

四肢形成不全の疾患概念と重症度分類法の確立に関する研究
遺伝子診断ならびに小児科領域からの疾患概念と重症度分類の確立支援

研究分担者 緒方 勤 浜松医科大学小児科教授

研究要旨 本研究の目的は、遺伝子診断ならびに小児科領域からの四肢形成の疾患概念と重症度分類法の確立である。本年度は、遺伝子診断による裂手裂足症関連の発症機序を解明した。すなわち、裂手裂足症および裂手裂足症 + 脛骨欠損症、Gollop-Wolfgang complex (GWC)を有する 51 家系、ならびに、GWC 様の骨奇形を有する患者において、*BHLHA9* という肢芽 (将来四肢となる原器) で発現している遺伝子を含む約 200 kb の日本人創始者効果であるコピー数増加 (duplication/triplication) を同定した。そして、この duplication/triplication を 1 回の PCR で同定できる方法を確立した。これは、裂手裂足症およびその類縁疾患の遺伝子診断に大きく貢献する成果である。

A. 研究目的

本研究の目的は、遺伝子診断ならびに小児科領域からの四肢形成の疾患概念と重症度分類法の確立である。本年度は、遺伝子診断による裂手裂足症関連の発症機序を解明した。

B. 研究方法

裂手裂足症および裂手裂足症 + 脛骨欠損症、Gollop-Wolfgang complex (GWC)を有する 51 家系、ならびに、GWC 様の骨奇形を有する患者である。

(倫理面での配慮)

本研究の遂行にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守し、検体の収集を含めた研究計画については、国立成育医療センター、および検体収集施設において予め倫理委員会の承認を得ている。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。

C. 研究結果

裂手裂足症および裂手裂足症 + 脛骨欠損症、Gollop-Wolfgang complex (GWC)を有する 51 家系の解析：表現型は図 1 に示すとおりである。われわれは、大腿骨・脛骨・裂手裂足症を伴う患者、脛骨・裂手裂足症を伴う患者、裂手裂足症のみを伴う患者を有する 51 家系を解析し、27 家系において、全く同一の日本人創始者効果

による *BHLHA9* を伴う 210,050 bp の duplication/ triplication を見いだした(図 2)。そして、この duplication/triplication を有する同一家系内に、大腿骨・脛骨・裂手裂足症を伴う患者、脛骨・裂手裂足症を伴う患者、裂手裂足症のみを伴う患者、正常保因者が存在することから(図 3)

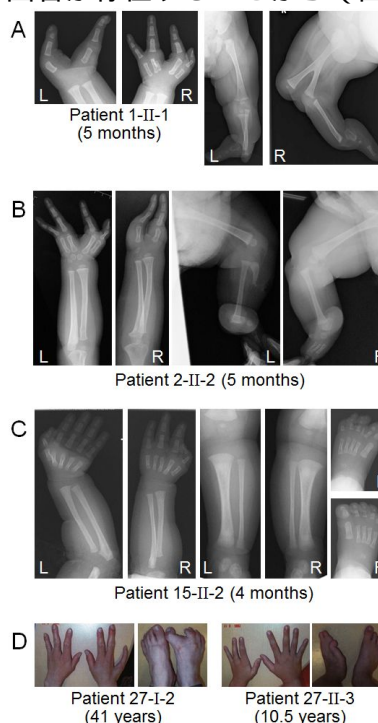


図 1. 裂手裂足症ならびにその類縁疾患臨床像。A: Gollop-Wolfgang complex (GWC), B: 裂手裂足症 + 脛骨欠損症、C/D: 裂手裂足症。

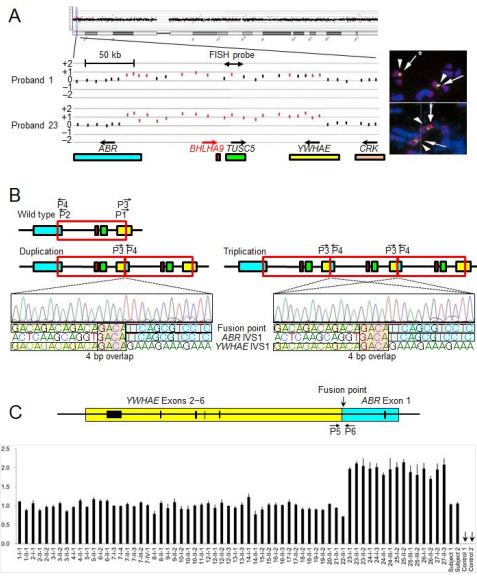


図 2. 同定された重複・3 重複領域。全ての患者で融合点構造は同一である。

重症度・浸透度を決定する修飾因子の同定を試みた (図 4)。しかし、修飾因子は現在同定されていない。おそらく、修飾因子複数存在すると思われる。

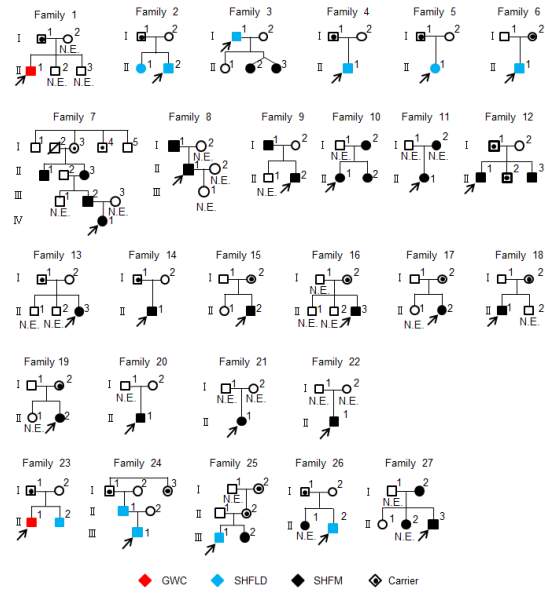


図 3. BHLHA9 を伴う 210,050 bp の duplication/ triplication を伴う 27 家系。大腿骨・脛骨・裂手裂足症を伴う患者 (GWC)、脛骨・裂手裂足症を伴う患者 (SHFLD)、裂手裂足症のみを伴う患者 (SHFM)、正常保因者 (Carrier) が存在する。

