に、計16回の外来を開催した。取り上げた対象は、本研究班の中心の対象疾患であるコステロ症候群の他、モザイク型ダウン症候群、4pモノソミー症候群、アンジェルマン症候群、1qモノソミー症候群、9pトリソミー症候群、ソトス症候群、12pトリソミー症候群、18qモノソミー・環状18症候群、性染色体数的過剰症候群、カブキ症候群、プラダーウィリー症候群(2回)、スミスマジエニス症候群、22q11.2欠失症候群、ウィリアムズ症候群である。参加家族数は3～24家族(平均9家族)であり、他県からの参加家族も平均2家族あった(表1)。また、これらに加え、ヌーナン症候群・CFC症候群の家族を対象として開催された本研究班全体のシンポジウムにおいても生活上の留意点についての情報提供を行った。

D. 考察

先天異常症候群の診断と健康管理を行う医療機関において、それと平行して開催される集団外来は患児家族の病識の形成とともに心理的支援としても有益と考えられる。しかし、このような様々な稀少先天異常症候群の集団外来を定例的に開催している医療機関は少ない。当センターは埼玉県という比較的人口の多い地域の小児専門医療施設であり、稀少疾患であっても複数の患児が通院している場合が多く、また近隣の都県からもアクセス可能である。こういった地域における小児医療のセンター的機能の一つと位置づけて、先天異常症候群の集団外来を進めていきたい。

E. 結論

種々の先天異常症候群の疾患集団外来の開催を通じた患者家族支援について、分担研究を行った。先天異常症候群の診断と健康管理を行う医療機関において、それと平行して開催される集団外来は患児家族の病識の形成とともに心理的支援としても有益と考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. 論文発表

表1. 2014年度開催 先天異常症候群集団外来開催

| 日付 | 疾患名 | テーマ | 家族数 | 参加人数 | 他県よりの家族数 | 他県よりの総人数 |
|------------|--------------------|-----------------------------|-----|--------|----------|----------|
| 2014/5/13 | モザイク型ダウン症候群 | 自由意見交換 | 11 | 26 | 3 | 10 |
| 2014/5/20 | コステロ症候群 | 健康管理について | 6 | 12 | 0 | 0 |
| 2014/6/3 | 4pモノソミー症候群 | 情報提供 ～調査結果の報告～ | 5 | 14 | 2 | 5 |
| 2014/6/17 | アンジェルマン症候群 | 新患の概要と健康管理について | 5 | 12 | 0 | 0 |
| 2014/7/8 | 1qモノソミー症候群 | 臨床情報と健康管理について | 3 | 9 | 0 | 0 |
| 2014/7/29 | 9pトリソミー症候群 | 疾患の概要と健康管理 | 3 | 8 | 0 | 0 |
| 2014/8/5 | ソトス症候群 | 疾患の概要と健康管理 | 17 | 45 | 2 | 6 |
| 2014/8/26 | 12pトリソミー症候群 | 疾患の概要と健康管理 | 4 | 15 | 1 | 3 |
| 2014/9/2 | 18qモノソミー・r(18)症候群 | 自由意見交換 | 3 | 6 | 0 | 0 |
| 2014/9/9 | 性染色体数的過剰症候群 | 性染色体の変化と健康 | 5 | 12 | 0 | 0 |
| 2014/10/7 | カブキ症候群 | 肥満と食事について 低カロリーカレーを食べながら | 17 | 37 | 11 | 25 |
| 2014/11/4 | ブラダーウィリー症候群(未就学) | 健康管理 | 6 | 14 | 2 | 6 |
| 2014/11/11 | スミスジェニス症候群 | 睡眠障害について | 4 | 13 | 1 | 3 |
| 2014/12/2 | 22q11.2欠失症候群 | 口腔内衛生について | 15 | 31 | 1 | 4 |
| 2014/12/9 | ウィリアムズ症候群 | 先輩ご家族のお話 | 24 | 55 | 7 | 17 |
| 2015/2/10 | ブラダーウィリー症候群(学童期以降) | 本人との関わり方 | 17 | 21 | 3 | 5 |
| 合計 | | | 145 | 330 | 33 | 84 |
| 平均 | | | 9.1 | 20.625 | 2.0625 | 5.3 |

- 1) Kaneko M, Ohashi H, Takamura T, Kawame H. Psychosocial responses to being identified as a balanced chromosomal translocation carrier: A qualitative investigation of parents in Japan. J Genet Couns (accepted)
- 2) 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 9:125.
- 3) Okada M, Ikegawa S, Morioka M, Yamashita A, Saito A, Sawai H, Murotsuki J, Ohashi H, Okamoto T, Nishimura G, Imaizumi K, Tsumaki N. Modeling type II collagenopathy skeletal dysplasia by directed conversion and induced pluripotent stem cells. Hum Mol Genet. 2015 24:299-313
- 4) Tsurusaki Y, Koshimizu E, Ohashi H, Phadke S, Kou I, Shiina M, Suzuki T, Okamoto N, Imamura S, Yamashita M, Watanabe S, Yoshiura K, Kodera H, Miyatake S, Nakashima M, Saito H, Ogata K, Ikegawa S, Miyake N, Matsumoto N. De novo SOX11 mutations cause Coffin-Siris syndrome. Nat Commun. 2014 5:4011.
- 5) Maeda T, Higashimoto K, Jozaki K, Yatsuki 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 to aberrant methylation in Beckwith-Wiedemann syndrome with epimutations. Genet Med. 2014 16(12):903-12.
- 6) 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 164A:597-609

2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
特になし。

Cardio-facio-cutaneous 症候群の臨床症状の多様性

研究分担者 川目 裕

東北大学 東北メディカル・メガバンク機構人材育成部門

遺伝子診療支援・遺伝カウンセリング分野 教授

研究要旨

RAS/MAPK 細胞内シグナル伝達異常による先天奇形症候群，すなわち Rasopathy の臨床における診断，健康管理点を明らかにするために，遺伝学的検査にて診断された Cardio-facio-cutaneous 症候群の 2 例の臨床症状を検討した．Cardio-facio-cutaneous 症候群の前向き長期予後を含めた，さらなる臨床経過に焦点をあてた臨床研究が必要である．

研究協力者

なし

A. 研究目的

RAS/MAPK 細胞内シグナル伝達異常による先天奇形症候群のひとつである Noonan 症候群類縁症候群の病体解明のためには，その症例数の蓄積と遺伝子型と臨床型のデータの蓄積が必須である．さらに，我が国において，Noonan 症候群類縁症候群に含まれる CFC (Cardio-facio-cutaneous 症候群：CFCS) の臨床症状のスペクトラムは未だあきらかでない．そこで，今回は，CFCS を有する 2 症例の臨床症状を報告する．

B. 研究方法

臨床症状から CFCS が疑われ，遺伝学的検査にて病的変異を認めた 2 症例について，その臨床症状を後方視的に検討．

(倫理面への配慮)

遺伝学的検査については，本学倫理委員会にて承認済み．検査前の遺伝カウンセリングとともに説明と同意を得て施行した．

C. 研究結果

【症例 1】5 歳 4 ヶ月，男児．心房中隔欠損，肺動脈狭窄にて循環器科で経過観察中．Noonan 症候群 (NS)

の疑いにて診断目的で臨床遺伝外来に紹介．第 1 子，妊娠中，および周産期に特記すべきことなし．家族歴には特記すべきことなし．胸郭の前後径の拡大，軽度の非対称，外陰部特記すべきことなし，指趾に persistent finger pads，頭部顔面部は，粗な頭髪，広い前額，薄い眉毛，眼瞼裂斜下，右眼瞼下垂，右間欠性斜視．軽度の筋緊張低下．保育園年長で，要求は文章や単語で伝えること可能．新版 K 式：姿勢-運動：3 歳 1 ヶ月，認知-適応：5 歳 1 ヶ月，言語-社会性：4 歳 2 ヶ月 (5 歳 4 ヶ月時)．

皮膚には明らかな湿疹，角化，色素異常など認めず．けいれんなし．中耳炎を繰り返していた．

臨床症状の組み合わせからは，Noonan 症候群，あるいは CFC 症候群が疑われた．

MAP2K2 c.401A>G (p.Y134C)の既知の病的変異を認めた．

【症例 2】3 歳 2 ヶ月，女児．Costello 症候群 (CS) の疑いにて神経科より臨床遺伝外来に診断目的で紹介．第 2 子，同胞兄，健康．その他家族歴に特記すべきことなし．妊娠中に羊水過多の指摘．36 週，2884g で出生．出生後，カールした頭髪，肺動脈狭窄，両側水腎症を指摘．以後，哺乳障害を認める．発達の遅れ，療育にて神経科に受診中．身長：-2.8SD，体重：-2.0SD，頭囲：-0.4SD と相対的大頭．胸郭の前後径の拡大．腹部，外陰部特記すべきことなし．指趾には persistent

finger pads. CSに認めるような手の尺側偏位や足部の位置異常なし. 頭部顔面部は, カールした粗な毛髪, やや高い前額, 粗な眉毛, 耳介の後方回転. 皮膚は, 軽度の色黒, しかし湿疹や角化なし. 筋緊張低下, 栄養は経管. 経口からの食事はほとんど受け付けない. 嘔吐なし. 正式な発達評価は未であるが, 遠城寺式にて, 運動, 社会性, 言語ともに11ヶ月レベル.

臨床症状の組み合わせからは, CSは否定され, CFC症候群が疑われた.

BRAF 遺伝子に c. 770A>G (p.Q257R)の既知の病的変異を認めた.

D. 考察

CFC症候群(CFCS)は, RAS/MAPK細胞内シグナル伝達異常症, 即ちRasopathyに含まれる先天異常症候群である. CFCSは臨床症状の組み合わせによって診断され, Kavamura indexも診断に用いられる. しかし, その症状はNS, またHRAS変異によって診断されるCSと大幅なオーバーラップがある. さらにCFCSと臨床診断された症例の20-30%において, 既知の責任遺伝子であるBRAF, MAP2K1, MAP2K2に変異が見いだせない(Ciara et al., 2015). 臨床現場では, その診断の困難さ, さらに臨床症状の多様性からの健康管理の標準化は, 依然, 課題になっている.

今回, 2症例について, CFCSの診断が確定した. 紹介元の小児科医は, 1例はNS, 1例は, CSというその臨床症状の大きく異なる疾患の疑いのもと紹介に至った. 経過についても, 1例は, 心疾患を契機に幼児期に疑いを受けていたが, 1例は, 出生直後より明らかな顔貌の特徴や臨床症状を有しており, 何らかの先天異常症候群の疑いを有していた. 即ち, 同じCFCSであっても, その経過と臨床症状は大きく異なっていた.

CFCSにおいては, 遺伝子型と臨床症状の相関についても検討されている. しかし, 症例数が十分でないことなどから, 未だコンセンサスは得られていない. しかし, 今回の症例2に認められた変異は, BRAFの3つのcommon mutationのうちのひとつであった. 本変異は, 胎生期から症状を発現する最も典型的なCFCSの変異であり, かつ近年は, 発達の遅れは他のBRAF変異を有する子どもより軽度の可能性が指摘

されている. 今後の発達の経過観察が必要である.

最近, American Academy of Pediatrics (米国小児科学会)より, CFCSの診断・管理のガイドラインが発表されている. 北米の医療状況を反映しているものであるが, 健康管理等について, 非常に有益なガイドラインである. このガイドラインでは, CFCSが疑われた場合には, 必ず遺伝学的検査を行うように推奨されている. 検査は“Cost-effective”と記載されており, 北米では, 遺伝子パネルが第1選択とされる. もしCFCSの責任遺伝子が陰性の場合には, 他のRasopathyの遺伝子の検索が勧められている. このように本症候群の臨床において, 遺伝学的検査が必須のものになっている. 本年, 1月から本症候群も小児慢性特定疾病の指定がなされた. よって, 米国のガイドラインの推奨からも, 正確な診断・健康管理のために, 我が国でも保健適応にて, 本症候群の遺伝学的検査の導入が望まれる.

E. 結論

遺伝学的検査にて診断されたCFCSの2例を報告した. より良い診断・健康管理のためには, 遺伝子型が確定されたCFCSの子どもたちの長期予後を含めた, さらなる臨床経過に焦点をあてた前向き臨床研究による知見の収集が必要である.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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. 164A:324-30, 2014
- 2) 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. 164A:597-609, 2014

3) Yamamoto T, Mencarelli MA, Di Marco C, Mucciolo M, Vascotto M, Balestri P, Gérard M, Mathieu-Dramard M, Andrieux J, Breuning M, Hoffer MJ, Ruivenkamp CA, Shimada S, Sangu N, Shimojima K, Umezu R, Kawame H, Matsuo M, Saito K, Renieri A, Mari F. Overlapping microdeletions involving 15q22.2 narrow the critical region for intellectual disability to NARG2 and RORA. Eur J Med Genet. 57:163-8, 2014

2. 学会発表

1) 小林朋子、川目 裕. Infantile spasms を呈した Pallister-Killian 症候群の 2 例. 第 56 回日本小児神経学会総会, 2014 年 5 月

2) 渡辺基子, 川目裕, 沼部博直, 斎藤加代子. ゲノム医療に関する認定遺伝カウンセラーの意識調査. 第 38 回日本遺伝カウンセリング学会, 2014 年 6 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

次世代シーケンサーを用いた RAS/MAPK 症候群の遺伝子解析

研究分担者 新堀哲也 東北大学大学院医学系研究科 助教

研究要旨

RAS/MAPK 症候群 (Rasopathies) はシグナル伝達経路である RAS/MAPK 経路を制御する分子に変異を持つ先天奇形症候群の総称である。我々は次世代シーケンサーを用いた RAS/MAPK 症候群原因遺伝子の解析系を構築し、陽性対照および変異未同定検体で解析を行った。陽性対照の解析で 1 塩基置換が同定出来ない場合が存在した。手法の特性を認識したうえで解析を行う必要がある。

研究協力者

井泉瑠美子(東北大学遺伝病学分野)

守谷充司(東北大学遺伝病学分野)

大場大樹(東北大学遺伝病学分野)

矢尾板全子(東北大学遺伝病学分野)

西山亜由美(東北大学遺伝病学分野)

A. 研究目的

RAS/MAPK 症候群 (Rasopathies) は細胞外から核へのシグナル伝達経路である RAS/MAPK 経路を制御する分子に変異を持つ先天奇形症候群の総称であり、Noonan 症候群、Costello 症候群、cardio-facio-cutaneous 症候群などを含む。これまで我々は 700 例を超える RAS/MAPK 症候群 (疑い例含む) についてキャピラリーシーケンサーを用いた遺伝子解析を行ってきたが、2001 年に Noonan 症候群の原因遺伝子 PTPN11 が初めて同定されて以降、RAS/MAPK 症候群の原因遺伝子は 13 以上となっている。キャピラリーシーケンサーによる全遺伝子・全エクソンの解析はコストおよびマンパワー的に大きな負担となっており、遺伝子診断目的の解析では変異報告のあるエクソンを主な解析ターゲットとしていた。

近年、デスクトップ型次世代シーケンサーおよびターゲットリシーケンスのためのライブラリ調製キットが普及し、数十遺伝子程度の解析に最適なツールとなっている。我々は Miseq (イルミナ社) および Haloplex キット (Agilent 社) を用いた解析系を構築

し、診断目的利用に向けた検証を行った。

B. 研究方法

対象は、陽性対照として以前の解析で変異が確認されている RAS/MAPK 症候群患者 18 例および変異が確認されていなかった 96 例。Haloplex のデザインは SureDesign を用いて行い、PTPN11、HRAS、KRAS、BRAF、MAP2K1、MAP2K2、SOS1、RAF1、SHOC2、CBL、NRAS、RIT1、RRAS 等を含む 24 遺伝子 (178kb) を解析対象とした。そのうち 99.6% の領域をカバーするライブラリのデザインが可能であった。患者 DNA を用い、Haloplex キットを用いてライブラリ調製を行った。1 ランあたり ~24 サンプルのライブラリをプールし、Miseq で 151bp ペアエンドで塩基読み取りを行った。マッピング、バリエーションコール、アノテーション付加等は bwa、GATK、ANNOVAR 等を用いて行った。

(倫理面への配慮)

本研究における遺伝子解析研究は 3 省庁の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に沿って行った。本研究は、すでに東北大学医学部倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1 サンプルあたり、ターゲット領域での平均冗長度は 384 倍のデータを得た。20 倍以上でカバーされる