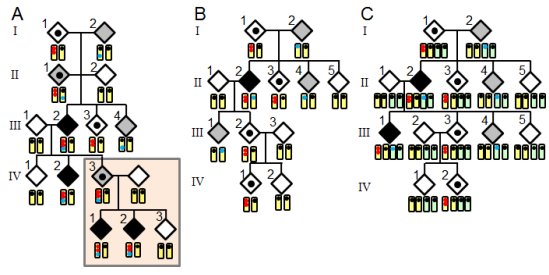


図 4. 修飾因子を重複近傍(A)、重複染色体の相同染色体上 (B)、別の染色体上 (C)に仮定した概念図。

GWC 様の骨奇形を有する患者：表現型は図 5 に示すとおりである。この家系においても、母親を保因者とする同一の triplication が患者において同定された。

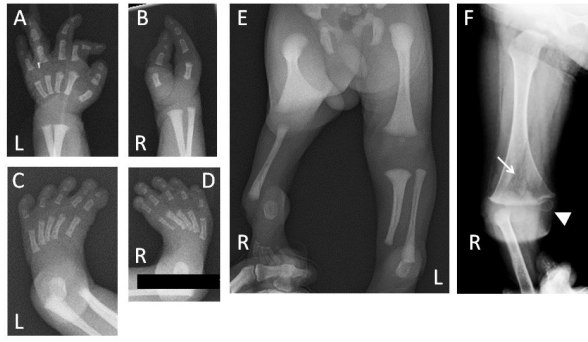


図 5 . 患者の臨床像。

D . 考察
日本人のある祖先の一人において BHLHA9 を含む重複が生じ、主に表現型正常の保因者を介して領域内ゲノム構造の多様性を獲得しながら日本全体に広がり、コピー数増加に加えて、ある特定の遺伝的・環境的背景を有する個体で裂手裂足症およびその類縁疾患を招いていると推測される。重要な点として、重複融合点を増幅する PCR で迅速かつ正確な診断が可能であることが示された。

E . 結論
裂手裂足症および裂手裂足症 + 脛骨欠

損症、Gollop-Wolfgang complex (GWC)を有する 51 家系、ならびに、GWC 様の骨奇形を有する患者において、*BHLHA9* という肢芽（将来四肢となる原器）で発現している遺伝子を含む約 200 kb の日本人創始者効果であるコピー数増加（duplication/triplication）を同定した。そして、この duplication/triplication を 1 回の PCR で同定できる方法を確認した。これは、裂手裂足症およびその類縁疾患の遺伝子診断に大きく貢献する成果である。

F . 健康危険情報

該当なし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Nagata E, Haga N, Ohtaka K, Fujisawa Y, Fukami M, Nishimura G, Ogata T: Femoral-Tibial-Digital malformations in a boy with the Japanese founder triplication of *BHLHA9*. *Am J Med Genet A* 167A (12): 3226–3228, 2015.
2. Isojima T, Sakazume S, Haegawa T, Ogata T, Nakanishi T, Nagai T, Yokoya S: Growth references for Japanese individuals with Noonan syndrome. *Pediatr Res* 79(4): 543-548, 2016.
3. Matsubara K, Murakami N, Fukami M, Kagami M, Nagai T, Ogata T: Risk assessment of medically assisted reproduction and advanced maternal ages in the development of Prader-Willi syndrome due to UPD(15)mat. *Clin Genet* 89(5): 614-619, 2016.
4. Yaoita M, Niihori T, Mizuno S, Okamoto N, Hayashi S, Watanabe A, Yokozawa M, Suzumura H, Nakahara A, Nakano Y, Hokosaki T, Ohmori A, Sawada H, Migita O, Mima A, Lapunzina P, Santos F, Garcia S, Ogata T, Kawame H, Kurosawa K, Ohashi H, Inoue S, Matsubara Y, Kure S, Aoki Y: Spectrum of mutations and genotype-phenotype analysis in Noonan syndrome patients with *RIT1* mutations. *Hum Genet* 135 (2): 209–222, 2016.
5. Saito K, Matsuzaki T, Iwasa T, Miyado M, Saito H, Hasegawa T, Homma K, Inoue E, Kubota T, Irahara M, Ogata T, Fukami M: Steroidogenic pathways involved in androgen biosynthesis in

eumenorrheic women and patients with polycystic ovary syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol* 158: 31-37, 2016.

6. Shima H, Tanaka T, Kamimaki T, Dateki S, Muroya K, Horikawa R, Kanno J, Adachi M, Naiki Y, Tanaka H, Mabe H, Yagasaki H, Kure S, Matsubara Y, Tajima T, Kashimada K, Ishii T, Asakura Y, Fujiwara I, Soneda S, Nagasaki K, Hamajima T, Kanzaki S, Jinno T, Ogata T, Fukami M: Japanese SHOX study group: Systematic molecular analyses of SHOX in Japanese patients with idiopathic short stature and Leri-Weill dyschondrosteosis. *J Hum Genet* 2016 Mar 17 [Epub ahead of print].

2. 学会発表

省略

H . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし