

〔Ⅲ〕

分担研究報告書

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

ヌーナン症候群関連疾患の研究

研究分担者 松原 洋一
国立研究開発法人国立成育医療研究センター 研究所長

研究要旨

ヌーナン症候群類縁疾患として次々に新しい病態が発見されており、その概念はいまだ流動的で拡大しつつあるしている。今年度は最近注目を浴びている体細胞モザイクによるヌーナン症候群類縁疾患について検討と情報収集を行った。

A. 研究目的

本分担研究では、国際標準に立脚した奇形症候群領域の診療指針に関する学際的・網羅的検討のうち、ヌーナン症候群関連疾患について検討を行うことが目的である。

ヌーナン症候群類縁疾患は、その疾病発症機構が細胞内シグナル伝達経路Ras/MAPKに起因していることから、近年はRasopathiesあるいはRas/MAPK症候群という概念でとらえられている。現時点でも新しい病態が発見されていることから、その概念はいまだ流動的であり拡大しつつものと考えられる。今年度は体細胞モザイクによる関連疾患症例について検討をおこなった。これらの情報を遅滞なく収集し、ヌーナン症候群類縁疾患の診断基準及び診療指針に取り入れていくことが重要と考えられる。

B. 研究方法

本分担研究者が未診断疾患イニシアチブ（IRUD-P）等の研究プロジェクトで同定したrasopathy症例について検討を行うとともに、それに関連した文献検索による情報収集を行った。

（倫理面への配慮）

本分担研究の範囲内では、ヒトの検体や個人情報扱わないため、倫理委員会での審査などの特段の配慮は必要ないと考えられる。

C. 研究結果

1) Rasopathy症例の検討

<症例1>

18歳女性。特記すべき家族歴なし。生後6か月より皮膚の疣贅性丘疹および斑状褐色部位の存在に気づかれていた。この病変部の皮膚から得られたDNAに対して全ゲノム解析を行ったところ、病変皮膚部位にのみHRAS遺伝子のc. 34G>A (p. G12S)変異がヘテロで検出された。

この遺伝子変異は病変皮膚部位および病変部の毛にのみ同定され、末梢白血球DNAや正常皮膚の毛には認められなかったことから体細胞のモザイク変異と考えられた。

<症例2>

女兒。一卵性双生児のうちのひとり。出生時より多発性丘疹/結節、右眼の異常（小眼球、翼状片、coloboma、角膜嚢胞、虹彩欠損、水晶体混濁）、水頭症を有していた。神経学的には痙攣、右側難聴があり追視がなかった。もう一人の双生児には異常をみとめなかった。生後42日に脳腫瘍がみつき、生後65日に行われた生検でanaplastic astrocytomaと診断された。同時に行われた右頬腫瘍は病理学的に

syringocystadenoma papilliferumと診断された。脳腫瘍、皮膚腫瘍、健常皮膚、末梢白血球から抽出されたDNAに対して網羅的遺伝子解析（whole exome sequencing）を行ったところ、BRAF遺伝子のc. 1799T>A 変異 (p. V600E) をanaplastic astrocytoma の37%に、syringocystadenoma papilliferum の23%に同定した。この変異は健常皮膚及び白血球には認められなかった。このことから患児はBRAF c. 1799T>A 変異 (p. V600E) の体細胞モザイクと考えられた。生後78日より開始された脳腫瘍に対する化学療法（カルボプラチン、エトポシド、テモゾロミド）が無効であったため、BRAF V600E特異的に作用するvemurafenibを開始したところ、脳腫瘍が劇的に縮小した。

2) Mosaic rasopathyの文献検索

文献検索によると、mosaic rasopathiesとして、以下の疾患が報告されている（カッコ内は病因遺伝子）

- ① Kerationocytis epidermal nevus (*HRAS*, *KRAS*, *NRAS*)
- ② Kerationcytic epidermal nevus syndrome (*HRAS*, *KRAS*)

- ③ Sebaceous nevus (*HRAS*, *KRAS*)
- ④ Segmental neurofibromatosis type I (*NF1*)
- ⑤ Schimmelpenning syndrome (*HRAS*, *KRAS*)
- ⑥ Schimmelpenning-like syndrome (*BRAF*)
- ⑦ Mosaic Costello syndrome (*HRAS*)

D. 考察

これまでに同定された mosaic rasopathies のほとんどは、罹患皮膚や腫瘍組織などの肉眼的に識別可能な病変部位の存在によって体細胞モザイクが疑われ、その部位に遺伝子変異を同定することによって発見されている。通常の遺伝子解析では血液検体を用いるため、そのような手法ではモザイクの存在は検出できなかったと思われる。

代表的な rasopathy のひとつである Costello 症候群のモザイクは 2 例報告されている。1 例は典型的な臨床症状を有するものの血液検体では遺伝子変異は検出されなかった。頬粘膜擦過検体を検索したところ、*HRAS* 遺伝子 G12S 変異が 30% の割合で同定された

(Gripp et al. *AJMG* 140A:2163-9, 2006)。2 例目は典型的な Costello 症候群の父親で、*HRAS* 遺伝子 G12S のモザイク変異が確認された (Sol-Church et al. 149A:315-21, 2009)。

現在広く行われている血液検体のみを用いる遺伝子検査では、モザイク変異を同定することは不可能なことも多い。また、皮膚以外の組織（例えば中枢神経系や心筋組織）におけるモザイク変異を検出することは困難である。このことから、多くの潜在的なモザイク症例が見逃されている可能性があり、その中には Ras/MAPK 経路の新規病因遺伝子の異常に基づく疾患群も存在していると推測される。

E. 結論

ヌーナン症候群類縁疾患では、モザイク変異を念頭に置いた遺伝子解析が重要である。

ヌーナン症候群類縁疾患のスペクトラムは今後も拡大していくものと考えられ、それぞれに応じた診断指針・診療指針の作成が必要になると思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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-Simarro F, García-Miñaur 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):209-22, 2016

- 2) Aoki Y, Niihori T, Inoue SI, Matsubara Y. Recent advances in RASopathies. *J Hum Genet.* 61(1):33-9, 2016.
- 3) Higasa K, Miyake N, Yoshimura J, Okamura K, Niihori T, Saito H, Doi K, Shimizu M, Nakabayashi K, Aoki Y, Tsurusaki Y, Morishita S, Kawaguchi T, Migita O, Nakayama K, Nakashima M, Mitsui J, Narahara M, Hayashi K, Funayama R, Yamaguchi D, Ishiura H, Ko WY, Hata K, Nagashima T, Yamada R, Matsubara Y, Umezawa A, Tsuji S, Matsumoto N, Matsuda F. Human genetic variation database, a reference database of genetic variations in the Japanese population. *J Hum Genet.* 61(6):547-53, 2016.
- 4) Honda A, Umegaki-Arao N, Sasaki T, Nakabayashi K, Hata K, Matsubara Y, Tanikawa A, Amagai M, Kubo A. Somatic *HRAS* p.G12S mosaic mutation causes unilaterally distributed epidermal nevi, woolly hair and palmoplantar keratosis. *J Dermatol.* 2017 Mar 11. doi: 10.1111/1346-8138.13801

2. 学会発表

- 1) 松原洋一 : Rasopathies: from molecular mechanism to clinical practice. The 50th Annual Meeting of the Japanese Society for Pediatric Endocrinology/the 9th Biennial Scientific Meeting of the Asia Pacific Paediatric Endocrine Society, 2016 年 11 月 10 日、東京国際フォーラム

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

「マルファン症候群」「ロイス・ディーツ症候群」

研究分担者 森崎裕子

公益財団法人日本心臓血圧研究振興会附属 榊原記念病院 臨床遺伝科 医長

研究要旨

マルファン症候群（MFS）は、*FBNI*遺伝子の変異により結合組織の主要成分のひとつであるフィブリリンの質的あるいは量的異常をきたし、クモ状指・側弯・胸郭異常・扁平足などの骨格症状、水晶体偏位・近視・乱視などの眼症状、大動脈瘤/解離・僧帽弁異常などの心血管症状など、全身性に多彩な表現型を呈する遺伝性疾患である。一方、ロイス・ディーツ症候群（LDS）は、*TGF-β*シグナル伝達系の機能異常により発症する疾患で、2005年に*TGFBR1*および*TGFBR2*が原因遺伝子として報告されたが、その後、*TGFBR2*、*SMAD3*、*TGFBR3*などの遺伝子変異も類似の臨床症状を呈することが明らかとなり、広義のLDSに分類されている。しかし、臨床所見は原因遺伝子、あるいは遺伝子変異ごとに罹患臓器や重症度等が大きく異なっている。また、LDSは、MFSとの鑑別上、重要とされる疾患であるが、そのためには遺伝子診断が必須である。いずれの疾患も、確定診断のためには、遺伝子解析が重要である、という認識から、2016年(平成28年)4月の診療報酬点数改訂において、これらの疾患の遺伝学的検査が保険適応となっている。

昨年度までの分担研究においては、診断基準の設定、診療指針の作成を中心に行ってきたが、今年度の分担研究では、これらの2疾患の診断に必要な遺伝学的検査の改善を目指した。具体的には、昨年度に引き続き、次世代シーケンサーを用いた効率的な遺伝子配列解析技術を用いた遺伝子解析を試み、精度についての検討をおこなった。その結果、従来のサンガー法を用いたエクソンPCR配列解析法に比べ、より臨床検査として十分な精度が得られ、遺伝子診断として利用可能なことが示された。また、この技術を用いて新たに診断に至った新規患者について、臨床情報の収集をおこなった。

研究協力者

小原収 かずさ DNA 研究所 副所長・技術開発研究部長

A. 研究目的

マルファン症候群（MFS）およびロイス・ディーツ症候群（LDS）は、ともに、クモ状指・側弯・胸郭異常・扁平足などの骨格症状、大動脈瘤/解離などの心血管症状などをはじめ全身性に多彩な表現型を呈する常染色体優性遺伝性の疾患であるが、動脈病変の分布と進行度、眼病変、合併症などで相違点があり、治療方針や予後を考える上でも鑑別がしばしば必要となる。そのため、いずれの疾患においても、遺伝学的検査における病的変異の検出が、国際的診断基準の一項目となっている。

一方、これら2疾患は、高率に若年期に大動脈解離を発症することから、2015年より国の指定難病として認定されている。その認定に際しての診断基準において、遺伝子診断が診断項目に含まれており、2016年(平成28年)4月の診療報酬点数改訂において、これらの疾患の遺伝学的検査が保険適応となった。しかし、遺伝子のサ

イズが大きく通常の解析法ではコストがかかりすぎることを理由に、遺伝子解析を請け負う臨床検査会社はない、というのが現状である。そこで、昨年度に引き続き、かずさDNA研究所の小原収氏の協力をえて、次世代シーケンサーを用いた効率的な遺伝子解析技術の応用により、安価にかつ正確な解析法の検討を行った。

B. 研究方法

①遺伝子解析法の検討

i) 精度の確認

サンガー法によるエクソン-PCR配列解析法を用い、前年度までの本研究にて、すでに遺伝子変異が同定されている患者由来DNAを用い、解析目標とする遺伝子の全コーディングエクソンおよび、エクソン・イントロン境界領域について、次世代シーケンス解析法を用いて遺伝子配列を解析し、得られた塩基配列を公開されているヒトゲノムリファレンス配列（GRCh38/hg38）と比較し、低出現頻度の塩基

置換、短い塩基配列の欠失・挿入の有無をコンピュータによる解析で検討した。さらに、領域ごとのリード数を比較することにより、CNV解析も行った。解析検体は、従来のサンガー法での解析において、領域付近に存在するSNVやGC量などにより解析困難だった症例、およびMLPA解析を必要とした症例とした。テンプレート作成法としては、Multiplex-PCR法、ハイブリ濃縮法、Haloplex法を試みて、比較を行った。

ii)新規患者検体の遺伝子解析

臨床的にマルファン症候群およびその類縁疾患と診断された患者5名について、ハイブリ濃縮法を併用した次世代シーケンス解析法による遺伝子解析をおこなった。病因と疑われる配列変化が検出された場合には、再度、当該領域をPCRにて増幅し、サンガー法による両方向シーケンス解析にて変異を確認した。

②新規患者の臨床情報の検討 昨年度までと同様の解析 (倫理面への配慮)

本研究は、国立循環器病研究センター倫理委員会および榊原記念病院倫理委員会の承認を得た研究計画に基づき、施設および国などの指針を遵守し、書面によりインフォームドコンセントを受けて研究を実施するなど、倫理面への配慮を十分に行った。また、全ての解析は連結可能匿名化のもとでおこなわれた。

臨床情報については、昨年度までと同様の患者情報シートにより情報収集をおこなった。

C. 研究結果

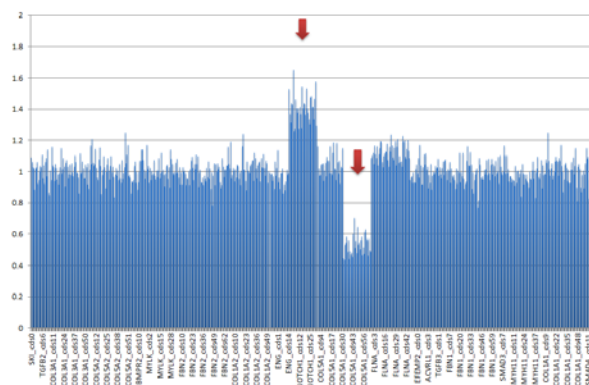
①遺伝子解析法の検討

(2015年度の研究成果を含む)

Multiplex-PCR法、ハイブリ濃縮法、Haloplex法の比較においては、ハイブリ濃縮法、Haloplex法の二つにおいて、十分な精度が得られたが、Multiplex-PCR法では、一部のエクソンで十分なデータが得られず、データのばらつきが大きかった。ハイブリ濃縮法では、一部のGCコンテンツの多いエクソン領域のリード数が低い傾向があり、それについては、PCR+サンガー法による解析で補完する必要があった。

CNV解析では、ハイブリ濃縮法、Haloplex法の両者において、MLPA法と遜

色のないデータが得られた。特に、マルファン症候群類縁疾患であるエーラスダンロス症候群の解析では、MLPA法の確立していないCOL5A1領域において、ハイブリ濃縮法を用いたNGS解析により、COL5A1~NOTCH1領域の欠損および増幅を検出することができた。(図1)



また、NGSでは、「出力されるリード配列は、1つの核酸分子に由来する」という特徴があるため、ハプロタイプ解析が可能である。今回、身体所見よりマルファン症候群と診断された2名、ロイス・ディーツ症候群と診断された3名については、それぞれ、*FBN1*遺伝子および*TGFBR1/TGFBR2*遺伝子の病原性変異が検出されたが、そのうち、*TGFBR2*変異を有した一例においては、同一遺伝子内に二つのミスセンス変異を検出したが、ハプロタイプ解析により、両変異は、同一アレル上にあることが示され、片側アレルは正常であることが示された。

②新規患者の臨床情報の検討

今年度、遺伝学的検査により、2例が、マルファン症候群、3例がロイス・ディーツ症候群と確定診断された。ロイス・ディーツ症候群のうち2例は、身長185cm以上であり、マルファン症候群として経過観察されていた。また、2例は、非典型的な経過から、注意すべき臨床像を呈していた。

(症例1) ロイス・ディーツ症候群

32才男性。小1の頃からARによる心雑音を指摘されていた。13才時に、AAE進行し、ARが憎悪したことから、Bentall+全弓部置換手術が施行された。21才時に、下行大動脈解離発症し、下行大動脈置換術。22才時に胸部下行大動脈~両腸骨動脈への置換術。その後

も、膝窩動脈瘤、腕頭動脈瘤、総頸動脈、鎖骨下動脈など、分枝動脈が次々と瘤化・閉塞し、人工血管置換手術や血管バイパス手術を繰り返している。

骨格症状としては、眼間開離・幅広口蓋垂・鳩胸・内反足・後足変形・クモ状指を認める。遺伝子解析にて、新規の *TGFBR2* ミセンス変異が検出された。

(症例2) ロイス・ディーツ症候群

16才男性。乳児期より、筋力が弱く運動発達が遅れた。3才時に頸椎亜脱臼修復手術。同時期に眼瞼下垂と斜視に対する手術も施行された。身長が高かった(5才時130cm)ため、マルファン症候群かもしれない、といわれたが、フォローはされていなかった。16才時に急性大動脈解離(StanfordA)を発症し、自己弁温存基部置換+上行置換術。その後、残存解離部の急速な瘤拡大のため、3ヶ月間に計3回の手術により、基部から腹部大動脈まで置換されている。その間、気胸、たこつぼ型心筋症、発作性上室不整脈も合併している。

その他の所見としては、馬蹄腎、仙骨神経根嚢胞、頭蓋骨縫合早期癒合(長頭)、内反足、眼間開離を認めている。

遺伝子解析にて、既報の *TGFBR1* 遺伝子変異が検出された。同変異による臨床症状は、一般的に骨格系所見が強い傾向があるが、本症例では、顕著な骨格所見(頭蓋骨縫合早期癒合、内反足、側弯、頸椎不安定、下顎後退)に加え、腎奇形、神経奇形、斜視、眼瞼下垂、などの奇形所見を認めるとともに、重度の血管所見も認めた。

D. 考察

遺伝学的検査の比較においては、まず、Haloplex 法は、シークエンス解析、CNV 解析ともに良好な結果が得られたが、一検体あたりの解析コストの削減が難しく、保険検査での解析への採用は困難と判断した。ハイブリッド濃縮法による NGS による遺伝学的検査の精度は、サンガー法とほぼ同程度あるいはそれ以上であり、CNV 解析に関しても、解析プログラムさえ整えばルーチン解析として組み込むことは比較的容易であり、十分対応できると判断された。ただし、一部の領域については、十分なリード数が確保できないものがあり、それについては、あらかじめ PCR

サンガー解析で補うことが必要であるが、それを加えても、低コストでの解析が可能であり、臨床検査として十分成り立つと思われた。

患者の臨床情報収集に関しては、今回の研究でロイス・ディーツ症候群の臨床像がより多彩であることが示された。特に、症例1では、血管病変として瘤化や解離以外に、閉塞による症状が全面的に現れていた。また、症例2は、骨格病変が強いとされていた *TGFBR1* 変異の症例であったが、神経・血管・腎・肺などにも多彩な症状を呈し、血管病変の進行も極めて早かった。

E. 結論

マルファン症候群およびロイス・ディーツ症候群の身体所見は、互いにオーバーラップするため、臨床所見のみからの鑑別は困難な場合が多い。ロイス・ディーツ症候群においては、より重篤な経過や、多彩な症状を伴う場合があることから、遺伝子診断による鑑別が期待される。本研究において、NGS 手法を用いた遺伝学的検査法を検討したが、臨床応用に足るものであることが示された。今後、さらに症例を増やし、検査精度の検討をするとともに、genotype-phenotype 解析による臨床像の検討を行い、早期診断・早期介入に結びつけることが望ましい。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 1) Morisaki T, Morisaki H: Genetics of hereditary large vessel diseases. J Hum Genet 61: 21-26, 2016.
- 2) 2) Ishiwata T, Tanabe N, Shigeta A, Yokota H, Tsushima K, Terada J, Sakao S, Morisaki H, Morisaki T, Tatsumi K: Moyamoya disease and artery tortuosity as rare phenotypes in a patient with an elastin mutation. Am J Med Genet A 170: 1924-1927, 2016.
- 3) 3) Oda H, Sato T, Kunishima S, Nakagawa K, Izawa K, Hiejima E, Kawai T, Yasumi T, Doi H, Katamura K, Numabe H, Okamoto S, Nakase H, Hijikata A, Ohara O, Suzuki H, Morisaki H, Morisaki T, Nuno H, Hattori S, Nishikomori R, Heike T: Exon skipping causes atypical phenotypes associated with a loss-of-function mutation in FLNA by restoring its protein function. Eur J Hum Genet 24: 408-414, 2016.

- 4) 4) Aoki R, Srivatanakul K, Osada T, Hotta K, Sorimachi T, Matsumae M, Morisaki H:Endovascular treatment of a dural arteriovenous fistula in a patient with Loeys-Dietz syndrome: A case report. Interv Neuroradiol 23: 206-210, 2017.
- 5) 5) 森崎裕子:マルファン症候群、ロイス・ディーツ症候群 日本小児科学会雑誌 120: 1579-1586, 2016.
- 6) 6) 森崎裕子, 森崎隆幸:遺伝性大動脈疾患 : NGS 時代の遺伝子診断 日本血栓止血学会誌 28: 41-49, 2017.
- 7) 7) 森崎裕子:遺伝カウンセリングが必要な循環器疾患と実際 HeartView 21: 433-439, 2017.
- 8) 8) Yoshida A, Morisaki H, Nakaji M, Kitano M, Kim KS, Sagawa K, Ishikawa S, Satokata I, Mitani Y, Kato H, Hamaoka K, Echigo S, Shiraishi I, Morisaki T:Genetic mutation analysis in Japanese patients with non-syndromic congenital heart disease. J Hum Genet 61: 157-162, 2016.

2. 学会発表

- 1) Morisaki T, Yoshida A, Watanabe T, Ida K, Sasaki H, Oda T, Tanaka H, Minatoya K, Morisaki H :Familial Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections (FTAAD) with ACTA2 Mutation in Japanese.The 13th International Congress of Human Genetics, (Kyoto) Apr3-7, 2016
- 2) Morisaki H, Watanabe T, Yoshida A, Ida K, Sasaki H, Minatoya K, Morisaki T: Genetic Aortopathy due to Gene Mutations Related and Not-related to TGF- β Signal Pathway in Japan 66th Annual Meeting of American Society of Human Genetics.(Vancouver, Canada) : 2016.10.18-23.

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
データベースの構築、疫学・生物統計学、ウェブサイトによる公開、
倫理的な共通基盤のバックアップ

研究分担者 増井 徹
慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター 教授

研究要旨

難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)「国際標準に立脚した奇形症候群領域の診療指針に関する学際的・網羅的検討」の課題の中で、情報公開における共通基盤についての検討を行っている。2016 際的にも動きの大きな年であった。日本、EU、そして米国でヒトを対象とした研究や情報共有の盤となる個人情報保護体制について、最終文書が公表された。ただ、幸いなことに、三極ともに、初期に懸念された現行体制との大きな違いは導入されない形となった。詳細については今後施行の実態に中で明らかになっていくので、それを追跡していく必要がある。

A. 研究目的

国際的な診療システムの構築のためにはデータソースである個人の尊厳と基本的人権を守り、インフォームド・コンセントや匿名化した個人由来情報の共有が必須である。そこで、国際的に連携して動くためのMinimum Requirements 作定のための基礎情報の収集と検討を行う。

B. 研究方法

学会、研究会、セミナー及び文献調査によって情報を収集し、匿名化した個人由来情報の流通と利用についての情報を収集する。

(倫理面への配慮)

本研究における個人情報への配慮は必要ない。また、研究倫理指針等の適応範囲にも当たらないので、倫理審査の必要もない。しかし、倫理指針等の研究倫理に関する情報は重要な研究対象である。

C. 研究結果

1. 米国における動向

米国では1991年に成立したCommon Ruleといわれる「人を対象とした医学研究に関する連邦規則」の改訂を開始した。2011年に提出されたAdvanced Notice of Proposed Rulemaking (ANPR) (<http://www.hhs.gov/ohrp/humansubjects/anprm2011page.html>) に対する意見をまとめて、2015年9月8日に500ページに及ぶNotice of Proposed Rulemaking (NPRM)を公表した (<http://www.hhs.gov/ohrp/humansubjects/regulations/nprmhome.html>)。

この改定に関してはISBER (International Society for Biological and Environmental

Repositorie) のScience Policy Committeeの委員として議論をフォローした。2016年1月6日がコメントの締め切りであったが、以下の2点について議論をした。

- ① 同意の必要性が強調されているのだが、既存試料についてどこまでそれを求めるかが明確ではないので、混乱をきたす可能性がある。或いは既存試料の多くが利用不可能になる可能性がある。
- ② 一方で、包括同意が一旦得られれば、そのあとの自由度が高すぎる点への注意喚起が必要である。

これらの課題に従ってNPRMに対する意見書を提出した。

そして、オバマ政権の最後2017年1月19日にNew Ruleを官報に公表した。このルールは研究参加者の自律を尊重しつつ、特に軽微な医学研究に対する不必要な事務負担を軽減し、医学研究を活性化することを目指しているとされている。変更事項の概略は以下である。

- 研究対象者に対する説明は研究の概要を理解しやすいものとし、参加者の決定を支えるものとする。
- 多施設共同研究を活性化する可塑性のある倫理委員会の運用。(single IRBの推奨)
- 既存の個人識別可能な試料と情報の利用に関しては、倫理委員会の承認を得る或いは、匿名化して使用(従前)。
- 新規の除外項目を設けた。特にHIPPAの保護があれば、個人の情報の2次利用の円滑化。
- 参加者への利益の少ない監査の廃止。
- 連邦助成で行われる臨床研究の説明同意文書のWeb上での公開。

2015年提案文書からの重大な変更点。

- 匿名化された試料をCommon Ruleの対象から除外した。それにより、従前の実施が可能。
- NPRMが提唱した「除外規定」が明確でないので、削除した。
- 連邦助成を得ていない臨床研究に適応しない。
- NPRMで提唱された新規の個人情報保護の考えかたを削除し、従前とした。
- 同意の放棄に対する厳しい考え方を採用しなかった。

これらの変更により、米国のCommon Ruleは既存試料の取扱いについて、ほぼ従前どおりとなった。しかし、実際に適応が始まった場合に何が起きるのか、注意深く観察する必要がある。

2. EU圏での個人情報保護の動向

EUでは2013年から本格的な個人情報保護枠組の検討が行われている。1995年の個人情報保護指令が現在の環境にとって古くなったこと。また、2015年夏に米国の個人情報保護が不十分であるというEU判決があり、混乱をきたしている。EUの枠組みは一応の決着が2015年12月についたという。

この改正EU法は2016年4月に承認手続きが終わり、5月の官報で公表され、2018年5月に施行されることとなった。

今回の改訂は、2015年12月に落ち着くまで医学研究界が強くその改正に働きかけた。その中心にいたのはWellcome財団である。このように、研究者たちが法律の策定過程にロビー活動を行う伝統がヨーロッパにはある。この活動はただ法律を自分たちの研究が行いやすい方向での検討へと導いただけではなく、研究者の自律と連携を育てるのに役立ったと考えられる。

本EU法の改正も米国の場合の同じく、大変に厳しい個人情報保護の提案から出発し、これでは研究ができないという危機意識の中での交渉が続き、結局は従前の取扱いから大きく違うものではなくなった。例えば、同意のない匿名化された人由来情報の取り扱いについては、研究者側にとっては従来程度の負担となるという見通しが立ったようである。

英国を主な情報源として調査を進めたが、昨年の英国の脱退で、調査が難しくなった。現状では英国もEUGDPRと同様の体制を引くと予想されている。また、英国からのEU動向の情報も今後利用できると思う。

3. 日本における研究倫理指針の

日本の個人情報保護法は2015年9月に改正され、その施行を控え個人情報保護と匿名化された情報の研究利用等に関する議論が活発になっている。現在盛んなのはゲノム情報が個人識別

符号、要配慮情報となるかという点に絞られている。しかし、医学研究のことを考えると、ゲノム情報だけでなく、診療情報全般の研究利用に関する議論は不足している。

2016年4月から9回の経済産業省、文部科学省、厚生労働省による「医学研究等における個人情報の取扱い等に関する合同会議」が開催され、2018年2月28日に「人を対象とした医学系研究の倫理指針」と「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の改正版が公表された。その後、それぞれのガイドラインとQ and Aが公表された。

その間、2016年9月22日から10月21日にパブリックコメントが行われた。コメントは両指針で、約2,000件、回答が450頁という膨大なものとなった。

理由については、いろいろな意見があるが、パブリックコメント前の事務局が示した個人情報保護法の適応が、パブリックコメント後に緩和され、施行され実施例が出そろいうまで、いろいろと不透明なところはあるが、従前の実施状況の大きな変更は要求しない形で改正が終了した。

厳しい個人情報保護の適応から出発して、現実的な線で落ち着くのは、他の国と同様であるが、それぞれの国での動きの理由は同じであったのだろうか？今後の解明が待たれる。というのは、緩和の理由は、今後のそれぞれの地域での医学研究への法律の関わりに大きく影響するからである。

4. 国際的動き

CIOMS (Council for International Organizations of Medical Sciences) は2002年に公表したInternational Ethical Guidelines for Biomedical Research Involving Human Subjectsの改訂委員会を立ち上げている。

2002年の指針の改訂版は、2017年2月に公表された。特に、開発途上国、社会的弱者を対象とした研究へ対応、健康情報を利用するBig Data研究なども視野に入れて検討された。そのため、題名も“Guidelines for Health-Related Research Involving Human Subjects”と変更された。 <http://www.cioms.ch/index.php/12-newsflash/400-cioms-international-ethical-guidelines>

本指針は国際共同研究において、施策の根拠として利用可能である。

E. 結論

現在世界中で、医学研究における個人情報保護の枠組みが出そろった。日本もEUの動きをフォローする必要があり、EUの動きによって

は日本の法律の改正を行うとしている。

細かい点でのくいちがいが明らかになるのは、施行されて、実施例が固まってきてからとなろう。この分野の動向について、目の離せない状況が続いている。

学研究. 2016年11月30日 横浜

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
該当なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 増井徹 国内外におけるバイオバンクの整備と倫理的課題、産科と婦人科 83(6): 687-694, 2016
- 2) 増井徹 5章 「バイオバンク」という活動の起源と未来—ヒトの生物学としての医学研究を支える基盤 科学技術に関する調査プロジェクト 調査報告書 ライフサイエンスのフロンティア-研究開発の動向と生命倫理 p277-291、2016

. 学会招待発表

- 1) Tohru Masui, Realizaing Genomic Medicine in Japan: Role of Ethics Committee in Academic/Corporate Collaboration. Symposium 4B Towards Precision Medicine: Facilitating the Ethical Collections and Use of Specimens in Industry-Sponsored Projects. ISBER, Berlin, April 8, 2016. 海外
- 2) 増井徹 iPS 細胞バンクにおける倫理的問題 シンポジウム第 53 回医学系大学倫理委員会連絡会議、札幌、2016年7月1日
- 3) 増井徹 将来の未知の医学研究を支える同意の在り方. 第2回クリニカルバイオバンク研究会シンポジウム 「バイオバンクの倫理と同意の在り方」2016年7月24日札幌
- 4) Tohru Masui Supporting Stem cell research and practice in Japan. EUCeLEX Project: Final International Conference. September 22, 2016, Paris. 海外
- 5) 増井徹 バイオバンクと遺伝子診断の温故知新. 日本遺伝子診療学会第23回大会フォーラム企画シンポジウム: ゲノム医療実現の最近の話題 2016年10月7日 東京.
- 6) Tohru Masui About the ethics in the use of human stem cells. International Stem Cell Banking: Current Hurdles and Progress. 2. Informed Consent/ Ethical issues of iPSC. In Seoul, Korea, 2016, Oct19-20. 海外
- 7) 増井徹 生物資源の利用を活性化する場としてのデータベースとそれを支える国際標準化の動向. 第39回分子生物学会年、フォーラムセッション 1F3: モノ+コト: バイオリソースとデータが拓く今後の生命科

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

視覚器の異常を主徴とする奇形症候群の研究

研究分担者 仁科 幸子

国立研究開発法人国立成育医療研究センター 感覚器・形態外科部 眼科医員

研究要旨

先天素因による眼疾患は小児の視覚障害原因の第1位を占め、多くは病因不明で有効な治療法が確立されていない。先天性眼疾患の内訳は多種多様であるが、いずれも全身疾患・奇形症候群に伴う比率が高い。さらに眼併発症として白内障、緑内障、網膜剥離を生じ重篤な視覚障害をきたすリスクがある。眼異常のタイプや程度によっては、視力障害のほかに両眼視機能障害、視野異常、明暗順応障害、コントラスト視力低下、羞明など様々な視機能障害をきたすため、年齢ごとに眼症状に応じたケアが必要となる。

本研究では視覚器の異常を主徴とする奇形症候群を取り上げ、遺伝子変異陽性患者の臨床症状・合併症を国際標準形式により集積・登録した。種々の先天性眼疾患、奇形症候群における眼合併症と視機能障害について最新の機器を用いた網羅的かつ詳細な検査システムを用いて検討した。特に、視機能障害に密接に関与する網膜・黄斑部および視神経の形態と機能について、詳細に解析した。疾患特異的な臨床症状・合併症に基づき、眼科的管理を主眼とした年齢別診療指針を作成した。

本研究成果による診療指針は、遺伝専門医及び各科の小児専門医と連携をとって、患児の生涯にわたる視覚障害を軽減するために有用と考えられる。

A. 研究目的

先天素因による眼疾患は小児の視覚障害原因の第1位を占め、多くは病因不明で有効な治療法が確立されていない。先天性眼疾患の内訳は多種多様で、前眼部形成異常から後眼部、視神経形成異常、全眼球に及ぶ異常まであり、程度もさまざまであるが、視覚障害をきたす両眼性の先天性眼疾患は、いずれも全身疾患・奇形症候群に伴う比率が高い。

先天性眼疾患の多くは視覚の感受性の高い乳幼児期に発症し、視覚刺激を遮断して弱視を形成するおそれがあるため、できるだけ早く発見して適切に対処する必要がある。治療手段のない疾患でも、保有視機能の評価して眼鏡による屈折矯正を行い、併発症の治療・管理につとめ、ロービジョンケアを早く開始することが患児の視機能の活用と全身の発達につながるため、視覚器の早期スクリーニングは非常に重要である。

眼異常のタイプや程度によっては、視力障害のほかに両眼視機能障害、視野異常、明暗順応障害、コントラスト視力低下、羞明など様々な視機能障害をきたすため、年齢ごとに眼症状に応じたケアが必要となる。

さらに視覚器を含む奇形症候群では、成長期に眼併発症として白内障、緑内障、網膜剥離を生じ重篤な視覚障害をきたすリスクがある。

本研究では前年に引き続き、視覚器の異常をきたす奇形症候群を対象として、眼症状・眼合併症を国際標準形式により集積してデータベース化すること、遺伝子診断に基づき分析を行うこと、疾患特異的な眼合併症と病態、視機能障害について、最新の機器を用いた網羅的かつ詳細な検査システムを用いて解析すること、年齢ごとの診療指針を作成することを目的とした。

B. 研究方法

1) 奇形症候群に伴う眼合併症の集積

本研究を遂行する慶應義塾大学臨床遺伝学センター・国立成育医療研究センター遺伝診療科において遺伝子解析を実施している各種奇形症候群のうち、視覚器の異常を主徴とする奇形症候群を取り上げ、遺伝子変異陽性患者の臨床症状・合併症を国際標準形式により本研究班データベースに集積・登録した。

2) 眼合併症と病態、視機能障害の検討

奇形症候群の患者の臨床像について眼合併症を中心に解析した。眼合併症の病態と視機能障害について、広画角デジタル眼底カメラ、蛍光

眼底造影、光干渉断層計、網膜電図など最新の機器を用いた網羅的かつ詳細な検査システムによって検討を加えた。

3) 奇形症候群の年齢別診療指針の作成

様々な奇形症候群における眼合併症と視機能障害について分析し、眼科的管理に関し、年齢別診療指針を作成した。

(倫理面への配慮)

遺伝子変異解析はヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守して実施された。随時、慶應義塾大学臨床遺伝学センター・国立成育医療研究センター遺伝診療科、眼科において遺伝カウンセリングを提供した。眼科所見については、患者家族に十分な説明を行い、書面にて検査結果の二次利用について同意を得た。診療録の調査や選択された症例の解析にあたっては、匿名化し、個人が特定できないように配慮した。

C. 研究結果

1) 奇形症候群に伴う眼合併症の集積

CHARGE症候群、Stickler症候群、Marfan症候群、WAGR症候群など高頻度に眼異常を合併する奇形症候群を取り上げ、遺伝子変異陽性患者の臨床症状・眼合併症を検討し国際標準形式により本研究班データベースに集積・登録した。

2) 眼合併症と病態、視機能障害の検討

Septo-optic-pituitary dysplasia (中隔視神経異形成症)、WAGR 症候群など様々な奇形症候群の患者の眼合併症と病態について、解像度の高い最新の光干渉断層計 (optical coherence tomography: OCT)、広角度眼底カメラ・蛍光眼底造影、全視野網膜電図及び黄斑局所網膜電図 (electroretinogram: ERG) を導入して精密な形態・機能解析を行った。特に、視機能障害に密接に関与する網膜・黄斑部および視神経の形態と機能について、詳細に解析した。

Septo-optic-pituitary dysplasia に合併する視神経低形成 (ONH) では、正常コントロールと比較検討すると、OCT による形態解析で神経節細胞層を含む GCC (Ganglion Cell Complex: 神経線維層～内網状層) が薄く、全視野網膜電図 (ERG) による機能解析で photopic negative response (PhNR) の振幅の低下があり ($p < 0.001$)、形態・機能ともに合致して網膜内層の形成不全が主体となる病態であることが示された。また網膜外層は視神経周囲と黄斑鼻側にて薄くなっていることが示された。さらに OCT による黄斑部の形態解析により様々な形態の黄斑異常・低形成が認められ (図 1)、黄斑局所 ERG (黄斑部 15° , 10msec 刺激) による

機能解析によって、a 波、b 波、PhNR の振幅低下を認めた。したがって、視神経低形成は黄斑の形成と機能に関与する病態であり、黄斑機能不全の程度が視機能予後に影響を及ぼすことが示唆された。

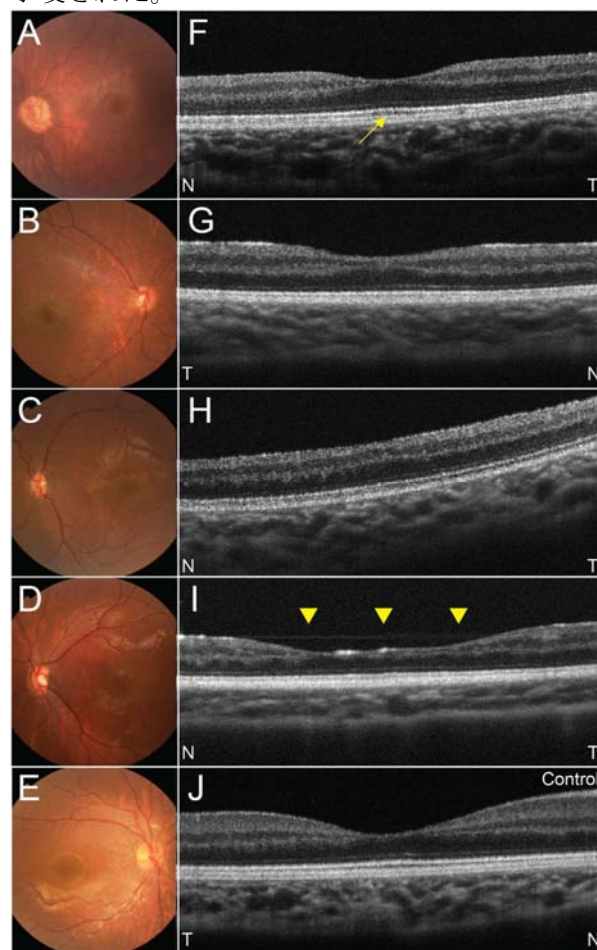


図 1 視神経低形成 (A~D) における黄斑異常 (OCT) (正常 E と比較)

3) 奇形症候群の年齢別診療指針の作成

様々な奇形症候群の眼合併症・視機能障害について検討した。疾患特異的な臨床症状・合併症に基づき、新生児期、生後3ヵ月、6ヵ月、12ヵ月、18ヵ月、2歳、3歳、4~6歳、7~9歳、10~12歳、中学生、高校生、成人に区分し、年齢別診療指針を作成した。眼科的管理の主眼は、屈折異常、弱視・斜視の検出、眼瞼異常、白内障、緑内障、網膜剥離などの早期発見・治療、および視機能障害の早期評価とロービジョンケアである。保有視機能の発達を促す屈折矯正・弱視斜視治療の適応を考慮することは重要な眼科的課題である。年齢毎に適した乳幼児視力検査、精密屈折検査、細隙灯顕微鏡検査、眼底検査、屈折矯正の導入の方法と時期について検討し指針を作成した。

D. 考察

奇形症候群における眼合併症と病態、視機能障害について、最新の機器を用いた網羅的かつ詳細な検査システムを用いて解析し、視機能の早期評価に有用な知見を得た。

各種の奇形症候群に対し、眼科的管理を主眼とした年齢別診療指針を作成した。年齢別全身管理に眼科的管理を加えた疾患特異的診療指針を普及させることによって、生涯にわたり、視覚障害を回避・軽減するための医療の標準化が可能と考えられる。

E. 結論

様々な奇形症候群における眼合併症と視機能障害について詳細に検討し、年齢別診療指針を作成した。本研究成果による診療指針は、遺伝専門医及び各科の小児専門医と連携をとって、患児の生涯にわたる視覚障害を軽減するために有用と考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Katagiri S, Nishina S, Yokoi T, Mikami M, Nakayama Y, Tanaka M, Azuma N. Retinal structure and function in eyes with optic nerve hypoplasia. *Sci Rep*. 2017 Feb 16;7:42480. doi: 10.1038/srep42480.
- 2) Nishina S, Katagiri S, Nakazawa A, Kiyotani C, Yokoi T, Azuma N. Atypical intravitreal growth of retinoblastoma with a multi-branching configuration. *Am J Ophthalmol Case Rep*, in press
- 3) Ozawa H, Yamane M, Inoue E, Yoshida-Uemura T, Katagiri S, Yokoi T, Nishina S, Azuma N. Long-term surgical outcome of conventional trabeculectomy for childhood glaucoma. *Jpn J Ophthalmol*, 2017 Mar 16. doi: 10.1007/s10384-017-0506-0. [Epub ahead of print]
- 4) Katagiri S, Tanaka S, Yokoi T, Hayashi T, Matsuzaka E, Ueda K, Yoshida-Uemura T, Arakawa A, Nishina S, Kadonosono K, Azuma N. Clinical features of a toddler with bilateral bullous retinoschisis with a novel *RS1* mutation. *Am J Ophthalmol Case Rep*. 5: 76-80, 2017.
- 5) Yoshida-Uemura T, Katagiri S, Yokoi T, Nishina S, Azuma N. Different foveal schisis patterns in each retinal layer in eyes with hereditary juvenile retinoschisis evaluated by en-face optical coherence tomography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 255 (4): 719-723, 2017.
- 6) Katagiri S, Yokoi T, Mikami M, Nishina S, Azuma N. Outer retinal deformity detected by optical coherence tomography in eyes with

foveal hypoplasia. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 254 (11): 2197-2201, 2016.

- 7) Nakayama Y, Katagiri S, Yokoi T, Ui M, Nishina S, Azuma N. Successful scleral buckling of late-onset visual decrease in eye with retinal folds. *Doc Ophthalmol*. 133 (2): 145-149, 2016.
 - 8) Yaguchi Y, Katagiri S, Fukushima Y, Yokoi T, Nishina S, Kondo M, Azuma N. Electroretinographic effects of retinal dragging and retinal folds in eyes with familial exudative vitreoretinopathy. *Sci Rep*. 2016 Jul 26;6:30523. doi: 10.1038/srep30523.
 - 9) Yokoi T, Nishina S, Fukami M, Ogata T, Hosono K, Hotta Y, Azuma N. Genotype-Phenotype Correlation of the PAX6 Gene Mutations in Aniridia. *Human Genome Variation*, 2016, 3: 15052
 - 10) Katagiri S, Yokoi T, Nishina S, Azuma N. Structure and morphology of radial retinal folds with familial exudative vitreoretinopathy. *Ophthalmology*. 123(3): 666-668, 2016.
 - 11) Sarafino M, Trivedi RH, Levin AV, Wilson ME, Nucci P, Lambert SR, Nischal KK, Plager DA, Bremond-Gignac D, Kekunnaya R, Nishina S, Tehrani NN, Ventura MC. Use of the Delphi process in paediatric cataract management. *Br J Ophthalmol*, 100(5): 611-615, 2016.
 - 12) Yokoi T, Nakayama Y, Nishina S, Azuma N. Abnormal traction of the vitreous detected by swept-source optical coherence tomography is related to the maculopathy associated with optic disc pits. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 254: 675-682, 2016.
 - 13) 吉田 朋世、仁科 幸子、萬東 恭子、赤池 祥子、越後貫 滋子、横井 匡、東 範行：乳児内斜視早期手術後の両眼視機能。 *眼臨紀*. 10 (1): 58-63, 2017.
 - 14) 伊藤里美・仁科幸子：小児ロービジョンケア。 *眼科* 58 (12): 1487-1492, 2016
 - 15) 仁科 幸子：内斜視に対する手術治療。 *眼科 特集斜視治療アップデート* 58 (3): 251-257, 2016.
 - 16) 仁科 幸子：小児科医が知っておきたい小児眼科の知識—乳児期の斜視と両眼視機能—。 *東京小児科医会報* 35 (1): 61-66, 2016.
- ### 2. 学会発表
- 1) Nishina S. Early detection and management of deprivation amblyopia. Invited speaker of the APSPOS Symposium “Common Problems in Pediatric Ophthalmology”. 31th APAO Congress, Taipei, Taiwan, 2016.3
 - 2) Kondo H, Uchio E, Hayashi T, Nishina S, Azuma N, Kusaka S. Roles of Genes in Phenotypic Diversity and Interocular

Asymmetry in Patients with Familial Exudative Vitreoretinopathy. 2016 Annual Meeting, Association for Research in Vision and Ophthalmology, Seattle, 2016.5.

- 3) 吉田朋世、仁科幸子、横井匡、鹿田千尋、萬東恭子、赤池祥子、越後貫滋子、東範行. 乳児内斜視早期手術後の両眼視機能. 第72回日本弱視斜視学会総会・第41回日本小児眼科学会総会合同学会, 横浜, 2016.6
- 4) 細野克博、仁科幸子、宮道大督、横井匡、彦谷明子、佐藤美保、簗島伸生、深見真紀、東範行、堀田喜裕. 次世代シーケンサーを用いたレーバー先天盲の1家系3症例の遺伝子変異解析. 第72回日本弱視斜視学会総会・第41回日本小児眼科学会総会合同学会, 横浜, 2016.6
- 5) 萬東恭子、松岡真未、新保由紀子、赤池祥子、越後貫滋子、片桐聡、吉田朋世、横井匡、仁科幸子、東範行. 斜視を伴う小児に対する Spot Vision Screener の使用経験. 第57回日本視能矯正学会, 大阪, 2016.10
- 6) 富田匡彦、横井匡、吉田朋世、高橋真理、片桐聡、仁科幸子、東範行. 網脈絡膜コロボーマの Swept-Source 光干渉断層計像. 第70回日本臨床眼科学会, 京都, 2016.11
- 7) 高橋真理、富田匡彦、吉田朋世、片桐聡、横井匡、仁科幸子、東範行. 家族性滲出性硝子体網膜症の黄斑上膜に硝子体手術を行った4例. 第70回日本臨床眼科学会, 京都, 2016.11
- 8) 仁科幸子. 小児の神経眼科. 第70回日本臨床眼科学会, 京都, 2016.11
- 9) Yoshida T, Katagiri S, Yokoi T, Nishina S, Azuma N. Swept-Source OCT Images of Morning Glory Disc Anomaly and Allied Diseases. Distinguished Papers Symposium, 第55回日本網膜硝子体学会, 東京, 2016.12
- 10) 宮道大督、仁科幸子、細野克博、横井匡、倉田健太郎、彦谷明子、簗島伸生、佐藤美保、深見真紀、堀田喜裕、東範行. *RPGRIP1* 遺伝子異常による Leber 先天盲の1家系3症例の臨床像. 第55回日本網膜硝子体学会, 東京, 2016.12
- 11) Nishina S. Effectiveness of the Spot Vision Screener for Detecting Amblyopia Risk Factors in Young Children. Invited speaker of the Breakfast Symposia. 32th APAO Congress, Singapore, 2017.3
- 12) 細野克博、仁科幸子、倉田健太郎、宮道大督、横井匡、簗島伸生、深見真紀、佐藤美保、近藤寛之、堀田喜裕、東範行. Leber 先天盲の日本人患者に対する次世代シーケンサーを用いた遺伝子診断. 第121回日本眼科学会総会, 東京, 2017.4
- 13) 仁科幸子. 小児の斜視ケーススタディ～診断から手術まで. 第13回眼科手術の寺小屋, 東京, 2016.2
- 14) 仁科幸子. 子どもの眼疾患. 第31回ひとみすこやか研修会, 東京, 2016.3
- 15) 仁科幸子. 先天眼疾患の治療—両眼視の獲得をめざす—. 第41回大阪医科大学眼科セミナー, 大阪, 2016.3
- 16) 仁科幸子. 乳児期に発見したい眼疾患と対処法. Alcon Web カンファレンス～小児眼科関連～, 東京, 2016.3
- 17) 仁科幸子. 乳幼児の前眼部疾患の診かた. 第25回千葉臨床眼科フォーラム, 幕張, 2016.7
- 18) 仁科幸子. 小児の弱視早期発見の重要性～弱視スクリーニングの現状と今後の展望～0歳から見つけたい! 小児の眼疾患と弱視. 第5回日本小児診療多職種研究会, 横浜, 2016.7
- 19) 仁科幸子. 乳幼児健診で気になる眼の病気～チェックすべき点と観察ポイント等. 第10回所沢市乳幼児健康診査医師講習会, 所沢, 2016.8
- 20) 仁科幸子. 乳幼児の前眼部疾患の診かた. 第6回山形眼科フォーラム, 山形, 2016.10
- 21) 仁科幸子. 未熟児網膜症の診断と治療の現状. The 2nd SCOOP Meeting, 浜松, 2017.1
- 22) 仁科幸子. 気をつけたい小児眼疾患・病診連携のポイント. 第12回西東京市眼科医会学術講演会, 西東京市, 2017.1
- 23) 仁科幸子. 病診連携 よくある眼底疾患—診断と治療のコンセンサス. 日本眼科医会第72回生涯教育講座, 東京, 2017.2
- 24) 仁科幸子. 病診連携 よくある眼底疾患—診断と治療のコンセンサス. 日本眼科医会第72回生涯教育講座, 神戸, 2017.2
- 25) 仁科幸子. 0歳から見つけたい! 小児の眼疾患と弱視. 第550回葛飾区小児科医会講演会, 葛飾, 2017.3
- 26) 仁科幸子. 病診連携 よくある眼底疾患—診断と治療のコンセンサス. 日本眼科医会第72回生涯教育講座, 名古屋, 2017.3

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

ワルデンブルグ症候群1型の非典型的な遺伝的原因の解明

研究分担者 松永 達雄

独立行政法人国立病院機構東京医療センター臨床研究センター 聴覚平衡覚研究部 部長

研究要旨

ワルデンブルグ症候群 (WS)は神経堤細胞の発生異常により感音難聴と白髪、虹彩異色症、皮膚の白斑などの色素異常を主症状とする疾患である。臨床症状からWS1-4型に分類され、WS1のほぼ全例はPAX3遺伝子変異が原因と報告されている。今回、WS1の2家系でPAX3遺伝子に変異を認めず、EDNRB遺伝子およびMITF遺伝子の変異が遺伝的原因として同定された。このため、WS1の原因の一部では、これらの遺伝子も考慮する必要があると考えられた。

研究協力者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

務台英樹 国立病院機構東京医療センター臨床研究センター 聴覚・平衡覚研究部 研究員

難波一徳 国立病院機構東京医療センター臨床研究センター 聴覚・平衡覚研究部 研究員

奈良清光 国立病院機構東京医療センター臨床研究センター 聴覚・平衡覚研究部 研究員

A. 研究目的

ワルデンブルグ症候群 (WS)は神経堤細胞の発生異常により感音難聴と白髪、虹彩異色症、皮膚の白斑などの色素異常を主症状とする常染色体優性遺伝 (AD) あるいは常染色体劣性遺伝 (AR) の疾患である。臨床症状からWS1-4型に分類され、これまでに6種類の原因遺伝子が同定されている。WS1は内眼角乖離があり、ほぼ全例がPAX3遺伝子変異 (AD) で発症する。WS2は内眼角乖離はなく、WS3はWS1に四肢の奇形が加わり、WS4はWS2にHirschsprung病を伴う。EDNRB変異またはEDN3変異はこれまでにWS4の20-30%にADあるいはARとして報告されており、WS2のごく一部でも不完全浸透のADとして報告がある。今回、臨床的にはWS1型と診断された2家系2児において、遺伝子検査でPAX3変異を認めなかった。このためこの2例について、他のWSの原因遺伝子による発症の可能性について検討した。

B. 研究方法

症例1: 5歳女児。大きな音に反応しないことに両親が気づき、難聴が疑われて当院受診した。ABRではclick音により105dBで両側反応を認めず、ASSRでは右110dB、左120dBと閾値が上昇、純音聴力検査にて両側110dBであった。両側の虹彩が青く、内眼角乖離が認められた(W-index: 2.13 (>1.95))。また、鼻根部が目立ったが、白髪は認めなかった。眼科検査では一側不同視と弱視が認められた。四肢の奇形、腸管

運動異常は認められなかった。側頭骨CTでは内耳奇形を認めなかった。以上の所見からWS1型と診断された。知的発達は年齢相当であり、4歳時に右人工内耳留置術を施行したが言語発達も順調である。両親と兄、および他の親類にはWSの症状はなかった。

症例2: 先天性難聴を主訴に当院紹介受診した女児。出生時の新生児聴力スクリーニング(AABR)で両側referの診断となり、その後のAABR再検、聴性脳幹反応検査(ABR)でも両側refereであったため精査目的に当院紹介受診した。CT検査では明らかな中耳・内耳奇形はなかった。聴取された家族歴においては、先天性難聴を呈するものは患児のみであり、遺伝的素因を強く示唆するものではなかった。身体所見としては両側青色虹彩、内眼角乖離がみられた。皮膚や毛髪の色素異常・四肢奇形・便秘など消化管症状は見られなかった。内眼角乖離の指標であるW-indexは正常値を超えていた。先天性難聴・青色虹彩・内眼角乖離が見られることからWarrdenburg症候群Type Iと臨床診断された。生後4か月から補聴器装着開始、生後2歳6か月で左人工内耳埋め込み術を施行し、療育経過は良好である。

以上の2家系について原因検索のために、サンガー法、PCR-RFLP法、MLPA法および次世代シーケンサーを用いたエクソーム解析を施行した。

(倫理面への配慮)

本研究は、研究開始に先立ち当院および共同研究施設での倫理審査で承認後に開始され、患者、ご家族の書類による説明と同意をうけて、関連する各種の倫理指針を遵守して実施された。

C. 研究結果

症例 1：末梢血 DNA のサンガー法による検査で WS1 の原因遺伝子である PAX3 遺伝子に変異を認めなかった。さらに MLPA 法の解析でも PAX3 遺伝子に変異を認めなかった。このため他の WS の原因遺伝子解析を行った。MITF 遺伝子、SOX10 遺伝子に変異は認められなかったが、EDNRB 遺伝子にミスセンス変異 c. 955C>T (p. R319W) のホモ接合体が認められた。また、両親には同遺伝子変異のヘテロ接合体がそれぞれ認められた。

症例 2：末梢血 DNA のサンガー法による検査で WS1 の原因遺伝子である PAX3 遺伝子に変異を認めなかった。さらに MLPA 法の解析でも PAX3 遺伝子に変異を認めなかった。このため他の WS の原因遺伝子解析を次世代シーケンサーを用いたエクソーム解析を行った。この結果、MITF 遺伝子にナンセンス変異のヘテロ接合体が認められた。母には同遺伝子変異のヘテロ接合体が認められ、父には認めなかった。

D. 考察

これまで Waardenburg 症候群 Type I の約 96% に PAX3 遺伝子変異を認めるとされており、70 近い変異が報告されている。今回の 2 家系では、PAX3 の遺伝子解析でこれらの変異を認めなかった。そして、症例 1 では EDNRB 遺伝子変異、症例 2 では、MITF 遺伝子変異が遺伝的原因として同定された。このことから、WS1 の一部の症例では、PAX3 遺伝子以外に、これらの遺伝子の変異が原因となっていることが示された。この点は、今後の日本人 WS1 症例の遺伝子診断の際に注意する必要がある。

症例 1 の家系では、EDNRB 遺伝子変異の劣性遺伝が示された。本家系で同定された EDNRB 遺伝子のミスセンス変異はヘテロ接合体として Hirschsprung 病を単独で呈した患者で報告されている。しかし、本家系ではこの変異のホモ接合体である発端者とヘテロ接合体である両親は Hirschsprung 病を持たなかった。EDNRB 遺伝子は胎生期の神経堤の発生、特に腸管の神経とメラノサイトの発生に非常に重要な役割を担っており、WS と Hirschsprung 病の原因遺伝子の 1 つとされている。さらに本変異は量依存性といわれており、ヘテロ接合体かホモ接合体によって付随する WS の症状や Hirschsprung 病の浸透率も異なり、同じ EDNRB 変異を有する家系内でも各症状の有無が異なることも多いと報告されてい

る。本症例には WS の臨床症状があり、両親にはなかったのは、EDNRB の変異アレルの量依存性によるもので劣性遺伝として発症することが推察された。

WS を伴わない Hirschsprung 病は EDNRB 遺伝子変異や RET 遺伝子変異など複数の遺伝子座での易罹患性アレルの相加的作用により発症する多因子疾患とされている。本症例の臨床症状の中に Hirschsprung 病が含まれなかった理由は、Hirschsprung 病の発症に必要な他の遺伝因子を持たなかったためと考えられた。

E. 結論

臨床所見からは WS1 と診断された 2 家系で、PAX3 遺伝子に変異がなく、1 家系では EDNRB 遺伝子変異、他の 1 家系では、MITF 遺伝子変異が遺伝的原因として同定された。このことから、WS1 の一部の症例では、PAX3 遺伝子以外に、これらの遺伝子の変異が原因となっていることが示された。この点は、今後の日本人 WS1 症例の遺伝子診断の際に注意する必要がある。また WS1 が EDNRB 遺伝子の特定の変異の劣性遺伝として発症する可能性も示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamamoto N, Kanno A, Matsunaga T*. Genetics of Inner Ear Malformation and In: Cochlear Implantation in Children with Inner Ear Malformation and Cochlear Nerve Deficiency. Kaga K (Ed.). Springer: Tokyo. 2016; 47-59
- 2) Masuda M, Mutai H, Arimoto Y, Nakano A, Matsunaga T*. A novel frameshift variant of COCH supports the hypothesis that haploinsufficiency is not a cause of autosomal dominant nonsyndromic deafness 9. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016; 469(2):270-274
- 3) Namba K, Mutai H, Takiguchi Y, Yagi H, Okuyama T, Oba S, Yamagishi R, Kaneko H, Shintani T, Kaga K, Matsunaga T*. Molecular impairment mechanisms of novel OPA1 mutations predicted by molecular modeling in patients with autosomal dominant optic atrophy and auditory neuropathy spectrum disorder. *Otol Neurotol* 2016; 37(4):394-402
- 4) Matsunaga T*, Morimoto N. The auditory phenotype of children harboring mutations in the prestin gene. *Acta Otolaryngol* 2016; 136(4):397-401
- 5) Minami SB, Mutai H, Namba K, Sakamoto K, Matsunaga T*. Clinical characteristics of a Japanese family with hearing loss accompanied by compound heterozygous mutations in

- LOXHD1. *Auris Nasus Larynx* 2016; 43(6):609-613
- 6) Wasano K*, Matsunaga T, Ogawa K, Kunishima S. Late onset and high-frequency dominant hearing loss in a family with MYH9 disorder. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2016; 273(11):3547-3552
 - 7) Takano K*, Ogasawara N, Matsunaga T, Mutai H, Sakurai A, Ishikawa A, Himi T. A novel nonsense mutation in the NOG gene causes familial NOG-related symphalangism spectrum disorder. *Hum Genome Variation* 2016; 3:16023
 - 8) Kanno A, Mutai M, Namba K, Morita N, Nakano A, Ogahara N, Sugiuchi T, Ogawa K, Matsunaga T*. Frequency and Specific Characteristics of the Incomplete Partition Type III Anomaly in Children. *Laryngoscope* 2016; [Epub ahead of print]PubMed PMID: 27577114
 - 9) Kitao K, Mizutari K*, Nakagawa S, Matsunaga T, Fukuda S, Fujii M. Recovery of endocochlear potential after severe damage to lateral wall fibrocytes following acute cochlear energy failure. *Neuroreport* 2016; 27(15):1159-1166
 - 10) Hosoya M, Fujioka M, Sone T, Okamoto S, Akamatsu W, Ukai H, Ueda HR, Ogawa K, Matsunaga T, Okano H*. Cochlear cell modeling using disease-specific iPSCs unveils a degenerative phenotype and suggests treatments for congenital progressive hearing loss. *Cell Rep*. 2017; 18(1):68-81
 - 11) Kasakura-Kimura N, Masuda M, Mutai H, Masuda S, Morimoto N, Ogahara N, Misawa H, Sakamoto H, Saito K, Matsunaga T*. WFS1 and GJB2 mutations in patients with bilateral low-frequency sensorineural hearing loss. *Laryngoscope* 2017; (in press)
 - 12) Mutai H, Watabe T, Kosaki K, Ogawa K, Matsunaga T*. Mitochondrial mutations in maternally inherited hearing loss. *BMC Medical Genetics* 2017;18:32 (in press)
 - 13) Morimoto N, Mutai H, Namba K, Kaneko H, Kosaki R, Matsunaga T*. Homozygous EDNRB Mutation in a Patient with Waardenburg Syndrome Type 1. *Acta Oto-Laryngologica* 2017; (in press)
 - 14) 松永達雄* ミトコンドリア DNA の遺伝子変異によるアミノグリコシドの副作用 (感音難聴) の発症予測 In : 奥山虎之、山本俊至・編集. 遺伝学的検査・診断・遺伝カウンセリングの上手な進めかた 診断と治療社 : 東京 2016; 166-168
 - 15) 松永達雄* 遺伝子診断・平衡障害 In : 永井良三・シリーズ総監修. 山唄達也、小川郁、丹生健一、久育男、森山寛、宇佐美真一・編集. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科研修ノート改訂第2版 診断と治療社 : 東京 2016; 622
 - 16) 松永達雄* 新しい検査・解釈 遺伝子とめまい疾患 JOHNS : 東京 2016; 32(1):45-48
 - 17) 永井遼斗、松永達雄* 図説シリーズ「目で見る遺伝医学」一難聴の遺伝医学 国立医療学会誌「医療」: 東京 2016; 70(3):160-166
 - 18) 松永達雄*、山本修子、村山圭 指定難病制度を踏まえたミトコンドリア病の診療. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 : 東京 2016; 88(3):240-247
 - 19) 南修司郎、榎本千江子、加藤秀敏、山本修子、細谷誠、若林毅、利國桂太郎、松永達雄、加我君孝. 当医療センターで初回人工内耳手術を行った聴覚障害児 138 児の療育先及びその後の就学状況調査. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 (in press)
 - 20) 松永達雄* 遺伝性難聴と内耳再生医療 日本医事新報 : 東京 2017; 印刷中
- ## 2. 学会発表
- 1) Matsunaga T, Mizutari K, Mutai H, Namba K, Nakano A, Arimoto Y, Masuda S, Morimoto N, Sakamoto H, Kaga K. High prevalence of CDH23 mutations in patients with a common clinical characteristics of early childhood hearing loss and the genotype-phenotype correlations. The 13th International Congress of Human Genetics 2016 年 4 月 3-7 日, Kyoto, Japan
 - 2) Matsunaga T. An animal model of acute cochlear energy failure and experimental therapeutic strategies. Collegium Oto-Rhino-Laryngologicum Amicitiae Sacrum. 2016 年 8 月 28-31 日, Bordeaux, France
 - 3) 南修司郎、竹腰英樹、新正由紀子、松永達雄、加我君孝. 当院で幼児期に初回人工内耳手術を行った聴覚障害児 138 児の療育・就学状況について. 第 117 回 日本耳鼻咽喉科学会通常総会・学術講演会. 愛知県名古屋市 2016 年 5 月 18-21 日
 - 4) 藤岡正人、松永達雄、長谷部夏希、神崎晶、大石直樹、平賀良彦、鈴木法臣、松崎佐栄子、細谷誠、川浦光弘、小川郁. 母親にのみ新規 EYA4 遺伝子変異を認めた家族性難聴の 1 例. 第 78 回耳鼻咽喉科臨床学会総会・学術講演会. 鹿児島県鹿児島市 2016 年 6 月 23-24 日
 - 5) 永井遼斗、南修司郎、加我君孝、松永達雄. MITF 遺伝子変異が同定された Waardenburg 症候群 Type I の当院症例. 第

26 回日本耳科学会総会・学術講演会.長野
県長野市 2016 年 10 月 5-8 日

- 6) 南修司郎、山本修子、細谷誠、松永達雄、
加我君孝.Auditory neuropathy spectrum
disorder3 児の人工内耳 EABR 波形の検討.
第 26 回日本耳科学会総会・学術講演会.長
野県長野市 2016 年 10 月 5-8 日
- 7) 細谷誠、藤岡正人、松永達雄、小川郁.疾
患 iPS 研究が示唆する Pendred 症候群に対
する低用量シロリムス療法の可能性.第 26
回日本耳科学会総会・学術講演会.長野県
長野市 2016 年 10 月 5-8 日
- 8) 佐藤裕子、柳澤瞳、守本倫子、小森学、吉
浜圭祐、藤井可絵、松永達雄 Auditory
Neuropathy 小児の人工内耳術後言語成績.
第 61 回日本聴覚医学会総会・学術講演会.
岩手県盛岡市 2016 年 10 月 19-21 日
- 9) 山澤一樹、山田洋平、務台英樹、松永達
雄、込山修、高橋孝雄.2 回の重篤な出血
のエピソードを認め、エクソーム解析によ
って診断されたヌーナン症候群の一例.第
39 回日本小児遺伝学会学術集会.東京都港
区 2016 年 12 月 9-10 日

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

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

診療の手引き（疾患特異的成長手帳）作成に関する研究

研究分担者 小崎里華

国立研究開発法人国立成育医療研究センター 生体防御系内科部遺伝子診療科 医長

研究要旨

稀少疾患についての情報源は医療者・患者家族のいずれにとっても限られているのが現状である。疾患については乳児期、幼児期、学童期、成人期と必要な医療的管理が年齢とともに変化してゆくという共通の特徴を有しており、年齢に応じた診療の手引の作成が求められる。本研究班では医師・患者家族に対して、年齢に応じた手引きを提供する目的で45の先天異常症候群について「疾患特異的成長手帳」の作成を試みた。疾患横断的に共通のフォーマットを提示することで、医療関係者の利便性の向上を目指すとともに、先天異常症候群領域の診療の患者の年齢に応じたチェックポイントを明示し、診療の標準化の基盤整備を行った。

A. 研究目的

稀少疾患についての情報源は医療者・患者家族のいずれにとっても限られているのが現状である。一部の疾患については海外では医療者向け情報が存在するが、内外の医療制度の相違のために、海外の資料を国内にそのまま当てはめることは困難である。患者家族向けの情報については個人ウェブサイトやブログ等に散見されるものの、個別の事例や合併症に関するやや偏った記載が見られ、患者・家族が混乱している場合も少なくない。さらに新生児期に発症する疾患については乳児期、幼児期、学童期、成人期と必要な医療的管理が年齢とともに変化してゆくという共通の特徴を有しており、年齢に応じた診療の手引の作成が求められる。そこで、本研究班ではプライマリケア医師・患者家族に対して、年齢に応じた疾患の手引きを提供する目的で「疾患特異的成長手帳」の作成を試みた。疾患横断的に共通のフォーマットを提示することで、医療関係者の利便性の向上を目指すとともに、先天異常症候群領域の診療の患者の年齢に応じたチェックポイントを明示し、診療の標準化することを目的とした。

B. 研究方法

疾患特異的成長手帳の作成にむけて、成長発達・合併症の情報を収集し、健康管理のための、年齢別チェックリスト「疾患特異的成長手帳」を作成した。主に遺伝子診断などで確定した診断の確実な患者群の情報を勘案して作成した。意見の集積に際しては、デルファイ法に準じた考え方を適用した。すなわち、当該先天異常症候群を診療する機会の多い臨床医（小崎健・岡

本・水野・黒澤・緒方・齋藤・大橋・古庄・小崎里・沼部ら）と当該疾患の研究者（松原・吉浦・松浦・副島・森崎・青木ら）がそれぞれ独自に意見を出し合い、相互参照を行って再び意見を出し合う作業により多くの専門家の意見を収斂させた。特に、患者のアウトカムの改善に有用か（科学的根拠、理解可能性、行動可能性、患者にとって意味があるか）、指標の実施（実現可能性）の観点から評価した。

比較的頻度が低い合併症であっても、予後に対する影響が大きいものや治療可能な合併症は疾患特異的成長手帳に言及することが望ましいと考えた。

先天異常症候群は新生児期から、小児科、小児外科、心臓外科、眼科、耳鼻咽喉科、口腔外科、形成外科、整形外科など多彩な診療科による長期な対応が必要である。そこで、小児内科のみならず、外科系診療科（仁科・松永・森山ら）と連携して記載を行った。

平成26年度には「小児慢性特定疾患」に13疾患が新規認定されている。さらに、4疾患が平成27年1月第1次指定難病、15疾患が平成27年12月第2次指定難病として認定されていることも踏まえ、診療のガイドラインの更なる充実が求められる状況となっている。上述のような診療ネットワークでの検討を重ねた。

内容についての国際的な整合性を図るため、欧州の難病支援機関である Orphanet が公開している疾患情報の日本語化・編集作業を行い、疾患特異的成長手帳に反映させた。

C. 研究結果

疾患特異的成長手帳によるフォローアップ指針

の明文化を達成した。平成28年度は、カムラティ・エンゲルマン症候群、9q34欠失症候群、コルネリア デ ラング症候群、スミス・レムリ・オピッツ症候群、ハッチンソン・ギルフォード・プロジェリア症候群、ビールズ症候群、ランガー・ギーディオン症候群についてデータの集積や診療基準の策定などを行い、先天異常症候群領域の45疾患における疾患毎・年齢ごとにチェックすべき点について疾患特異的成長手帳の作成を試みた。作成した成長手帳はWeb上で公開し、医療関係者の診断および診療ツールとして活用を図ると同時に、患者やその家族が正しい知識を持ち理解を深めるための有用なツールとなることを期待する。

(<https://raredis.nibiohn.go.jp/malformati on/>)

かかりつけ医師や家族がチェックポイントをチェックし、さらに各科の担当医が追記することを前提としている。先天異常症候群の標準的な医療の進め方をプライマリケア医師・患者家族の視点から時系列に沿って明示した。年齢別の管理指針や合併症の予見のためのスクリーニング検査のあり方や早期治療を示す内容となっており、患者家族への一貫した情報の提供や非専門家の主治医への標準的な治療方針を提示することが可能となった。健康管理については内科的な問題だけでなく、心理発達や視聴覚、整形外科、歯科口腔まで、様々な視点から記載を行った。ヨーロッパにおいて、信頼できる希少難病の情報源とされる、Orphanet (www.orpha.net)の先天異常症候群の疾患解説について内容の吟味を行った。おおむね、難病情報センターの記載内容とオーバーラップしていたが疾患毎に記載内容や量が異なることが明らかとなった。研究班内での共有のために日本語化・編集作業を行った。Orphanet 側の了解が得られたところで一般公開を進める計画である。

D. 考察

適切な時期に必要な診療を行い、合併症の予防や早期診断を行うことは患者のQOL向上に寄与する。本研究で策定した疾患特異的成長手帳は、合併症の予防・早期診断という観点から医療の標準化と希少疾患の診療の施設間・主治医間格差の解消を促すと期待される。

疾患特異的成長手帳は、患者が幼少期においては、プロスペクティブに、今後起こりうる問題に対処するための指針となる。

一方で、患者が成人に達した際には、レトロスペクティブにこれまで受けてきた各診療科での治療の記録となりうる。先天異常症候群の多くは多数の診療科における定期的な受診を要す

るが、年齢の上昇とともに、フォローアップの間隔は長くなり、一時的には受診が不要となることもある。この場合、カルテの保存年限の問題で、診療の記録が失われ、成人に達したあと、小児期の治療内容が不詳となる事態が発生する。多数の診療科にわたる診療記録の要点が長期にわたり記録される疾患特異的成長手帳は、先天異常症候群の受診記録の要約として機能すると期待される。

本研究で扱う先天異常症候群の一部は小児慢性特定疾患治療研究事業においても既に認定されており、疾患特異的成長手帳は上記の小児期から成人へのトランジションの問題解決に貢献するものと期待される。疾患特異的成長手帳の作成・運用はトランジション問題の解決を有する他の難治性疾患の診療にも応用可能である。

先天異常症候群のような希少疾患では患者家族のみならず、患者に関わる児童福祉、学校教育関係者などが必要とする情報は得られにくく、患児の健康管理に不安を持つ場合が少なくない。本管理指針には、医療機関と教育・福祉関係者との連携を促進する働きも期待できる。今回の手帳の作成に際して、疾患毎に起草したあと、研究分担者間で疾患間の記載方法の統一を図った。この結果、先天異常症候群の共通の特徴として、難聴・言語療法、屈折障害と眼鏡の使用、咬合障害と矯正歯科治療などに関する方針の記載の充実が求められることが必要であり、全国の小児耳鼻科医師・眼科医師・歯科医師との連携の必要が明らかとなったが、これらの外科系診療科の臨床医との連携でより詳細な記載が可能となった。診療科の連携をスムーズにする観点においても本研究の成果は有用であると考えられる。

一部の疾患については海外において、疾患特異的成長手帳と同様の試みはあるものが、大部分の疾患については前例がなく、今回の研究で37疾患について年齢に応じた手引きを作成することができたのは大きな成果であった。患者の年齢に応じたチェックポイントを明示した疾患特異的成長手帳は、わが国が世界に誇る「母子手帳」を難病の診療に外挿した独創的な冊子であり、国際的・社会的意義は重要であると考えられる。今後は英訳を進め、国際的な活用を進めたい。

疾患特異的成長手帳の臨床的有用性が示されたので、今後は、手帳が対象とする疾患の数を増やしてゆく予定である。本手帳は、患者家族が持ち歩き、各科の担当医がチェックをし、記載をする方式となっている。患者会等に配布し、普及を図る計画である。

一方で、手帳を実際の患者の診療に用いて、内容が適切かどうかについて検討を続け、必要に応じて継続的にアップデートすることが求められる。先天異常症候群の専門家ばかりでなく、一般小児科医や患児の保護者の意見も取り入れて、適宜改訂を行う必要がある。また、今後、各疾患について国内外から新たな合併症が見いだされると考えられる。ネットワーク内での診療経験の共有や、文献例からの新しい医学的知見も盛り込んで最新の内容を保持することが必要と考えられる。

Orphanet など海外の情報を積極的にわが国の医療部現場に取り込んでゆくことが、解決方法の一つと考えられた。Orphanet 情報の翻訳内容のウェブ上での一般公開については、わが国の公的機関と Orphanet との公式なやりとりが必要であり、今後の課題と考えられた。

E. 結論

本研究班ではプライマリケア医師・患者家族に対して、年齢に応じた疾患の手引きを提供する目的で 45 疾患を対象に「疾患特異的成長手帳」を作成した。疾患横断的に共通のフォーマットを提示することで、医療関係者の利便性の向上を目指すとともに、先天異常症候群領域の診療の患者の年齢に応じたチェックポイントを明示し、診療の標準化の基盤整備を行った。ヨーロッパにおいて、信頼できる希少難病の情報源とされる、Orphanet (www.orpha.net) の先天異常症候群の疾患解説について内容との整合性を確保できた。今後の英訳作業の端緒となるであろう。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Watanabe S, Shimizu K, Ohashi H, Kosaki R, Okamoto N, Shimojima K, Yamamoto T, Chinen Y, Mizuno S, Dowa Y, Shiomi N, Toda Y, Tashiro K, Shichijo K, Minatozaki K, Aso S, Minagawa K, Hiraki Y, Shimokawa O, Matsumoto T, Fukuda M, Moriuchi H, Yoshiura K, Kondoh T. Detailed analysis of 26 cases of 1q partial duplication/triplication syndrome. *Am J Med Genet A*. 2016 ;170(4):908-17.
- 2) Ishimaru D, Gotoh M, Takayama S, Kosaki R, Matsumoto Y, Narimatsu H, Sato T, Kimata K, Akiyama H, Shimizu K, Matsumoto K. Large-scale mutational analysis in the EXT1 and EXT2 genes for Japanese patients with multiple osteochondromas. *BMC Genet*. 2016 ;17(1):52.

- 3) 小崎里華 : 心疾患と染色体異常、単一遺伝病 心臓病児者の幸せのために 2016 ; 70-78
- 4) 小崎里華 : Rubinstein-Taybi 症候群 小児内科(48) 2016 ; 1386-89

2. 学会発表

- 1) R. Kosaki, H. Terashima, M. Kubota, K. Kosaki: DNMT3A p.Arg882His somatic mutation recurrently observed in adult acute myeloid leukemia can cause Tatton-Brown-Rahman syndrome when present in germline. European Society of Human Genetics, Barcelona, 2016 5.22
- 2) K. Kosaki, T. Takenouchi, T. Uehara, S. Ida, R. Kosaki, N. Okamoto CDC42 as a new human disease gene associated with thrombocytopenia and intellectual disability. European Society of Human Genetics, Barcelona, 2016.5.24
- 3) Masayo Kagami, Keisuke Nagasaki, Rika Kosaki, Reiko Horikawa, Yasuhiro Naiki, Shinji Saito, Toshihiro Tajima, Akie Nakamura, Keiko Matsubara, Maki Fukami, Tsutomu Ogata: Comprehensive clinical studies in 30 patients molecularly diagnosed with Temple syndrome. The 9th Biennial Scientific Meeting of the Asia Pacific Paediatric Endocrine Society (APPES), Tokyo, 2016.11.16-17
- 4) R. Kosaki H. Terashima M. Kubota K. Kosaki: Acute Myeloid Leukemia-associated DNMT3A p.Arg882His mutation in a patient with Tatton-Brown-Rahman Overgrowth Syndrome as a constitutional mutation. American Society of Human Genetics 2016, 2016 10.21
- 5) 福原康之, 宮寄治, 小崎里華 : マイクロアレイ染色体検査にて確定診断された先天性多発性関節脱臼の一例 第 119 回 日本小児科学会学術集会, 札幌, 2016 5.12
- 6) 小崎里華: カブキ症候群様の症状を認めた TBL1XR1 新生突然変異症例. 第 5 回 日本小児神経学会学術集会, 新宿, 2016.6.4
- 7) 小崎里華, 久保田雅也, 要匡, 小崎健次郎: 次世代シーケンサーを用いた小児遺伝性疾患の診断システムの開発. 第 56 回 日本先天異常学会, 姫路, 2016 7.30
- 8) 草野知江子, 堀尚明, 矢口知征, 佐藤吉壮, 伊澤和三, 小崎里華, 小崎健次郎, 西村玄, 長谷川奉延 : 臨床的 Hecht 症候群に MYH8 遺伝子の既報変異を認めなかった 1 例. 第 39 回 日本小児遺伝学会学術集会, 三田, 2016. 12.9
- 9) 福原康之, 永井康貴: IRUD-P コンソーシアム、宇佐美憲一、荻原英樹、小須賀基道、小崎里華: エキソーム解析で診断した

Saethre-Chotzen 症候群の 1 家系. 第 39
回日本小児遺伝学会学術集会, 三田, 2016.
12.9

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

RASopathiesにおける遺伝子診断と臨床症状の検討

研究分担者 青木 洋子
国立大学法人東北大学大学院医学系研究科 遺伝医療学分野 教授

研究要旨

RASopathiesは、特異的顔貌・心疾患・骨格異常・精神遅滞・皮膚症状・易発がん性を示す常染色体優性遺伝性疾患であり、RAS/MAPKシグナル伝達経路におけるさまざまな分子の異常がその原因となる。分担者らはサンガー法によるスクリーニングや網羅的遺伝子解析系を用いて本疾患の遺伝子診断を行っているが、本研究ではその遺伝子型と臨床型の相関について検討を行った。また最近循環器内科や神経内科など成人を診療している診療科からも遺伝子診断の問い合わせが増えており、成人患者もまだ少ないながらも増加している。成人患者における自然歴や合併症を調べるために、成人患者用の臨床症状・生活歴などの情報取得シートを作成した。

研究協力者

松原洋一

（国立成育医療研究センター研究所）

緒方 勤

（浜松医科大学・小児科）

黒澤健司

（神奈川県立こども医療センター・遺伝科）

川目 裕

（東北大学・東北メディカルメガバンク機構）

岡本伸彦

（大阪府立母子保健総合医療センター・遺伝診療科）

大橋博文

（埼玉県立小児医療センター・遺伝科）

水野誠司

（愛知県心身障害者コロニー中央病院）

呉 繁夫

（東北大学・大学院医学系研究科）

梅澤明弘

（国立成育医療研究センター研究所）

新堀哲也

（東北大学・大学院医学系研究科）

井上晋一

（東北大学・大学院医学系研究科）

大場大樹

（東北大学・大学院医学系研究科）

梅木郁美

（東北大学・大学院医学系研究科）

A. 研究目的

ヌーナン症候群、コステロ症候群およびCFC（cardio-facio-cutaneous）症候群は、心疾患・骨格異常・中等度～重度の精神遅滞や発達障害を示す先天奇形症候群である。いずれの疾患についても遺伝子診断が導入され他の類似

疾患との明確な鑑別が可能となってからは、まだ日が浅い。そのため、各疾患の自然歴や長期予後は不明である。さらに、患児（患者）の育児・教育・療育・介護における問題点や課題についても不明な点が多い。これまでに本疾患の暫定的な診断基準を作成してきたが、これまでに小児慢性特定疾病と指定難病指定のために診断基準を作成した。本研究で遺伝子診断による表現型の検討を行ない、診断基準の作成や合併症の把握や対応を目的とする。

B. 研究方法

全国から依頼される遺伝子解析を行った症例について臨床症状の検討を行なった。

（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、すでに東北大学大学院医学系研究科倫理委員会の承認を得ている（承認番号 2015-1-630）。また疫学研究に関しては疫学研究に関する倫理指針に沿って行った。疫学研究に関しては、東北大学大学院医学系研究科倫理委員会の承認を得ている（承認番号 2014-1-362）。

C. 研究結果

1) 遺伝子変異陽性者における臨床症状の検討

分担研究者らは全国から RASopathies 遺伝子診断に依頼に対応し遺伝子解析を行ってきた。2001年にヌーナン症候群の原因遺伝子が同定されて以来、続々とその類縁疾患を含めた原

因遺伝子が明らかになり、現在ではまだ十分にその意義が検討されていない遺伝子も含め、原因遺伝子の数は、20個以上にわたる。また2013年に分担者らが同定したRIT1遺伝子変異はPTPN11, SOS1, RAF1に次ぐほど頻度の高い原因遺伝子であることが明らかになったが、それ以降に同定された新規原因遺伝子A2ML1, SOS2, LZTR1, RASA2についてはまだその臨床症状との相関が明らかではなく、原因不明とされている日本人のRASopathies患者での検索とその臨床症状の評価が必要と考えられる。

当研究室ではヌーナン症候群の類縁疾患やRASopathies、これらの鑑別疾患の遺伝子45個を含む網羅的解析系を構築し、その運用を始めた。これまでのサンガー法での解析にて遺伝子変異が同定されなかった104人を解析したところ、22名に正常人データベースで1%以下であり、疾患の原因と思われるバリエーションを検出した。今後本遺伝子変異を持つ患者を収集し臨床的特徴について検討を継続している。遺伝子変異が同定されていない患者についてはエクソーム解析を実施し、データを解析中である。

2) 成人患者の臨床症状などの評価

最近では循環器内科や神経内科など成人を診療している診療科からも遺伝子診断の問い合わせが増えており、成人患者もまだ少ないながらも遺伝子診断を行っている。コストロ症候群は今年3人の患者が同定されたが、そのうち一人は循環器内科から紹介された30代であり、肥大型心筋症、アキレス腱硬化（手術後）、白内障などを合併していた。悪性腫瘍の合併を含め、本疾患の自然歴はまだ明らかでないため、遺伝子変異陽性患者に用いている臨床症状取得用紙に加え、成人専用のADLや学校、就労などに関する記録用紙を作製した。今後遺伝子変異陽性の10代後半から成人患者についてのフォローについて検討が必要と考えられた。

D. 考察

本研究にて分子診断に基づくRASopathiesの原因解明と臨床症状の詳細が明らかになってきた。

また、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析はより早くより多くの遺伝子解析が可能であるが、コストがかかるという課題がある。今後コストを下げられるよう改良を行っていききたい。新規原因遺伝子A2ML1, SOS2, LZTR1, RASA2についてはまだその臨床

症状との相関が明らかではなく、今後遺伝子変異陽性者の同定と臨床症状の評価が必要と考えられた。

また、成人患者の自然歴やがん罹患を含む合併症を明らかにすることは、本疾患の医療的な管理や治療に重要な役割を持つ。内科・外科などの診療科に周知することや、成人患者のフォロー体制を構築することが今後の課題になると考えられた。

E. 結論

RASopathiesの網羅的遺伝子解析系を構築し、遺伝子変異陽性者の臨床症状と合併症を詳細に検討した。成人患者の解析とその臨床症状の評価やフォロー体制について検討を開始した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Uemura R, Tachibana D, Kurihara Y, Pooh RK, Aoki Y, Koyama M. Prenatal findings of hypertrophic cardiomyopathy in a severe case of Costello syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 48(6):799-800, 2016.
- 2) Okamoto N, Nakao H, Niihori T, Aoki Y. Patient with a novel purine-rich element binding protein A mutation. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2017 Feb 6. doi: 10.1111/cga.12214. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

- 1) Aoki Y. Update on the molecular genetics and pathogenesis of RASopathies. The 13th International Congress of Human Genetics 2016年4月3-7日、京都
- 2) Niihori T, Ouchi-Uchiyama M, Sasahara Y, Kaneko T, Hashii Y, Irie M, Sato A, Saito-Nanjo Y, Funayama R, Nagashima T, Inoue S, Nakayama K, Ozono K, Kure S, Matsubara Y, Imaizumi M, Aoki Y. Mutations in MECOM, encoding oncoprotein EVI1, cause radioulnar synostosis with amegakaryocytic thrombocytopenia. ICHG 2016 The 13th International Congress of Human Genetics 2016年4月3-7日、京都
- 3) 矢尾板全子、大場大樹、梅木郁美、水野誠司、岡本伸彦、井上晋一、松原洋一、呉繁夫、新堀哲也、青木洋子。ヌーナン症候群類縁疾患におけるRIT1遺伝子解析と臨床的特徴の検討 第119回日本小児科学会学術集会 2016年5月13-15日、札幌

- 4) 青木洋子 RASopathies: 広がりゆく疾患
概念 口頭 第115回日本皮膚科学会総会
2016年6月3日、京都
- 5) 青木洋子、梅木郁美、大場大樹、西山亜
由美、矢尾板全子、井上晋一、松原洋
二、新堀哲也 Noonan症候群と類縁疾患に
おける遺伝子診断体制の確立とその病態
説明, 第23回 日本遺伝子診療学会大会
2016年10月6日、東京

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

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

上顎・下顎の異常を主徴とする奇形症候群に関する研究

研究分担者 森山 啓司

国立大学法人東京医科歯科大学大学院 顎顔面矯正学分野 教授

研究要旨

Russell-Silver 症候群(RSS)は、子宮内発育遅延、低身長、逆三角形の特異的顔貌、第五指内彎、左右非対称を主徴とする症候群である。顎顔面形態の特徴として、顔面の左右非対称、脳頭蓋に比べ顔面頭蓋が小さい相対的大頭症、下顎発育不全に伴う三角形の顔貌などの報告が散見されるが、歯科領域からの報告は少なく、RSS 患者の臨床症状に関する知見は十分といえない。そこで、RSS 患者 11 例の全身および口腔内に関する所見ならびに、側面および正面頭部 X 線規格写真を用いて顎顔面形態について検討した。口腔内の特徴として、下顎歯列の狭窄を伴う叢生ならびに、過蓋咬合を認めた。また、四肢の非対称性が同側に出現する可能性が考えられたが、それらの形態的な左右差は成長の量的違いによると推測された。顎偏位については、顕著な上下骨の偏位を認めないものの、過蓋咬合ならびに下顎骨の後方位を示し、上下顎前歯の舌側傾斜を認める顎態形態は本疾患の特徴の一つである可能性が示唆された。

A. 研究目的

Russell-Silver症候群(RSS)は、子宮内発育遅延、低身長、逆三角形の特異的顔貌、第五指内彎、左右非対称を主徴とする症候群である。顎顔面形態の特徴として、顔面の左右非対称、脳頭蓋に比べ顔面頭蓋が小さい相対的大頭症、下顎発育不全に伴う三角形の顔貌などの報告が散見されるが、歯科領域からの報告は少ない。そこで、RSS患者の全身および口腔内に関する所見ならびに、側面および正面頭部X線規格写真を用いて顎顔面形態について検討することを目的とした。

B. 研究方法

東京医科歯科大学歯学部附属病院矯正歯科外来を受診した RSS 患者 11 名（男児 3 名、女児 8 名、初診時年齢 3.9 歳～12.0 歳）の初診時資料（調査用紙、頭部 X 線規格写真等）を用いて、1) 全身所見、2) 口腔内所見、3) 四肢の左右対称性、4) 顎顔面形態について検討した。

(倫理面への配慮)

本研究に用いた資料は、患者が矯正歯科治療計画立案のために採得した資料を用いており、また、東京医科歯科大学歯学部倫理審査委員会の承認のもと行われた。

C. 研究結果

- 1) すべての症例が、低身長を示していた。11 例中 8 例の頭周囲長は平均的で、相対的大頭症を認めた。また、10 例に口角下垂によるへの字型の口がみられ、7 例に第五指内彎を認めた。
- 2) 下顎歯列の狭窄 7 例、下顎歯列の叢生 10 例、過蓋咬合 7 例、高口蓋 2 例、エナメル質減形成 1 例、永久歯胚の先天性欠損 4 例を認めた。
- 3) 四肢の非対称を認めた症例では、非対称が同側に表れる傾向を認めたが、左右の骨年齢や歯年齢の差は認められなかった。
- 4) 側面セファログラム分析の結果、多くの症例で、上顎骨に対して下顎骨の後方位を認め、U-1 to FH ならびに L-1 to Mandibular が小さい値を示し、上下顎前歯の舌側傾斜をみた。
- 6) 正面セファログラムを用いた非対称分析においては、上顎の偏位を示す症例は少なく、下顎においても Me の偏位を認める傾向があったものの、顕著な下顎偏位を示す症例は認められなかった。

D. 考察

当分野を受診した RSS 患者の口腔内の特徴として、下顎歯列の狭窄を伴う叢生ならびに、過蓋咬合を認めた。また、四肢の非対称性が同側に出現する可能性が考えられたが、それらの形態的な左右差は成長の量的違いによると推測された。顎偏位については、顕著な上下骨の偏位を認め

ないものの、過蓋咬合ならびに下顎骨の後方位を示し、上下顎前歯の舌側傾斜を認める顎態形態は本疾患の特徴の一つである可能性が示唆された。

E. 結論

本研究課題で得られたRSSの顎顔面に関する知見は、RSSの特徴を把握するうえで有用な情報となり得る。さらに、成長発育・合併症に関する情報を小児医療に従事する医療者間で共有することは、診療指針作成につながると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Lin W, Izu Y, Smriti A, Kawasaki M, Pawaputanon C, Böttcher RT, Costell M, Moriyama K, Noda M, Ezura Y. Profillin1 is expressed in osteocytes and regulate cell shape and migration. *J cell Physiol*. 2017. (in press)
- 2) Shiga M, Ogawa T, Ekprachayakoon I, Moriyama K. Orthodontic treatment and long-term management of a patient with Marfan syndrome. *Cleft Palate-Craniofacial J*. 2017. (in press)
- 3) Duarte C, Kobayashi Y, Morita J, Kawamoto T, Moriyama K. A preliminary investigation of the effect of relaxin on bone remodelling in suture expansion. *The European Journal of Orthodontics*. 2017. (in press)
- 4) Sawada H, Ogawa T, Kataoka K, Baba Y, Moriyama K. Measurement of distraction force in maxillary distraction osteogenesis for cleft lip and palate. *Journal of Craniofacial Surgery*. 28(2): 406-412, 2017.
- 5) Koda N, Sato T, Shinohara M, Ichinose S, Ito Y, Nakamichi R, Kayama T, Suzuki H, Moriyama K, Asahara H. The transcription factor mohawk homeobox regulates homeostasis of the periodontal ligament. *Development*. 144(2): 313-320, 2017.
- 6) Ikeda M, Miyamoto JJ, Takada JJ, Moriyama K. Association between 3-dimensional mandibular morphology and condylar movement in subjects with mandibular asymmetry. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 151(2): 324-334, 2017.
- 7) Yahiro K, Higashihori N, Moriyama K. Histone methyltransferase Setdb1 is indispensable for Meckel's cartilage development. *Biochem Biophys Res Commun*. 482(4): 883-888, 2017.
- 8) Ogura K, Iimura T, Makino Y, Sugie-Oya A, Takakura A, Takao-Kawabata R, Ishizuya T, Moriyama K, Yamaguchi A. Short-term intermittent administration of parathyroid

hormone facilitates osteogenesis by different mechanisms in cancellous and cortical bone. *Bone Reports*. 16(5) :7-14, 2016.

- 9) Tumurkhuu T, Fujiwara T, Komazaki Y, Kawaguchi Y, Tanaka T, Inazawa J, Ganburged G, Bazar A, Ogawa T, Moriyama K. Association between maternal education and malocclusion in Mongolian adolescents: a cross-sectional study. *BMJ Open*. 6(11): e012283, 2016.
- 10) Sato C, Ogawa T, Tsuge R, Shiga M, Tsuji M, Baba Y, Kosaki K, Moriyama K. Systemic and maxillofacial characteristics of 11 Japanese children with Russell-Silver syndrome. *Congenit Anom (Kyoto)*. 56(5) :217-225, 2016.
- 11) Sato M, Baba Y, Haruyama N, Higashihori N, Tsuji M, Suzuki S, Moriyama K. Clinicostatistical analysis of congenitally missing permanent teeth in Japanese patients with cleft lip and/or palate. *Orthodontic Waves*. 75(2): 41-45, 2016.

2. 学会発表

- 1) Komazaki Y, Ogawa T, Baba Y, Moriyama k. Postoperative changes of the maxilla after distraction osteogenesis in cleft palate patients - Comparison between internal device and external device. 13th International Cleft Congress, Chennai, India, Feb 8, 2017.
- 2) Akiyama S, Ogura K, Miyamoto JJ, Komazaki Y, Takada J, Moriyama K. Clinical study of Marfan syndrome patients: intraoral characteristics. The 49th Annual Scientific Congress, Korean Association of Orthodontists. Seoul, Korea, Oct 7, 2016.
- 3) Baba Y, Komazaki Y, Miyamoto J, Ogura K, Ahiko N, Baba Y, Tuji M, Moriyama K. Maxillofacial morphology of 4 cases of Marfan-related disorders in mixed dentition stage. The 49th Annual Scientific Congress, Korean Association of Orthodontists. Seoul, Korea, Oct 7, 2016.
- 4) Arimura M, Komazaki Y, Miyamoto JJ, Ogura K, Kobayashi Y, Moriyama K. Moriyama K. Clinical study of Japanese Marfan syndrome patients: craniofacial morphology. The 49th Annual Scientific Congress, Korean Association of Orthodontists. Seoul, Korea, Oct 7, 2016.
- 5) Moriyama K. Dental Equilibrium Revisited: Soft Tissue Considerations in Treatment of Dentofacial Deformity. The 10th Asia Pacific orthodontic Conference and 11th Annual Meeting of the Indonesian Association of Orthodontists. Bali, Indonesia, Sep 3, 2016.
- 6) Ikeda A, Miyamoto JJ, Usui N, Taira M, Moriyama K. Effect of mastication on satiety using an attentional bias task. 94th General

Session & Exhibition of International Association for Dental Research. Seoul, Korea, June 22, 2016.

- 7) Koda N, Shinohara M, Nakamichi R, Ito Y, Ichinose S, Asahara H, Moriyama K. Roles of Transcriptional Factor Mohawk in Periodontal Ligament. 94th General Session & Exhibition of International Association for Dental Research. Seoul, Korea, June 22, 2016.
- 8) Lin W, Ezura Y, Izu Y, Moriyama K, Noda M. Role of Profilin1 in BMP-induced Activities in Skeletal Cells. 94th General Session & Exhibition of International Association for Dental Research. Seoul, Korea, June 22, 2016.
- 9) Uezono M, Takakuda K, Hiratsuka T, Ogasawara T, Oshima S, Sato T, Kikuchi M, Suzuki S, Harada K, Moriyama K. Mechanical properties of newly formed bone around subperiosteal devices evaluated with micro-indentation test. 10th World Biomaterials Congress (WBC). Montreal, Canada, May 17, 2016.
- 10) Tsuji M, Ogura K, Hikita R, Kobayashi Y, Moriyama K. Maxillofacial morphological characteristics of two Japanese patients with chromosome 18p deletion syndrome. International Congress of Human Genetics 2016. Kyoto, Japan, Apr 3, 2016.
- 11) Hikita R, Matsuno S, Asami T, Ogawa T, Baba Y, Tsuji M, Moriyama K. Systemic and craniomaxillofacial characteristics of patients with Williams syndrome. International Congress of Human Genetics 2016. Kyoto, Japan, Apr 3, 2016.
- 12) 小川卓也、村本慶子、森山啓司. 当科にて長期経過観察を行った Klippel-Trenaunay-Weber syndrome の 1 例-顎顔面の成長様相について-第 75 回日本矯正歯科学会大会、徳島、2016 年 11 月 7 日.
- 13) 八尋浩平、東堀紀尚、森山啓司. 顎顔面発生過程におけるヒストンメチル化酵素 Setdb1 の役割. 第 75 回日本矯正歯科学会大会、徳島、2016 年 11 月 7 日.
- 14) 小林起穂、森山啓司. 頭蓋縫合早期癒合症発症および頭蓋骨縫合部発生に関与する micro RNA の同定. 第 75 回日本矯正歯科学会大会、徳島、2016 年 11 月 7 日.
- 15) 田村明日香、小倉健司、宮本順、駒崎裕子、高田潤一、吉澤英之、呉郁イン、辻美千子、森山啓司. 当分野 を受診した Marfan 症候群患者に関する検討—医科領域を含めた臨床症状について—. 第 75 回日本矯正歯科学会大会、徳島、2016 年 11 月 7 日.
- 16) 松村健二郎、小倉健司、宮本順、駒崎裕子、高田潤一、紙本裕幸、足田理奈、森山

啓司. 当分野を受診した Marfan 症候群患者に関する検討-上気道形態および周囲軟組織について-. 第 75 回日本矯正歯科学会大会、徳島、2016 年 11 月 7 日.

- 17) 足田理奈、辻美千子、小林起穂、小倉健司、森山啓司. 臨床症状から Seathre-Chozen 症候群と診断された 2 症例の顎顔面領域の臨床的特徴について. 第 75 回日本矯正歯科学会大会、徳島、2016 年 11 月 7 日.
- 18) 小林起穂、辻美千子、足田理奈、小倉健司、森山啓司. 頭蓋縫合早期癒合症 (Craniosynostosis) 患者の顎顔 面形態の解析—アペール症候群とクルーズン症候群の比較. 第 56 回日本先天異常学会学術集会. 兵庫、2016 年 7 月 30 日.
- 19) 小川卓也、トムルホーツァサン、小崎健次郎、森山啓司. 矯正歯科を受診して判明した Treacher Collins syndrome の 1 例. 第 40 回日本口蓋裂学会総会. 大阪、2016 年 5 月 26 日.

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

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

9q34欠失症候群（Kleefstra症候群）の診断と医療管理

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 部長

研究要旨

9q34欠失症候群は9q34にマップされるEHMT1（Euchromatic Histone Lysine Methyltransferase 1）のハプロ不全によって発症する先天奇形症候群である。EHMT1は、主にヒストンH3のLys-9のmonoあるいはdimethylateを行うことにより多くの遺伝子発現制御にかかわるとされる。マイクロアレイ染色体検査およびメンデル遺伝病パネル解析により、遺伝外来受診中の未診断症例300例に2例のKleefstra症候群（9q34欠失症候群）を検出した。発達の遅れは乳児期早期から目立ち、早期の療育が効果的と考えられた。次世代シーケンスの普及により症例集積が可能となり、長期的予後に関する検討が重要と思われた。

A. 研究目的

Kleefstra症候群は9番染色体長腕q34にマップされるEHMT1（Euchromatic Histone Lysine Methyltransferase 1）遺伝子のハプロ不全ないしは機能喪失変異によって発症する先天奇形症候群である。EHMT1は、主にヒストンH3のLys-9のmonoあるいはdimethylateを行うことにより多くの遺伝子発現制御にかかわるとされる。

これまで2例の9q34微細欠失症例を経験したが、今回新たにマイクロアレイ染色体検査とメンデル遺伝病疾患パネル解析を組み合わせたスクリーニングにより、こども医療センター遺伝科受診中の未診断症例約300例に、1例の微細転座による9q34微細欠失例と1例のEHMT1点変異症例（Kleefstra症候群）を検出した。メンデル遺伝病パネル解析を実施した約300例に複数症例のKleefstra症候群を検出したことは、我が国においても一定の頻度で潜在している可能性がある。医療管理と合わせて、臨床像をまとめた。

B. 研究方法

対象は、当施設へ診断および医療管理を目的に定期通院を行っている未診断症例で、年間受診症例数は約100例に及ぶ。初診の際には、家族歴を含め詳細な病歴を聴取し、診察はDysmorphologyを専門とする臨床遺伝専門医によってなされる。参考として、保護者の同意のもとで写真等による記録もなされる。神経発達や循環にかかわる症状を認める場合には、施設内診療科とともに、臨床症状の評価を行う。必

要に応じて頭部MRIなども実施する。臨床的に既知の疾患群が想定できない場合には、染色体検査やマイクロアレイ染色体検査、さらにはメンデル遺伝病疾患パネル解析などの遺伝学的検査解析を組み合わせて行う。

マイクロアレイは、Agilent社製マイクロアレイシステムを使用し、解析プラットフォームはSurePrint G3シリーズを用いた。FISH解析で用いるBACクローンは、CHORI 32K plateから選択し、通常法で抽出・ラベリング後、Leica CW4000で観察する。臨床症状は診療記録からまとめた。得られた結果は、hg19に準拠したUCSC Genome Browserに従って検討する。ISCAデータ、およびDECIPHERデータなど種々のデータベースを参照して変異の意義を検討する。

メンデル遺伝病疾患パネル解析はTruSight One Sequence Panel (Illumina) 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。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、重複検証：Picard、variant calling と indel realignments：GATK、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、ESP6500、1000 Genomes Project などを用いた。また、HGMD (Human Gene Mutation Database) 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。このパイプラインで約 80 の variants に絞り込まれることを自施設経験で既に確認している。複合ヘテロあるいはホモ接合 variant は、10-20 遺伝子で統合データベース GeneCards などから検討を進めた。

(倫理面への配慮)

解析に当たっては、施設内倫理承認を得て実施した。文書による同意を全例で得た。

C. 研究結果

約300例の未診断症例中1例に9q34を含む微細欠失例をマイクロアレイ染色体検査で検出した。また、1例にEHMT1遺伝子の機能喪失変異を検出した。

症例1：6か月女児

多発奇形発達遅滞精査を主訴に来院マイクロアレイ染色体検査を施行し、4p16.1-pterの10.6Mbの重複、9q34.3-qterの0.7Mbの欠失を認めた。欠失領域にマップされるプローブを用いてFISHを行い、診断を確定した。親由来についても検討した。

症例2：2歳男児

発達遅滞精査を主訴に来院。メンデル遺伝病パネル解析により、EHMT1 (NM_024757) の exon4に疾患特異的と思われる変異c.800dupT (p.M267fs) をヘテロ接合体として検出した。この変異は両親解析の結果、新生突然変異であった。

D. 考察

Kleefstra 症候群 (9q34 欠失症候群) の特徴は、知的障害、小児期の筋緊張低下、および特異な顔貌である。大多数の患者は中等度~重度の知的障害を示すが、少数の患者は軽度の遅滞しか示さず、全検査 IQ は 70 前後である。多くの患者で重度の表出性言語遅滞があり、発話発達はほとんど認められないが、全般的な言語発達は比較的高いレベルにあることが多く、非言語コミュニケーションは可能である。また、先天性心疾患、腎/泌尿器奇形、男性での性器異常、重度の呼吸器感染症、てんかん/熱性痙攣、小児期の自閉症様症状、および思春期以降の情緒の変化など、その他複雑なパターンの所見も認められる。今回新たに 2 例の Kleefstra 症候群を検出し、その遺伝学的結果と臨床症状をまとめた。

医療管理としては、知的障害のある小児特化した集学的チームによるルーチンケアを継続が

重要である。年齢に応じて早期幼児期介入プログラム、特殊教育プログラムなど療育への紹介が有効である。さらに言語療法、理学/作業療法、および感覚統合療法なども有効かもしれない。ほかに先天性心疾患、腎奇形・欠損、泌尿器異常、難聴、およびその他の医学的な問題に対しても対応が重要である。

E. 結論

マイクロアレイ染色体検査およびメンデル遺伝病パネル解析により、遺伝外来受診中の未診断症例 300 例に 2 例の Kleefstra 症候群 (9q34 欠失症候群) を検出した。発達の遅れは乳児期早期から目立ち、早期の療育が効果的と考えられた。次世代シーケンスの普及により症例集積が可能となり、長期的予後に関する検討が重要と思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Ono H, Kurosawa K, Wakamatsu N, Masuda S. Hearing impairment in a female infant with interstitial deletion of 2q24.1q24.3. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2016 Dec 30. doi: 10.1111/cga.12207. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

1) Hatano C, Yokoi T, Enomoto Y, Tsurusaki Y, Saito T, Nagai J, Kurosawa K. Dosage Changes of *NIPBL* cause various types of neurodevelopmental disability. The 13th International Congress of Human Genetics 2016.4.3-7 Kyoto

2) Shimbo H, Yokoi T, Mizuno S, Suzumura H, Aida N, Nagai J, Ida K, Enomoto Y, Hatano C, Kurosawa K. Structural brain abnormalities associated with deletion at chromosome 2p16.1. The 13th International Congress of Human Genetics 2016.4.3-7 Kyoto

3) Minatogawa M, Iwasaki F, Fukuda K, Hatano C, Yokoi T, Enomoto Y, Ida K, Tsurusaki Y, Harada N, Saitou T, Nagai J, Goto H, Kurosawa K. Early development of rare tumors in individuals with congenital malformation syndrome. The 13th International Congress of Human Genetics 2016.4.3-7 Kyoto

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

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

先天異常症候群の診断とケア：プラダーウィリー症候群非典型例の診断

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 兼 部長

研究要旨

- 1) 先天異常症候群の診断には適切な臨床的評価ならびに遺伝学的検査の選択が欠かせない。プラダーウィリー症候群（PWS）の診断上困難があった2例を報告する。【症例1】1歳男児。染色体は47,XY+mar. ish der(15)[10]/46,XY[10]。SNRPN領域のメチル化PCR解析は正常パターンであった。メチル化特異的MLPA法による解析では、同領域に高メチル化（90%）を認め、PWSと診断した。定性的なメチル化特異的PCRでは診断し得ず、定量的なメチル化特異的MLPA法で診断し得た例であった。【症例2】6ヶ月男児。妊娠糖尿病があった。筋緊張低下、尿道下裂、心房中隔欠損があった。基礎疾患の診断が不明であり、SNPアレイ解析を行い15q13-q22.31領域の約26.2 Mbの連続ホモ接合領域を認めPWSを疑った。メチル化特異的MLPA法でSNRPN領域に高メチル化を認めPWSと診断した。非典型的合併症の存在等から診断バイアスがかかり本疾患を疑えず、網羅的遺伝学的検査であるSNPアレイで診断の手がかりを得た例であった。PWSは臨床的にもよく認知された疾患であり、ほぼ100%診断し得る検査法があるが、臨床的・遺伝学的検査的にもピットフォールが存在する。
- 2) 先天異常症候群の診断後の患者家族支援としての疾患集団外来の開催も継続して進めた。2016年5月～2016年11月までの間に、計10回の外来を開催した。参加家族数は3～21家族（平均11.5家族）、合計115家族であった。他県からの参加家族も平均3.8家族あった。

研究協力者

清水 健司（埼玉県立小児医療センター遺伝科）

A. 研究目的

1) 先天異常症候群の診断は以前は主として症状に基づく臨床的診断によるところが大きかった。その後、遺伝学的原因の解明の進展によって、多くの疾患で遺伝学的検査（染色体・FISH検査、遺伝子検査等）での確定診断が可能となった。しかしながら、臨床的・遺伝学的原因の非典型例も存在するため、その診断には適切な臨床的評価ならびに遺伝学的検査の選択が欠かせない。

プラダーウィリー症候群は新生児・乳児期の筋緊張低下、幼児前期から始まる過食・肥満、性腺機能低下、知的発達障害などを主徴とする疾患であり、出生頻度は約2万人に1人である。15番染色体q11-13のインプリンティング関連領域の異常（欠失、母性片親性ダイソミー、刷り込み変異）をその原因とする。従来染色体FISH解析が第一選択の本症の診断的検査と位置付けられたが、その診断率は70%であり、非欠失例の診断はできないが、メチル化特異的PCR法はほぼ全例の診断が可能とされ

る。本症の診断上困難があった2例の概要を報告する。

2) 加えて、当研究班の活動の一環として継続している先天異常症候群疾患集団外来の開催する。

B. 研究方法

1) プラダーウィリー症候群非典型例の診断
【症例1】

1歳男児。顕微授精で妊娠成立。39週、帝王切開、体重2664g、体長48.5cm、頭囲34.5cmで出生した。筋緊張低下、両側停留精巣を認め、新生児期に哺乳不良のため経管栄養を必要とし、臨床的にPWSと診断した。G感染による染色体検査で47,XY+mar. ish der(15)[10]/46,XY[10]の核型だった。なお、SNRPN領域に対するFISHでは欠失はなし。同領域のメチレーションPCRを行ったが、メチル化・非メチル化両者のプライマーによる増幅を認め、PWSとは診断し得なかった。臨床診断と遺伝学的診断の不一致があり、PWS責任領域（SNRPN）に対するMS-MLPAによる

メチル化状態の定量検査を行った。PWS 責任領域のメチル化割合は 0.9(正常 0.5)であり、母性片親性ダイソミーを基盤とした父由来の PWS 責任領域を含む 15 番染色体部分トリソミーモザイク（以下 mUPD+父由来トリソミーモザイク）の PWS と確定診断した。

【症例 2】

6 ヶ月男児。妊娠中、母体糖尿病があった。34 週、体重 1191g、身長 42 cm、頭囲 26.3 cm で出生。筋緊張低下、尿道下裂、心房中隔欠損があった。染色体 G 分染法は正常。診断不明のため、SNP アレイ解析を行ったところ 15q13-q22.31 領域の約 26.2 Mb の連続ホモ接合領域を認めた。低緊張などの臨床所見と合わせプラダーウィリー症候群の可能性が想定され、メチル化特異的 MLPA 法を行ったところ SNRPN 領域に明らかな高メチル化を認めプラダーウィリー症候群と確定診断した（母性片親性ダイソミーあるいは刷り込み変異）。

2) 先天異常症候群の診断後の患者家族支援としての疾患集団外来の開催

本年度も、比較的頻度が高く受診患者数が多い、新たに診断を受けた患児がいる、集団外来開催を家族が希望している、共有すべき重要な情報や新たな知見がある、臨床研究の推進と関連がある、などを基準に疾患を選定し、集団外来を開催した。

(倫理面への配慮)

遺伝学的検査については、関連ガイドラインを遵守して行う。また、マイクロアレイ染色体検査も含めて関連の遺伝学的検査施行に関しては施設の倫理委員会で承認済みである。

C. 研究結果

1) プラダーウィリー症候群非典型例の診断

診断に難しさがあった 2 例を記載した。症例 1 は、定性的なメチル化特異的 PCR では診断し得ず、定量的なメチル化特異的 MLPA 法で診

断し得た。症例 2 は、尿道下裂、心房中隔欠損といった非典型的合併症の存在と、妊娠中の母体糖尿病の存在から臨床診断上のバイアスがかかりプラダーウィリー症候群を当初疑うことができず、網羅的遺伝学的検査である SNP アレイを行うことによって診断の手がかりを得た。

プラダーウィリー症候群は臨床的にもよく認知された疾患であり、かつほぼ 100%診断し得る検査法がある疾患ではあるが、臨床的・遺伝学的検査的にもピットフォールが存在することが示唆された。

2. 先天異常症候群の診断後の患者家族支援としての疾患集団外来の開催

2016 年 5 月～2016 年 11 月までの間に、計 10 回の外来を開催した。参加家族数は 3～21 家族（平均 11.5 家族）、合計 115 家族であった。他県からの参加家族も平均 3.8 家族あった（表 1）。

D. 考察

稀ではあるが定性的メチル化 PCR では診断し得ないプラダーウィリー症候群例も存在することを考えると、メチル化特異的 MLPA 法が診断的精度で優れていると考えた。臨床的に PWS が疑われる際、遺伝学的診断法として PWS 責任領域に対する MS-MLPA を第一選択とすることが望ましい。また、非典型的な大奇形をもつプラダーウィリー症候群の臨床診断は難しいことがある。大奇形の存在に惑わされることなく低緊張児の鑑別診断として常に想定しておくことは大切である。

E. 結論

診断に難しさがあったプラダーウィリー症候群の 2 例を記載した。加えて、先天異常症候群の疾患集団外来の開催を本年度も継続して行った。

表2. 2016年度開催 先天異常症候群集団外来開催状況

日付	疾患名	テーマ	情報提供 担当者	家族数	参加人数	他県よりの家族数
2016/5/10	頭蓋・前額・鼻症候群	疾患の概要	遺伝科医	3	8	0
2016/6/15	5pモノソミー症候群	疾患の概要	遺伝科医	6	14	1
2016/7/20	4pモノソミー症候群	疾患の概要	遺伝科医	3	8	1
2016/7/27	9pトリソミー・テトラソミー症候群	疾患の概要	遺伝科医	7	23	1
2016/8/25	CHARGE症候群	福祉制度と社会資源	ソーシャル ワーカー	12	31	1
2016/8/31	22q11.2欠失症候群	ことばのはなし	言語聴覚士	11	25	1
2016/9/21	カブキ症候群	疾患概要	遺伝科医	19	39	12
2016/9/28	ソトス症候群	先輩のご家族の話	母親	21	42	8
2016/10/12	ウィリアムズ症候群	発達	作業療法士	19	36	9
2016/11/24	プラダーウィリー症候群	不適応行動とその対応	精神科医	14	22	4
2016年度 合計				115	248	38
2016年度 平均				11.5	24.8	3.8

F. 研究発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. 論文発表

- 1) Nakajima M, Kou I, Ohashi H; Genetic Study Group of the Investigation Committee on the Ossification of Spinal Ligaments., Ikegawa S. Identification and Functional Characterization of RSPO2 as a Susceptibility Gene for Ossification of the Posterior Longitudinal Ligament of the Spine. Am J Hum Genet. 99:202-7, 2016
- 2) Watanabe S, Shimizu K, Ohashi H, Kosaki R, Okamoto N, Shimojima K, Yamamoto T, Chinen Y, Mizuno S, Dowa Y, Shiomi N, Toda Y, Tashiro K, Shichijo K, Minatozaki K, Aso S, Minagawa K, Hiraki Y, Shimokawa O, Matsumoto T, Fukuda M, Moriuchi H, Yoshiura K, Kondoh T. Detailed analysis of 26 cases of 1q partial duplication/triplication syndrome. Am J Med Genet A. 2016 170:908-17
- 3) 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-Simarro F, García-Miñaur 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 2016 135:209-22
- 4) Shiohama T, Fujii K, Hino M, Shimizu K, Ohashi H, Kambe M, Nakatani Y, Mitsunaga T, Yoshida H, Ochiai H, Shimojo N. Coexistence of neuroblastoma and ganglioneuroma in a girl with a hemizygous deletion of chromosome 11q14.1-23.3. Am J Med Genet A. 2016 170:492-7.

2. 学会発表

なし

G. 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

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

エーラス・ダンロス症候群など結合織の異常を主徴とする奇形症候群
およびコフィン・サイリス症候群

研究分担者 古庄 知己
国立大学法人信州大学医学部附属病院 遺伝子医療研究センター 准教授

研究要旨

エーラス・ダンロス症候群（Ehlers-Danlos syndrome ; EDS）は、皮膚・皮膚の過伸展性、各種組織の脆弱性を特徴とする先天性疾患の総称であり、1/5000人の頻度で見られる。1997年にVillefrancheで開催された国際命名会議により、古典型（Classical type）、関節型（Hypermobility type）、血管型（Vascular type）、後側彎型（Kyphoscoliosis type）、多発関節弛緩型（Arthrochalasia type）、皮膚弛緩型（Dermatosparaxis type）の6つの主要病型およびその他の病型に分類された（Beighton et al., Am J Med Genet 77: 31-37, 1998）。その後、研究分担者ら日本の共同研究チームが中心となって疾患概念を構築したCHST14/D4ST1欠損に基づくEDSを含め、新たな病型が、その遺伝学的、生化学的基盤とともに相次いで発見され、それらが必ずしも主要病型よりも低頻度という訳ではない重要病型であることが明らかになってきた。そこで、2013年に設立されたThe International Consortium on EDS and Related Disordersが主導して、研究分担者を含む世界の多職種・多分野・多施設の専門家が協力し、新たな国際命名法・分類「The 2017 International Classification of the Ehlers-Danlos Syndromes」が提唱された（Malfait, Kosho, et al., Am J Med Genet C Semin Med Genet 175: 8-26, 2017）。新命名法では、EDSは13病型に分類された。CHST14/D4ST1欠損に基づくEDSは「Musculocontractural EDS (mcEDS)」として1つの重要な病型と位置付けられた。また、Hypermobile Typeの定義がより厳密になり、他覚的な関節所見の必要性、多系統疾患であること、他の遺伝性結合組織疾患、後天性結合組織疾患が否定されていること、といった慎重な表現になった。また、これまで一部の患者においてTNXB変異を有するとしていたが、今回の命名法・分類では全症例において「原因不明」であるとされた。研究分担者は、Medical and Scientific Boardの1人として命名法・分類の全体構想に関わるとともに、Rare Type CommitteeにおいてはArthrochalasia EDS（多発関節弛緩型）、mcEDSの疾患概念に関するドラフトを作成した。

信州大学医学部附属病院遺伝子診療部（平成28年10月より遺伝子医療研究センター）では、遺伝性結合組織疾患の網羅的パネル解析を継続し、平成28年度は42症例の遺伝子解析を行った。古典型疑い9症例中7症例において病的変異が検出された（78%、COL5A1が3人、COL5A2が4人）。血管型疑い17症例中9症例において病的変異が検出された（53%、全症例COL3A1）。また、CHST14変異に基づくmcEDS（mcEDS-CHST14）、B3GALT6変異に基づく脊椎異形成型EDSをそれぞれ1例見出した。

コフィン・サイリス症候群（Coffin-Siris syndrome ; CSS）は、発達遅滞、知的障害、顔貌上の特徴、摂食障害、易感染性、第5指・趾の爪および末節骨の低（無）形成を特徴とするまれな先天奇形症候群である。2012年以降、横浜市立大学の研究チームらにより、CSSがBRG1-およびBRM-関連因子（BAF）複合体構成タンパクをコードする遺伝子群のヘテロ接合性変異により発症することが示され、研究分担者ら日本の共同研究チームにより遺伝子型・表現型の概要が提唱された（Kosho et al., Am J Med Genet Part A 161A: 1221-1237, 2013; Kosho et al., Am J Med Genet Part C Semin Med 166C: 241-251, 2014; Kosho et al., Am J Med Genet Part C Semin Med 166C: 262-275, 2014）。本分担研究では、CSS原因遺伝子を含む知的障害関連遺伝子パネル解析を継続し、新規遺伝学的診断症例の収集を行ってきた。平成28年度、ARID1B変異による1症例が見出された。本症例は小児早期より肝腫大が目立ち、代謝異常との鑑別を要した。既報告例においても同様の所見を呈する症例があり、本所見は診断的意義のある重要な徴候である可能性が示唆された。

A. 研究目的

エーラス・ダンロス症候群（Ehlers-Danlos

syndrome ; EDS)

EDSは、皮膚・皮膚の過伸展性、各種組織の脆

弱性を特徴とする先天性疾患の総称であり、1/5000人の頻度で見られる。1997年にVillefrancheで開催された国際命名会議により、古典型 (Classical type)、関節型 (Hypermobility type)、血管型 (Vascular type)、後側彎型 (Kyphoscoliosis type)、多発関節弛緩型 (Arthrochaliasia type)、皮膚弛緩型 (Dermatosparaxis type) の6つの主要病型およびその他の病型に分類された (Beighton et al., Am J Med Genet 77: 31-37, 1998)。コラーゲン分子そのもの、または、修飾酵素等の遺伝子変異により生じる。その後、新たな病型が、その遺伝学的、生化学的基盤とともに相次いで発見され、それらが必ずしも主要病型よりも低頻度という訳ではないことが明らかになってきた。こうしたことを背景に、新たな命名法および分類基準の確立が希求されてきた。2013年、新たな命名法および診断基準の策定を重要目標として、The International Consortium on EDS and Related Disordersが設立された。研究分担者は、Medical and Scientific Boardの1人として、また、Rare Type Committeeに所属し、CHST14/D4ST1欠損に基づくEDSに関する国際共同研究の責任者を拝命し、活動を行ってきた。本分担研究の目的の1つは、世界中の専門家と共同で新たな命名法および診断基準を確立することである。

また、平成27年度に続き、臨床的にEDSまたは類縁結合組織疾患が疑われる患者に対して次世代シーケンスによる網羅的な遺伝子解析を行い、その臨床的有用性を検討した。

コフィン・サイリス症候群 (Coffin-Siris syndrome ; CSS)

CSSは、発達遅滞、知的障害、顔貌上の特徴(粗な顔貌と称される)、摂食障害、易感染性、第5指・趾の爪および末節骨の低(無)形成を特徴とするまれな先天奇形症候群である。2012年、横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学(松本直通教授、三宅紀子准教授、鶴崎美徳助教)を中心としたALL JAPANの臨床的・基礎的研究により、CSSがBRG1-およびBRM-関連因子(BAF)複合体構成タンパクをコードする遺伝子 *SMARCB1* (22q11.23)、*SMARCA4* (19p13.2)、*SMARCE1* (17q21.2)、*ARID1A* (1p36.11)、*ARID1B* (6p25.3) のヘテロ接合性変異により発症することが明らかになった (Tsurusaki et al., Nat Genet 44: 376-378, 2012)。同時に、*ARID1B*に関しては、オランダのSanten博士を中心とした欧州のチームによっても明らかになった。その後、BAF複合体に関連する *PHF6*、*SOX11* の変異もCSSを引き起こすことが示された (Wieczorek et al., Hum Molec Genet 22: 5121-5135, 2013; Tsurusaki et al., Nat Commun 5: 4011, 2014)。本分担研究者は、これまでに国際共同研究に基づくCSSおよび類縁疾患の最新エビ

デンスをまとめ、American Journal of Medical Genetics Part Cの特集号を出版した。そのなかで、CSS患者における遺伝子型-表現型相関を明らかにした (Kosho et al., Am J Med Genet Part C Semin Med 166C: 241-251, 2014; Kosho et al., Am J Med Genet Part C Semin Med 166C: 262-275, 2014)。平成28年度本分担研究の目的は、遺伝学的に診断されたCSS患者の収集を継続することである。

B. 研究方法

エーラス・ダンロス症候群 (Ehlers-Danlos syndrome ; EDS)

International Consortium on EDS and Related Disorders の web 会議を重ね (Board Member 会議、Rare Type Committee 会議)、また、平成 28 年 5 月 3-6 には New York にて国際会議 2016 International Symposium が開催され、そこに参加し、議論に加わるとともに、Rare Type Committee では担当する病型 (CHST14/D4ST1 欠損型、多発関節弛緩型) の診断基準を含む疾患概要に関する総説のドラフトを執筆した。

信州大学医学部附属病院遺伝子診療部 (平成 28 年 10 月より遺伝子医療研究センター) を中心に、全国の医療機関から、EDS または類縁結合組織疾患が疑われる患者、その臨床データおよび末梢血由来 DNA の収集を継続した。信州大学医学部において構築した次世代シーケンサ (ion PGM) による遺伝子解析を継続した。既知の EDS 病型および類縁の遺伝性結合組織疾患 (マルファン症候群、ロイス・ディーツ症候群、骨形成不全症なども含む) の原因遺伝子を搭載したカスタムパネルを使用している。同診療部研究支援推進員の山口智美氏が解析を担当している。

コフィン・サイリス症候群 (Coffin-Siris syndrome ; CSS)

信州大学医学部附属病院遺伝子診療部 (平成 28 年 10 月より遺伝子医療研究センター)、長野県立こども病院を中心に、臨床的に CSS が疑われる患者の収集を継続した。遺伝学的解析は、横浜市立大学の研究チーム (三宅紀子准教授との共同研究) および信州大学医学部遺伝医学・予防医学教室 (同教室高野亨子助教が独自に開発した、CSS 原因遺伝子を含む知的障害関連遺伝子を搭載したカスタムパネルを用いた次世代シーケンサ ion PGM による遺伝子解析) において行う体制とした。

(倫理面への配慮)

本研究は、遺伝子解析研究の側面と、臨床研究の側面があり、文部科学省・厚生労働省・経済産業省による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関

する倫理指針（平成 25 年 2 月 8 日全部改正）」および文部科学省・厚生労働省による「人を対象とする医学的研究に関する倫理指針（平成 26 年 12 月 22 日）」を遵守する。「次世代シーケンスを用いた先天性結合組織疾患の網羅的遺伝子解析」として、信州大学医学部医倫理委員会の承認を得ている（承認番号 435）。横浜市立大学での遺伝子解析についても、同大学医学部倫理委員会において「遺伝性難治疾患の網羅的エクソーム解析拠点の構築」として承認を得ている。実施にあたっては、患者・家族への遺伝カウンセリングを経て、インフォームド・コンセントを得て行うのを原則とする。

C. 研究結果

エーラス・ダンロス症候群（Ehlers-Danlos syndrome ; EDS)

平成 29 年 3 月に出版された The 2017 International Classification of the Ehlers-Danlos Syndromes の骨子を以下に示す(Malfait, Kosho, et al., Am J Med Genet C Semin Med Genet 175: 8-26, 2017)。

【EDS の臨床的分類】

1. Classical EDS (古典型 EDS)
 2. Classical-like EDS (類古典型 EDS)
 3. Cardiac-valvular EDS (心臓弁型 EDS)
 4. Vascular EDS (血管型 EDS)
 5. Hypermobility EDS (関節可動亢進型)
 6. Arthrochalasia EDS (多発関節弛緩型)
 7. Dermatosparaxis EDS (皮膚脆弱型)
 8. Kyphoscoliosis EDS (後側彎型)
 9. Brittle Cornea Syndrome (脆弱角膜症候群)
 10. Spondylodysplastic EDS (脊椎異形成型 EDS)
 11. Musculocontractural EDS (筋拘縮型)
 12. Myopathic EDS (ミオパチー型)
 13. Periodontal EDS (歯周型 EDS)
- () 内は暫定の日本語訳である。

【各病型の診断基準】

1. Classical EDS (古典型 EDS)
略語：cEDS
遺伝形式：常染色体優性遺伝
責任遺伝子：COL5A1、COL5A2、COL1A1

大基準

皮膚過伸展性および萎縮性癍痕
全身関節過可動

小基準

易出血性
やわらかく、生パンのこね粉のような皮膚 (Soft, doughy skin)
皮膚脆弱性（または外傷による裂傷）
Molluscoid 偽腫瘍
皮下の球状体
ヘルニア（またはその既往）

内眼角贅皮
関節過可動の合併症（捻挫、脱臼/亜脱臼、疼痛、柔軟な扁平足等）
臨床診断基準を満たす 1 度近親の家族歴

cEDS を示唆する最小診断基準

大基準のうち、皮膚過伸展性および萎縮性癍痕
プラス

もう一つの大基準である全身関節過可動
および/または、少なくとも 3 つの小基準

最終診断には分子遺伝学的検査が必須

>90%、COL5A1 または COL5A2

まれに、COL1A1 c.934C>T; p.Arg312Cys

2. Classical-like EDS (類古典型 EDS)

略語：clEDS

遺伝形式：常染色体劣性遺伝

責任遺伝子：TNXB

大基準

ベルベット様の感触を伴うが、萎縮性癍痕を伴わない皮膚過伸展性

反復性脱臼（最も頻度が高いのは肩と足首）を伴うこともあれば、伴わないこともある全身関節過可動

易出血性（easy bruisable skin/spontaneous ecchymoses）

小基準

足の変形：幅広い肉付きのよい足先 (forefoot)、過剰皮膚を伴った単趾症、扁平足、外反母趾、圧迫性丘疹 (piezogenic papules)

心不全を伴わない下肢の浮腫

軽度の遠位および近位筋力低下

軸索型ポリニューロパチー

手足の筋萎縮

早老症様の手、マレット指 (mallet fingers)、屈指症、単指症

膣/子宮/直腸脱

clEDS を示唆する最小限の診断基準

上記 3 つの大基準および常染色体劣性遺伝に矛盾しない家族歴

最終診断には分子遺伝学的検査が必須

両アレル性の TNXB 変異

3. Cardiac-valvular EDS (心臓弁型 EDS)

略語：cvEDS

遺伝形式：常染色体劣性遺伝

責任遺伝子：COL1A2

大基準

重度で進行性の心臓弁に関する問題（大動脈弁、僧帽弁）

皮膚過伸展性、萎縮性癍痕、薄い皮膚、易出血性

関節過可動(全身性、または、小関節に限局)

小基準

鼠径ヘルニア
胸郭変形(特に漏斗胸)
関節脱臼
足変形(扁平足、外反扁平足、外反母趾)

cvEDS を示唆する最小限の診断基準

大基準の 1 (重度で進行性の心臓弁に関する問題)

プラス

常染色体劣性遺伝に矛盾しない家族歴
加えて、他の 1 つの大基準
および/または、少なくとも 2 つの小基準

最終診断には分子遺伝学的検査が必須

両アレル性の COL1A2 変異

4. Vascular EDS (血管型 EDS)

略語: vEDS

遺伝形式: 常染色体優性遺伝

責任遺伝子: COL3A1

大基準

COL3A1 変異が確認された vEDS の家族歴
若年性動脈破裂
憩室やその他の腸管異常がない状態での特発性 S 状結腸破裂
帝王切開歴および/または分娩前後の重度会陰裂傷がない状態での第 3 トリメスターにおける子宮破裂
外傷がない状態での頸動脈-海綿静脈洞瘻

小基準

外傷がない状態での易出血性、および/または、頬や背部といった通常見られない場所の内出血

薄く、静脈が透見される皮膚

顔貌上の特徴

特発性気胸

末端早老症

先天性内反足

先天性股関節脱臼

小関節の過可動

腱および筋の破裂

円錐角膜

歯肉後退および脆弱性

早期発症静脈瘤(女性であれば 30 歳前、出産経験のない状態での発症)

vEDS を示唆する最小限の診断基準

vEDS の家族歴

または

40 歳前の動脈破裂または解離

または

原因不明の S 状結腸破裂

または

特発性気胸

プラス

他の vEDS の特徴

最終診断には分子遺伝学的検査が必須

ヘテロ接合性の COL3A1 変異

稀な例外、COL1A1 における特定部位のアルギニンからシステインへの変異

c.934C>T, p.Arg312Cys

c.1720C>T, p.Arg574Cys

c.3277C>T, p.Arg1093Cys

5. Hypermobility EDS (関節可動亢進型)

略語: hEDS

遺伝形式: 常染色体優性遺伝

責任遺伝子: 不明

臨床診断

基準 (Criterion) 1 および基準 2 および基準 3

基準 1: 全身関節過可動 (Generalized Joint Hypermobility: GJH)

Beighton スコア: 思春期前では 6 以上、思春期男性および 50 までの女性では 5 以上、50 歳以上では 4 以上

基準 2: 以下の症状を 2 つ以上、例えば

A および B

A および C

B および C

A および B および C

症状 A: より全身的な結合組織疾患を示す系統的な症状群(合計 5 項目が必須)

通常ではない柔らかさを持った、または、ベルベット状の皮膚

軽度の皮膚過伸展性

説明のつかない皮膚線条、例えば青春期(思春期~成人期)、男性または思春期前の女性、における背部、鼠径部、大腿部、乳房および/または腹部の広い線条(striae distensae)や赤い線条(rubrae)のようなもの(明らかな体脂肪や体重の増加や減少に関する病歴・自然歴・経過がある)

踵における両側の圧迫性丘疹(piezogenic papules)

反復性または多発性の腹壁ヘルニア(臍、鼠径、すね等)

2 か所以上の萎縮性瘢痕があるが、古典型 EDS に見られるような真に紙のような(papyraceous)、および/または、血鉄素様の瘢痕はない

病的肥満、あるいは、他の背景となる医学的状態の病歴がない状況での、小児、男性、出産経験のない女性における骨盤臓器脱、直腸脱、および/または、子宮脱

歯の叢生、および、高くまたは狭い口蓋
以下の1つ以上の所見で示されるくも状指、
(i) 両側の手首サイン (Steinberg サイン) 陽性、
(ii) 両側の親指サイン (Walker サイン) 陽性
腕の長さ (arm span) /身長比 ≥ 1.05
厳密な心エコー基準に基づく軽度以上の僧帽弁逸脱
Z-スコア $>+2$ の大動脈基部拡張

症状 B: 本診断基準を独立に満たす1人以上の一度近親者の罹患を伴う家族歴

症状 C: 筋骨格系の合併症 (少なくとも1項目が必須)
毎日繰り返され、最低3か月以上持続する、2つ以上の四肢筋骨格系の疼痛
3か月以上持続する慢性で広範囲な疼痛
外傷のない状態での関節脱臼の反復、または、明らかな関節の不安定性 (a または b)
a. 同一関節における3回以上の非外傷性脱臼、または、2つの異なる関節において異なる時に生じた2回以上の非外傷性脱臼
b. 外傷とは無関係な2つ以上の部位における、医学的に確定した関節不安定性

基準3: 全て満たさなければならない前提条件
皮膚脆弱性がないこと、あれば他の病型を考慮

自己免疫性リウマチ疾患を含め、他の遺伝性または後天性結合組織疾患を除外。後天性の結合組織疾患を持つ患者において、hEDSとの追加診断には、基準2における症状Aおよび症状B両方を満たすことが必要であり、症状C (慢性疼痛および/または不安定性) は考慮されない

神経筋疾患 (ミオパチー型EDS、Bethlem ミオパチーなど)、他の遺伝性結合組織疾患 (他のEDS病型、Loeys-Dietz症候群、Marfan症候群など)、骨異形成症 (骨形成不全症など) を含め、筋緊張低下や結合組織弛緩に伴い関節可動亢進を呈する他の診断の除外。これらの除外診断は、病歴、身体所見、および/または、分子遺伝学的検査に基づく。

6. Arthrochalasia EDS (多発関節弛緩型)

略語: aEDS

遺伝形式: 常染色体優性遺伝

責任遺伝子: *COL1A1*、*COL1A2*

大基準

先天性両側股関節脱臼
複数回の脱臼/亜脱臼を伴う重度の全身性関節過可動
皮膚過伸展性

小基準

筋緊張低下
後側彎

X線で診断された軽度骨密度低下
萎縮性癍痕を含む組織脆弱性
皮膚の易出血性

aEDSを示唆する最小限の診断基準

大基準、先天性両側股関節脱臼
プラス
大基準、皮膚過伸展性
または、大基準、全身関節過可動
および、少なくとも2つの小基準

最終診断には分子遺伝学的検査が必須

エクソン6の部分全体または部分的な欠失を来すヘテロ接合性の*COL1A1*、*COL1A2*変異

7. Dermatosparaxis EDS (皮膚脆弱型)

略語: dEDS

遺伝形式: 常染色体劣性遺伝

責任遺伝子: *ADAMTS2*

大基準

先天性または出生後の皮膚裂傷を伴う顕著な皮膚脆弱性
出生時または乳児早期に明らか、または、その後の小児期に生じる顔貌上の特徴
手首や足首には皮膚の折れ込みを生じるような、弛緩した、ほとんどたるんだ皮膚
手掌の皺が増加
重度の易出血性を呈し、皮下血腫・出血の危険がある
臍ヘルニア
出生後の成長障害
短い四肢、手足
結合組織脆弱性による出生前後の合併症

小基準

やわらかく、生パンのこね粉のような皮膚
皮膚の過伸展性
萎縮性癍痕
全身性関節過可動
臓器脆弱性に関連した合併症 (膀胱破裂、横隔膜破裂、直腸脱)
運動発達遅滞
骨量減少
多毛
歯の異常
屈折異常 (近視、乱視)
斜視

dEDSを示唆する最小限の診断基準

大基準、顕著な皮膚脆弱性
および、大基準、顔貌上の特徴
プラス
他の1つの大基準
および/または、3つの小基準

最終診断には遺伝学的検査が必須

両アレル性の*ADAMTS2*変異

8. Kyphoscoliosis EDS (後側彎型)

略語: kEDS

遺伝形式: 常染色体劣性遺伝

責任遺伝子: *PLOD1*、*FKBP14*

大基準

先天性筋緊張低下

先天性または早期発症後側彎(進行性または非進行性)

脱臼/亜脱臼を伴う全身性関節過可動(特に肩、股、膝)

小基準

皮膚過伸展性

皮膚易出血性

中等サイズの動脈破裂/瘤

骨量減少/骨粗鬆症

青色強膜

ヘルニア(臍、鼠径)

胸郭変形

マルファン症候群様体型

先天性内反足

屈折異常(近視、遠視)

責任遺伝子特異的な小基準

PLOD1

皮膚脆弱性(内出血しやすい、裂けやすい、創傷治癒不良、広い萎縮性瘢痕)

強膜および眼球脆弱性、破裂

小角膜

顔貌上の特徴

FKBP14

先天性聴力障害(感音性、伝音性、混合性)

毛包性角化症(follicular hyperkeratosis)

筋萎縮

膀胱憩室

kEDS を示唆する最小限の診断基準

大基準、先天性筋緊張低下

および、大基準、先天性または早期発症後側彎

プラス

大基準、全身性関節過可動

および/または、3つの小基準(遺伝子特異的でない項目、または、特異的な項目)

最終診断には遺伝学的検査が必須

大多数、両アレル性の *PLOD1* 変異

一部、両アレル性の *FKBP14* 変異

9. Brittle Cornea Syndrome (脆弱角膜症候群)

略語: BCS

遺伝形式: 常染色体劣性遺伝

責任遺伝子: *ZNF469*、*PRDM5*

大基準

薄い角膜、破裂することも、しないこともある

早期発症進行性円錐角膜

早期発症進行性球状角膜

青色強膜

小基準

破裂の既往としての角膜摘出、または、角膜瘢痕

角膜間質の進行性欠損、特に角膜中心部

強度近視、眼軸長は正常または中等度増加

網膜剥離

聾、しばしば混合性、進行性、しばしば高音部の方が低下(純音聴力検査)

張力に乏しい鼓膜(hypercompliant tympanic membrane)

股関節の異形成

乳児期の筋緊張低下、ある場合も軽度

側彎

細長い手指

遠位関節の過可動

扁平足、外反母趾

手指の軽度拘縮(特に第5指)

柔らかく、ベルベット状の皮膚、(薄く)透ける皮膚

BCS を示唆する最小限の診断基準

大基準、薄い角膜、破裂することも、しないこともある

プラス

少なくとも他の1つの大基準

および/または、他の小基準

最終診断には遺伝学的検査が必須

両アレル性 *ZNF469* 変異

両アレル性 *PRDM5* 変異

10. Spondylodysplastic EDS (脊椎異形成型 EDS)

略語: spEDS

遺伝形式: 常染色体劣性遺伝

責任遺伝子: *B4GALT7*、*B3GALT6*、*SLC39A13*

大基準

低身長(小児期に顕著)

筋緊張低下(先天性重症から晩期発症軽症まで)

四肢彎曲

小基準

皮膚過伸展性、やわらかく、生パンのこね粉のような皮膚、薄く透けた皮膚

扁平足

運動発達遅滞

骨量低下

認知発達遅滞

責任遺伝子特異的な小基準

B4GALT7

橈尺骨癒合

両側肘関節拘縮または肘関節可動域制限

全身性関節過可動
手掌の単一屈曲線
顔貌上の特徴
重度の遠視
角膜混濁

B3GALT6

後側彎（先天性または早期発症、進行性）
関節過可動、全身性または遠位関節に限局、
脱臼を伴う
関節拘縮（先天性または進行性）（特に手）
手指の特徴（細長い、先細り、へら状、幅広い末節を伴う）
先天性内反足
顔貌上の特徴
歯の脱臼、異形成
特徴的 X 線所見
特発性の多発骨折を伴う骨粗鬆症
上行大動脈瘤
肺低形成、拘束性肺疾患

SLC39A13

青色強膜を伴い突出した眼
細かい手掌の皺
母指球筋萎縮、先細りの手指
遠位関節の過可動
特徴的 X 線所見

spEDS を示唆する最小限の診断基準

大基準、低身長
および、大基準、筋緊張低下
プラス

特徴的 X 線所見および他の少なくとも 3 つの
小基準（責任遺伝子非特異的または特異的）

最終診断には遺伝学的検査が必須

両アレル性 *B4GALT7* 変異
両アレル性 *B3GALT6* 変異
両アレル性 *SLC39A13* 変異

11. Musculocontractural EDS（筋拘縮型）

略語：mcEDS

遺伝形式：常染色体劣性遺伝
責任遺伝子：*CHST14*、*DSE*

大基準

先天性多発関節拘縮、特に母指の内転・屈曲
拘縮および/または内反足
頭蓋顔面の特徴、出生時または乳児早期に明
らか

特徴的皮膚所見、過伸展性、易出血性、萎縮
性癬痕を伴う脆弱性、手掌の過剰な皺

小基準

反復性/慢性脱臼
胸郭変形（平坦、漏斗胸）
脊椎変形（側彎、後側彎）
独特な手指の形態（先細り、細長い、円筒状）
進行性足変形（外反足、扁平足、凹足）

巨大皮下血腫
慢性便秘
結腸憩室
気胸/血気胸
腎結石/膀胱結石
水腎症
男児の停留精巣
斜視
屈折異常（近視、乱視）
緑内障/眼圧上昇

mcEDS を示唆する最小限の診断基準

出生時または乳児早期

大基準、先天性多発関節拘縮
プラス
大基準、頭蓋顔面の特徴

思春期から成人期

大基準、先天性多発関節拘縮
プラス
大基準、特徴的皮膚所見

最終診断には遺伝学的検査が必須である。

両アレル性の *CHST14* 変異
両アレル性の *DSE* 変異

12. Myopathic EDS（ミオパチー型）

略語：mEDS

遺伝形式：常染色体優性または劣性遺伝
責任遺伝子：*COL12A1*

大基準

先天性筋緊張低下、および/または、筋萎縮、
年齢に伴い改善
近位関節拘縮（膝、股、肘）
遠位関節過可動

小基準

やわらかく、生パンのこね粉のような皮膚
萎縮性癬痕
運動発達遅滞
筋生検でミオパチー所見

mEDS を示唆する最小限の診断基準

大基準、年齢とともに改善する先天性筋緊張
低下
プラス

他の 1 つの大基準
および/または、3 つの小基準

最終診断には遺伝学的検査が必須である。

ヘテロ接合性または両アレル性の *COL12A1*
変異

13. Periodontal EDS（歯周型 EDS）

略語：pEDS

遺伝形式：常染色体優性遺伝
責任遺伝子：*C1R*、*C1S*

大基準

早期発症（小児期または思春期）の重度かつ難治性の歯周炎
歯肉欠損（lack of attached gingiva）
脛骨前面斑（pretibial plaques）
家族歴、1度近親者の罹患（臨床的診断基準を満たす）

小基準

易出血性
関節過可動、ほとんどが遠位関節
皮膚過伸展性および脆弱性、異常な瘢痕形成（広く、萎縮性）
感染の頻度増加
ヘルニア
マルファン症候群様体型
末端早老症
血管が目立つ（prominent vasculature）

pEDSを示唆する最小限の診断基準

大基準、早期発症（小児期または思春期）の重度かつ難治性の歯周炎
または
大基準、歯肉欠損（lack of attached gingiva）
プラス
少なくとも他の2つの大基準と1つの小基準

最終診断には遺伝学的検査が必須である。

ヘテロ接合性の *C1R* 変異
ヘテロ接合性の *C1S* 変異

平成28年度、遺伝性結合組織疾患42症例の遺伝子解析を終了しており、臨床的に古典型がうたがわれる9症例のなかで、7症例において病的変異が検出された（78%、*COL5A1*が3人、*COL5A2*が4人）。臨床的に血管型が疑われる17症例のなかで、9症例において病的変異が検出された（53%、*COL3A1*が9人）。また、臨床的にDDEDSが疑われる3症例のうち、1症例において*CHST14*変異が検出された。さらに、*B3GALT6*変異に基づく脊椎異形成型EDSを1例見出した。

これまでに、遺伝性結合組織疾患150症例の遺伝子解析を終了しており、臨床的に古典型がうたがわれる34症例のなかで、21症例において病的変異が検出された（62%、*COL5A1*が10人、*COL5A2*が9人、*COL1A1*が1人、*TNXB*が1人）。臨床的に血管型が疑われる62症例のなかで、22症例において病的変異が検出された（35%、*COL3A1*が20人、*COL5A1*が2人）。また、臨床的にDDEDSが疑われる7症例のなかで、4症例において*CHST14*の病的変異が検出された。さらに、*B3GALT6*変異に基づく脊椎異形成型EDSを1例見出した。

コフィン・サイリス症候群（Coffin-Siris syndrome ; CSS）

信州大学医学部遺伝医学・予防医学教室における、知的障害関連遺伝子搭載パネル解析により、*ARID1B*のスプライス変異を有する症例を見出した。

D. 考察

エーラス・ダンロス症候群（Ehlers-Danlos syndrome ; EDS）

本研究分担者は、世界中の多職種・多分野のEDS専門家が集結したInternational Consortium on EDS and Related Disordersに参画し、The 2017 International Classification of the Ehlers-Danlos Syndromesの確立に関わることができた。今回の20年ぶりの命名法・分類では、新規に発見された病型がVilfrancheの命名法・病型分類における主要病型と並列して記載されるようになった。本研究分担者が発見したmcEDS（EDS, Kosho Type）もその一つとして認知されるに至った。また、Hypermobile Typeの定義がより厳密になり、他覚的な関節所見の必要性、多系統疾患であること、他の遺伝性結合組織疾患、後天性結合組織疾患が否定されていること、といった慎重な表現になっている。また、これまで一部の患者において*TNXB*変異を有するとしていたが、今回の命名法・分類では全症例において「原因不明」であるとした。なお、日本語訳を「関節型」から、より正確に「関節可動亢進型」に変更する方向である）

遺伝性結合組織疾患の網羅的遺伝子解析は順調に運用されており、現在世界の拠点施設の1つになったといえる。近い将来クリニカルシーケンスとして診療にいかす方向で準備をしている。

コフィン・サイリス症候群（Coffin-Siris syndrome ; CSS）

CSSの責任遺伝子を含めた知的障害関連遺伝子搭載パネル解析は、CSS患者を見出す有用なリクルート方策である。平成28年度に新たに見出した*ARID1B*変異を有する症例は、肝腫大で発症し、ムコ多糖症等の代謝異常症との鑑別を要した。過去に同様に肝腫大を重要な症状として1症例が報告されており、CSSにおける小児早期の診断的価値のある所見である可能性が示唆された。

E. 結論

エーラス・ダンロス症候群（Ehlers-Danlos syndrome ; EDS）

本研究分担者は、International Consortium on EDS and Related Disordersの一員として、The

2017 International Classification of the Ehlers-Danlos Syndromes の確立に関わった。また、遺伝性結合組織疾患の網羅的遺伝子解析における世界的拠点を構築した。

コフィン・サイリス症候群 (Coffin-Siris syndrome ; CSS)

CSS の責任遺伝子を含めた知的障害関連遺伝子搭載パネル解析は、CSS 患者を見出す有用なリクルート方策であり、新たに 1 症例を見出した。

F. 研究発表

1. 論文発表

<原著論文>

- 1) Mochida K, Amano M (corresponding author), Miyake N, Matsumoto N, Hatamochi A, **Kosho T**. Dermatan 4-O-sulfotransferase 1-deficient Ehlers-Danlos syndrome complicated by a large subcutaneous hematoma on the back. *J Dermatol*. 2016, 43, 832-3.
- 2) Kono M (corresponding author), Hasegawa-Murakami Y, Sugiura K, Ono M, Toriyama K, Miyake N, Hatamochi A, Kamei Y, **Kosho T**, Akiyama M. A 45-year-old Woman with Ehlers-Danlos Syndrome Caused by Dermatan 4-O-sulfotransferase-1 Deficiency: Implications for Early Ageing. *Acta Derm Venereol*. 2016 Aug 23;96(6):830-1.
- 3) **Kosho T**, Carey JC. Does medical intervention affect outcome in infants with trisomy 18 or trisomy 13? *Am J Med Genet A*. 2016 Apr;170(4):847-9.
- 4) Miyake T, Kiniwa Y, **Kosho T**, Nakano H, Okuyama R. Hypohidrotic ectodermal dysplasia: A report of two cases. *J Dermatol*. 2017 Apr;44(4):479-481.
- 5) Nishi E, Masuda K, Arakawa M, Kawame H, **Kosho T**, Kitahara M, Kubota N, Hidaka E, Katoh Y, Shirahige K, Izumi K. Exome sequencing-based identification of mutations in non-syndromic genes among individuals with apparently syndromic features. *Am J Med Genet A*. 2016 Nov;170(11):2889-2894.
- 6) Carey JC, **Kosho T**. Perspectives on the care and advances in the management of children with trisomy 13 and 18. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2016 Sep;172(3):249-50.
- 7) Akazawa Y, Motoki N, Tada A, Yamazaki S, Hachiya A, Matsuzaki S, Kamiya M, Nakamura T, **Kosho T**, Inaba Y. Decreased Aortic Elasticity in Children With Marfan Syndrome or Loeys-Dietz Syndrome. *Circ J*. 2016 Oct 25;80(11):2369-2375.
- 8) Takahashi J, Hirabayashi H, Hashidate H, Ogihara N, Mukaiyama K, Komatsu M, Inaba Y, **Kosho T**, Kato H. Challenges of Transarticular Screw Fixation in Young Children: Report of Surgical Treatment of a 5-Year-Old Patient's Unstable Os-Odontoideum. *Asian Spine J*. 2016 Oct;10(5):950-954.
- 9) Ideta H, Uchiyama S, Hayashi M, **Kosho T**, Nakamura Y, Kato H. Painful locking of the wrist in a patient with pseudoachondroplasia confirmed by COMP mutation. *J Surg Case Rep*. 2017 Jan 2;2017(1). pii: rjw216.
- 10) Mizumoto S, **Kosho T**, Hatamochi A, Honda T, Yamaguchi T, Okamoto N, Miyake N, Yamada S, Sugahara K. Defect in dermatan sulfate in urine of patients with Ehlers-Danlos syndrome caused by a CHST14/D4ST1 deficiency. *Clin Biochem*. 2017 Feb 24. pii: S0009-9120(16)30553-7. [Epub ahead of print]
- 11) Malfait F, Francomano C, Byers P, Belmont J, Berglund B, Black J, Bloom L, Bowen JM, Brady AF, Burrows NP, Castori M, Cohen H, Colombi M, Demirdas S, De Backer J, De Paepe A, Fournel-Gigleux S, Frank M, Ghali N, Giunta C, Grahame R, Hakim A, Jeunemaitre X, Johnson D, Juul-Kristensen B, Kapferer-Seebacher I, Kazkaz H, **Kosho T**, Lavalley ME, Levy H, Mendoza-Londono R, Pepin M, Pope FM, Reinstein E, Robert L, Rohrbach M, Sanders L, Sobey GJ, Van Damme T, Vandersteen A, van Mourik C, Voermans N, Wheelton N, Zschocke J, Tinkle B. The 2017 international classification of the Ehlers-Danlos syndromes. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2017 Mar;175(1):8-26.
- 12) Brady AF, Demirdas S, Fournel-Gigleux S, Ghali N, Giunta C, Kapferer-Seebacher I, **Kosho T**, Mendoza-Londono R, Pope MF, Rohrbach M, Van Damme T, Vandersteen A, van Mourik C, Voermans N, Zschocke J, Malfait F. The Ehlers-Danlos syndromes, rare types. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2017 Mar;175(1):70-115.
- 13) Oba H, Takahashi J, Takano K, Inaba Y, Motobayashi M, Nishimura G, Kuraishi S, Shimizu M, Ikegami S, Futatsugi T, Uehara M, **Kosho T**, Kato H, Uno K. Rigid Occipitocervical Instrumented Fusion for Atlantoaxial Instability in an 18-month-old Toddler with Brachytelephalangic Chondrodysplasia Punctata: A Case Report. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2017 [Epub ahead of print].
- 14) Mizumoto S, **Kosho T**, Yamada S, Sugahara K. Pathophysiological Significance of Dermatan Sulfate Proteoglycans Revealed by Human Genetic Disorders. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2017 Mar 27;10(2). pii: E34.
- 15) 古庄知己：出生前診断、信州の進むべき道は？～新型出生前診断時代を迎えて～. 特集「生命倫理」, 長野医報, 2016, 634, 21-8.
- 16) 古庄知己：信大病院の窓：遺伝子診療部の取り組み. 長野医報, 2016, 650, 24-7.

- 17) **古庄知己**：染色体異常，先天奇形症候群。ガイドラインと最新文献による小児科学レビュー2016-17。五十嵐隆監修，三浦大，島袋林秀編集，pp51-61，総合医学社，東京，2016(5/8)。
- 18) **古庄知己**：出生前診断への対応。新生児のプライマリケア。日本小児科学会新生児委員会編，pp24-28，診断と治療社，東京，2016(5/20)。
- 19) **古庄知己**：エーラスダンロス症候群の特徴と治療の現状。指定難病最前線 Volume 26。新薬と臨牀 65 (11)：124-130，2016 (11/10)。
- 20) **古庄知己**：Ehlers-Danlos 症候群 Kosho type。日本人が貢献した先天異常症候群。小児科診療，2016，79，1761-9。
- 21) **古庄知己**：性染色体異常症。周産期医学必修知識第 8 版。『周産期医学』編集委員会企画，板橋家頭夫，楠田聡，関沢明彦，細野茂春，松田義雄，箕浦茂樹，山本樹生，与田仁志責任編集，pp542-544，東京医学社，東京，2016 (12/1)。
- 22) **古庄知己**：常染色体異常症。周産期医学必修知識第 8 版。『周産期医学』編集委員会企画，板橋家頭夫，楠田聡，関沢明彦，細野茂春，松田義雄，箕浦茂樹，山本樹生，与田仁志責任編集，pp545-549，東京医学社，東京，2016 (12/1)。
- 23) **古庄知己**：5p-症候群。別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.37 精神医学症候群第 2 版 I 発達障害・統合失調症・双極性障害・抑うつ障害，pp143-146，日本臨牀社，東京，2017 (3/20)。
- 24) **古庄知己**：第 12 章 遺伝性疾患の分子生物学的、生化学的、細胞学的基礎。トンプソン&トンプソン遺伝医学第 2 版。福嶋義光監訳，pp249-296，メディカル・サイエンス・インターナショナル編集・販売，エルセビア・ジャパン発行，東京，2017 (3/30)。
- 25) **古庄知己**：症例 39 網膜芽細胞腫。トンプソン&トンプソン遺伝医学第 2 版。福嶋義光監訳，pp530-531，メディカル・サイエンス・インターナショナル編集・販売，エルセビア・ジャパン発行，東京，2017 (3/30)。
2. 学会発表
<招待講演>
- 1) **Tomoki Kosho**: “From dysmorphology to human biology: a lesson from the discovery of Ehlers-Danlos syndrome caused by CHST14/D4ST1 deficiency” Concurrent Invited Session, “Clinical Genetics and Dysmorphology” The 13th International Congress of Human Genetics (April 3-7, 2016 Kyoto International Conference Center).
- 2) **Tomoki Kosho**: “Diagnosis and management of EDS musculocontractural type (EDS caused by CHST14/D4ST1 or DSE deficiency)” EDS International Symposium 2016 (2016/5/3-6 TKP New York Conference Center)。
- 3) **古庄知己**：「検体提出から診断・治療、そして遺伝カウンセリング」進行性筋疾患セミナー in 信州 2016 (2016/5/26 於 ホテルブエナビスタ)
- 4) **古庄知己**：「ゲノム医療実現推進における遺伝子診療部の役割」平成 28 年度信州大学医学部および医学系研究科合同授業・市民公開授業「ゲノム医療実現推進に必要な組織と人材育成」(2016/7/2 於 信州大学松本キャンパス旭総合研究棟)
- 5) **古庄知己**：「次世代シーケンサー時代の難聴の遺伝カウンセリング」第 8 回難聴遺伝子の研究会 (2016/7/8)
- 6) **古庄知己**：「出生前診断：臨床遺伝専門医の立場から」第 10 回信州医療ワールド夏期セミナー (2016/8/18 於 信州大学医学部附属病院)
- 7) **古庄知己**：「遺伝性結合組織疾患の臨床シーケンス」第 63 回日本臨床検査医学会学術集会 (2016/9/4 於 神戸国際会議場)
- 8) **古庄知己**：「家族性高コレステロール血症と遺伝カウンセリング」第 12 回長野県稀少難病治療研究会 (2016/9/9 於 ホテルブエナビスタ)
- 9) **古庄知己**：「遺伝性・先天性疾患とリハビリテーション：障がいを持つ子どもたちが安心して暮らせる社会をめざして！」第 12 回小児リハビリテーション研修会 (2016/9/17 於 信州大学地域保健推進センター)
- 10) **古庄知己**：「長野県の取り組み」乳がん市民公開講座『リスクの高い人・低い人、どこで相談できるの?』(2016/10/29 於 長野市東部文化ホール)
- 11) **古庄知己**：「HBOC の遺伝カウンセリング」遺伝性乳癌卵巣癌 (HBOC) 最前線：分子診断に基づく治療と血縁者へのアプローチ (2016/10/29 於 長野市東部文化ホール)
- 12) **古庄知己**：「小児の遺伝性・先天性疾患～診断、治療、家族支援」日本小児歯科学会中部地方会大会 (2016/10/30 於 松本歯科大学図書館)
- 13) **古庄知己**：「CHST14/D4ST1 欠損に基づくエーラスダンロス症候群 (古庄型) の発見と疾患概念の確立、それから・・・」第 39 回日本小児遺伝学会学術集会 (2016/12/9 於 慶應義塾大学三田キャンパス)
- 14) **古庄知己**：「包括的遺伝医療の実際」文部科学省・課題解決型高度医療人材養成プログラム

ラム：北陸認知症プロフェッショナル医養成プラン（認プロ）・難病克服！次世代スーパードクターの育成（NGSD）合同シンポジウム（2016/12/18 於 ANA クラウンプラザ金沢）

15) **古庄知己**：「CHST14/D4ST1 欠損に基づくエーラスダンロス症候群（古庄型）の発見と疾患概念の確立、それから・・・」第26回プロテオグラフィカン（PG）フォーラム（2017/2/4 於 東京医科歯科大学）

16) **古庄知己**：「臨床遺伝って面白い！一人一人を大切に作る学問の世界へようこそ」第91回日本小児科学会高知地方会（2017/2/26 於 高知医療センター）

<一般演題>

17) **Tomoki Kosho**, Nana Tsumita, Chiaki Masuda, Takahiro Yoshizawa, Fengming Yue, Yuko Kasahara, Shuji Mizumoto, Takuya Hirose, Masashi Uehara, Noriko Miyake, Ken-ichi Matsumoto, Yuki Takahashi, Tomomi Yamaguchi, Masumi Ishikawa, Jun Takahashi, Shuhei Yamada, Kazushige Takehana, Jun Nakayama, Takumi Era, Yoshitsugu Aoki, Yoshihiro Nomura, Naomichi Matsumoto, Yoshimitsu Fukushima, Atsushi Watanabe, Atsushi Hatamochi, Kazuyuki Sugahara, Kiyoshi Matsumoto, Katsunori Sasaki, Shin-ichi Takeda, Takashi Okada: Pathophysiological investigation of Ehlers-Danlos syndrome caused by CHST14/D4ST1 deficiency using iPS cells and knockout mice. 口演. The 13th International Congress of Human Genetics, Kyoto International Conference Center, 2016/4/3-7.

18) **古庄知己**, **森崎裕子**, 三宅紀子, 福嶋義光：D4ST1 欠損に基づくエーラスダンロス症候群（DDEDS）の国際共同自然歴調査. 口演. 第119回日本小児科学会学術集会, ロイトン札幌／さっぽろ芸術文化の館, 2016/4/13-15.

19) **Tomoki Kosho**, Delfien Syx, Tim Van Damme Hiroko Morisaki, Hiroshi Kawame, Tohru Sonoda, Yvonne Hilhorst-Hofstee, Alessandra Maugeri, Jean Pierre Fryns, Nicol C. Voermans, Roberto Mendoza-Londono, Klaas J. Wierenga, Parul Jayakar, Ken Ishikawa, Tomoko Kobayashi, **Yoko Aoki**, Sohei Watanabe, Toshihiro Ohura, Michihiro Kono, Kosuke Mochida, Kiyoshi Kikkawa, Chiho Tokoroya, Takayuki Morisaki, Cecilia Giunta, Andreas R. Janecke, Noriko Miyake, Fransiska Malfait: Natural history of Ehlers-Danlos Syndrome (EDS) caused by CHST14/D4ST1 deficiency: from an international collaborative clinical study by the International Consortium for EDS. 口演. European Society of Human Genetics

2016, Barcelona Convention Center, 2016/5/21-24.

20) **古庄知己**, 高野亨子, 福嶋義光：遺伝性結合組織疾患の包括的遺伝子解析をめざして：次世代シーケンスを活用した自施設でのパネル解析と IRUD への参加. 口演. 第8回日本小児科学会長野地方会, 上田市文化会館ホール／中央公民館, 2016/6/26.

21) **Tomoki Kosho**, Fengming Yue, Takumi Era, Jun Nakayama, Tomomi Yamaguchi, Noriko Miyake, Shuji Mizumoto, Shuhei Yamada, Rie Kawamura, Keiko Wakui, Takahiro Yoshizawa, Yuki Takahashi, Kiyoshi Matsumoto, Takuya Hirose, Jun Minaguchi, Kazushige Takehana, Masashi Uehara, Jun Takahashi, Masumi Ishikawa, Chiaki Masuda, Sonoko Shimazu, Yuko Nitahara-Kasahara, Atsushi Watanabe, Takashi Okada, Ken-ichi Matsumoto, Yoshihiro Nomura, Yoshimitsu Kakuta, Atsushi Hatamochi, Yoshimitsu Fukushima, Katsunori Sasaki: iPS cells-based pathophysiological investigation for large subcutaneous hematomas in Ehlers-Danlos syndrome caused by CHST14/D4ST1 deficiency. 口演. American Society of Human Genetics 65th Annual Meeting, Vancouver Convention Center, 2016/10/18-22.

22) **古庄知己**, 岳鳳鳴, 江良沢実, 簗持淳, 河村理恵, 涌井敬子, 福嶋義光, 佐々木克典：デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素 1（D4ST1）欠損に基づく Ehlers-Danlos 症候群（DDEDS）における巨大皮下血腫の病態解明：iPS 細胞を用いた検討. 口演. 第39回日本小児遺伝学会学術集会, 2016/12/9-10, 慶應義塾大学三田北館ホール・会議室.

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
国立大学法人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。そして、平成26年度は、Kagami-Ogata症候群（第14染色体父性ダイソミー関連疾患）、平成27年度にはシルバーラッセル症候群の分子遺伝学的診断法や臨床診断ガイドラインを提唱した。

本年度は、Temple症候群（第14染色体父性ダイソミー関連疾患）の分子遺伝学的診断法や臨床診断ガイドラインについて、本邦における32例の詳細な解析に基づいて以下のように提言した。(1) Temple症候群は、Prader-Willi症候群様の重度筋緊張低下とSilver-Russell症候群表現型の両者を呈する乳児、生下時から継続する成長障害と思春期早発を呈する患者、欠失型Kagami-Ogata症候群患者家系において考慮されるべきである。(2) Temple症候群の診断は、IG-DMR/MEG3-DMRの低メチル化により確定されるが、DLK1欠失・変異患者も存在しうる可能性がある。これらの成果は、本疾患の診療指針作成に大きく貢献すると期待される。

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Kagami-Ogata症候群（第14染色体父性ダイソミー関連疾患）、Temple症候群（第14染色体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、Temple症候群（第14染色体母性ダイソミー関連疾患）について、本邦における32例の詳細な解析を行い、分子遺伝学的診断法や臨床診断ガイドラインについて提言した。

B. 研究方法

計356例のPrader-Willi症候群様重度筋緊張低下ならびに・あるいはSilver-Russell症候群表現型、生下時から継続する成長障害のみを呈する患者から新規患者を同定し、既に我々が同定していたTemple症候群患者13例と共に、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。

(倫理面への配慮)

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。

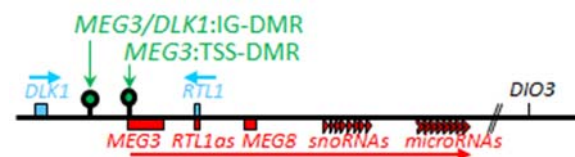
- 成長障害における遺伝的原因の探索

- 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

C. 研究結果

新規Temple症候群患者19例の同定：第14染色体インプリンティング領域に存在するIG-DMR/MEG3-DMRのメチル化状態を起点として、遺伝子診断を行った（図1）。

図1. 第14染色体インプリンティング領域に存在するメチル化可変領域(DMR) (緑)、父性発現遺伝子 (青)、母性発現遺伝子 (赤)。



その結果、図2に示すように19例の新規患者を同定した。

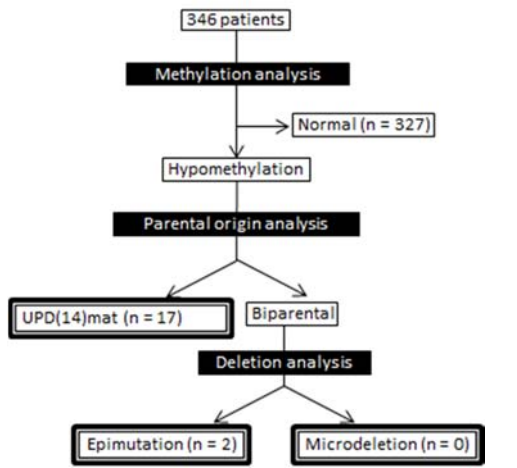


図2. 新規Temple症候群患者の同定

計32例のTemple症候群患者の発症原因：既に我々が同定していたTemple症候群患者13例と共に、計32例のTemple症候群患者の発症原因は表1のように決定された。

表1. Temple症候群患者の発症原因

Group	Subgroup	Number
UPD(14)mat	TR/GC type	16
	MR/PE type	4
	PE type	3
Epimutations		6
Deletions	<i>DLK1</i>	2
	<i>DLK1</i> & <i>RTL1</i>	1

また各発症原因別の遺伝子発現パターンは図3のように想定される。

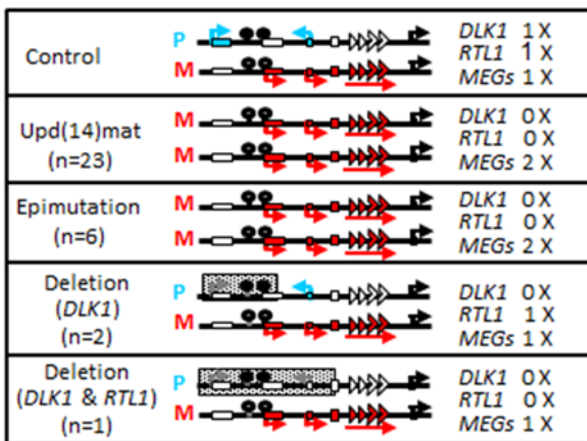


図3. 各発症原因別の遺伝子発現パターン

臨床像の解析：各発症原因別の詳細な臨床症状は、表2のとおりである。各グループにおいて、臨床像は同等であった。

Table 1. Clinical manifestations in 32 patients with Temple syndrome.

	UPD(14)mat	Epimutation	Deletion	Total
Fetuses				
Sex (male: female)	14/9 (n=23)	3/3 (n=6)	1/2 (n=3)	18/13 (n=32)
Age at the last examination (y)	1.3 (0.7-20.3)	10.3 (3.2-13.0)	49 (38-62)	93 (0.7-62)
-Pregnancy and delivery-				
Gestational age (w)	38 (30-40) (n=23)	39.5 (37-41) (n=6)	39.5 (39-40) (n=2)	39 (30-41) (n=31)
Premature delivery (≤ 36 w)	6/23	0/6	0/2	6/31 (19%)
Delivery (cesarean: vaginal)	13/10	3/3	0/2	16/15
Fetal weight (g %)	74 (56-120) (n=7)	5/7	5/7	74 (56-120) (n=7)
Hypoplastic placenta ($\leq 80\%$)	5/7	1/6	0/2	5/7 (71%)
Medically assisted reproduction	1/21 (ICSI-PET)	1/6 (IVF-ET)	0/3	1/30 (3%)
Paternal age at childbirth (y)	33 (27-41) (n=21)	31.5 (28-38) (n=6)	32 (31-33) (n=2)	33 (27-41) (n=29)
Maternal age at childbirth (y)	34 (23-42) (n=23)	27.5 (22-36) (n=6)	32.5 (29-36) (n=2)	30 (22-42) (n=31)
-Craniofacial appearance-				
Relative macrocephaly at birth*	12/21	2/6	0/2	14/27 (67%)
Relative macrocephaly at present*	4/9	0/3	1/1	5/13 (38%)
Prominent forehead (1-3 y)	13/22	5/6	1/2	19/30 (63%)
Triangular face	4/20	3/6	0/2	7/28 (25%)
Ear anomalies	3/20	0/6	0/2	3/28 (11%)
Recurrent otitis media	4/23	3/6	2/2	9/31 (29%)
High arched palate	12/20	2/6	0/1	14/27 (52%)
Irregular teeth	6/17	4/6	1/2	11/25 (44%)
PWS-like appearance†	5/23	0/6	0/2	5/31 (16%)
-Growth and maturation-				
Perinatal growth failure‡	21/23	3/6	2/2	26/31 (84%)
Birth length SDS	-2.2 (-4.0-+1.4) (n=22)	-1.5 (-3.9-+0.8) (n=6)	-2.4 (n=1)	-2.1 (-4.1-+1.4) (n=29)
Birth weight SDS	-2.8 (-4.5-+1.3) (n=22)	-2.0 (-4.6-+0.2) (n=6)	-2.4 (-2.3-+2.2) (n=2)	-2.7 (-4.6-+1.3) (n=31)
Birth OFC SDS	-1.4 (-3.9-+1.4) (n=21)	-0.4 (-2.0-+0.6) (n=6)	0/2	-1.2 (-3.9-+1.1) (n=27)
Post-natal growth failure‡	21/23	6/6	3/3	30/32 (94%)
Post-natal length SDS§	-2.4 (-4.4-+2.2) (n=23)	-1.1 (-3.1-+0.8) (n=6)	-2.9 (-4.4-+2.2) (n=3)	-2.3 (-4.8-+2.2) (n=32)
Post-natal weight SDS§	-1.9 (-5.7-+1.3) (n=23)	-1.2 (-1.7-+0.4) (n=6)	-1.3 (-1.9-+0.1) (n=3)	-1.5 (-5.1-+1.4) (n=32)
Post-natal OFC SDS§	-2.2 (-4.9-+0.7) (n=9)	-0.9 (-1.5-+0.7) (n=3)	-2.9 (n=1)	-1.8 (-4.9-+0.7) (n=13)
GH secretion (normal: low)	6/2	5/0	0/0	11/2
GH treatment (SGA:SS:GHD)	4/2	2/0	0/0	6/2
Precocious puberty	8/10	4/5	1/2	13/17 (76%)
Treatment for precocious puberty	7/10	3/5	0/2	10/18 (56%)
Menarche (y)	11.8 (8.4-13.8) (n=2)	8.5 (n=3)	11.2 (10.3-12.1) (n=2)	10.5 (8.5-13.8) (n=5)
-Developmental status-				
Age at least control (m)	6.5 (3-10) (n=21)	6 (3-8) (n=4)	0/0	6.5 (3-10) (n=25)
Age at sitting without support (m)	10 (7-12) (n=21)	9 (5-11) (n=4)	0/0	10 (6-12) (n=25)
Age at walking without support (m)	18.5 (14-36) (n=14)	19 (15-24) (n=5)	0/0	19 (14-36) (n=19)
IQ DQ	90 (53-114) (n=11)	106 (n=1)	0/0	90 (53-114) (n=12)
Intellectual disability (IQ DQ ≤ 70)	3/10	0/5	0/3	3/18 (17%)
Special class for delayed children	3/10	0/5	0/3	3/18 (17%)
Neurological and/or emotional problems	4/23	1/6	0/3	5/32 (16%)
-Other findings-				
Hypotonia (with poor neck)	16/23	4/6	1/2	21/31 (68%)
Small hands and/or feet	20/23	6/6	3/3	29/32 (91%)
Clinodactyly	8/20	3/6	0/2	11/28 (39%)
Simian crease	4/18	0/6	0/2	4/26 (15%)
Joint hypermobility	7/23	3/6	0/2	10/30 (33%)
Body asymmetry	4/23	3/6	0/2	7/30 (23%)
Scoliois	6/23	0/6	0/3	6/32 (19%)
Feeding difficulties and/or low BMI	15/22	3/6	1/2	19/30 (63%)
Undernourished protein	5/14 (MP, COO, HS)†	0/3	0/1	5/17 (29%)
Hypercholesterolemia	2/18	3/6	1/2	6/26 (23%)
Diabetes mellitus (type 2)	1/19	1/6	1/2	3/27 (11%)
-Assessed clinical diagnosis in infancy-				
PWS-like & SRS-compatible	12/22	2/6	1/2	15/30 (50%)
PWS-like only	4/22	2/6	0/2	6/30 (20%)
SRS-compatible only	3/22	2/6	1/2	6/30 (20%)
SGA-SS (rather PWS nor SRS)	3/22	0/6	0/2	3/30 (10%)
Uncertain	1	0	1	2/32 (6%)
-PWS: salient features prompting genetic testing-				
Hypotonia (with poor neck)	16/23	4/6	1/2	21/31 (68%)
Global developmental delay (≥ 2 y)	5/17	0/6	0/3	5/26 (19%)
Excessive eating with central obesity (≥ 4 y)	1/20	1/6	0/3	2/28 (7%)
Cognitive impairment (≥ 13 y)	0/4	0/6	0/3	0/15 (0%)
Hypothalamic hypoadrenalism (≥ 13 y)	0/4	0/6	0/3	0/15 (0%)
Behavior problems (≥ 13 y)	0/4	0/6	0/3	0/15 (0%)
-SRS: Neuhäuser-Harmon scoring system features-				
Number of positive features*	4 (0-8) (n=15)	4 (2-5) (n=6)	0/0	4 (0-8) (n=21)
Birth length and/or weight ≤ -2 SDS	21/23	3/6	2/2	26/31 (84%)
Relative macrocephaly at birth*	12/21	2/6	0/2	14/27 (67%)
Postnatal length ≤ -2 SDS§	15/17	6/6	3/3	24/28 (93%)
Prominent forehead (1-3 y)	13/22	5/6	1/2	19/30 (63%)
Body asymmetry	4/22	3/6	0/2	7/30 (23%)
Feeding difficulties and/or low BMI	15/22	3/6	1/2	19/30 (63%)
-TS14: salient features -				
Pre- and/or post-natal growth failure	22/23	6/6	3/3	31/32 (97%)
Precocious puberty	8/10	4/5	1/2	13/17 (76%)
Treatment for precocious puberty	7/10	3/5	0/2	10/18 (56%)

Abbreviations: w, week; y, year; m, month; SDS, standard deviation score; OFC, occipitofrontal circumference; SGA-SS, small for gestational age-short stature; GH, growth hormone; GHD, growth hormone deficiency; IQ DQ, intellectual-developmental quotient; BMI, body mass index; PWS, Prader-Willi syndrome; SRS, Silver-Russell syndrome; TS14, Temple syndrome; ICSI, intracytoplasmic sperm injection; PET, frozen embryo transfer; IVF-ET, in vitro fertilization and embryo transfer; MP, microphos; CO, cryptorchidism; and HS, hypoadrenalism.

* For the frequency, 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.

† Birth OFC SDS ≥ 1.5 above birth length or weight SDS; present OFC SDS ≥ 1.5 above present height or weight SDS.

‡ Including narrow forehead, almond-shaped eyes, and a triangular mouth.

§ Birth length and/or weight ≤ -2 SDS for gestational age.

¶ Post-natal length ≤ -2 SDS for age; the latest height data in childhood before the onset of pubertal growth spurt or the initiation of growth hormone therapy, or in adulthood without GH therapy.

‡ Assessed for patients in whom all the six N-H scoring system features have been evaluated.

表2. 各発症原因別の詳細な臨床像

臨床診断クライテリアの提唱：Temple症候群と診断された全32例の詳細な臨床像を解析した。その結果、乳児期の詳細な臨床像を把握できた30例において、15例がPrader-Willi症候群様の重度筋緊張低下とSilver-Russell症候群表現型の両者を、6例がPrader-Willi症候群様の重度筋緊張低下のみを、6例がSilver-Russell症候群表現型を、残る3例が生下時から継続する成長障害のみを呈していることが判明した。また、思春期年齢患者17例において13例が生下時から継続する成長障害と思春期早発を示していた。さらに、欠失型Kagami-Ogata症候群患者の家系で低身長を呈する患者3例は全例Temple症候群を有していた。

以上から、Temple症候群を考慮すべき臨床像として表3を提唱する。

表3. Temple症候群を考慮すべき臨床像

<General>
 TS14 is usually considered in patients with pre- and post-natal growth failure (and placental hypoplasia) plus following findings.

<Infantile period>

- Class 1: Consider TS14 with a high priority
 Co-existence of PWS-like marked hypotonia and SRS-like relative macrocephaly, prominent forehead, and feeding difficulty.
- Class 2: Consider TS14 when the genetic causes for PWS or SRS have been excluded
 PWS-like marked hypotonia only
 SRS-like relative macrocephaly, prominent forehead, and feeding difficulty only
- Class 3: Consider TS14 as a possible underlying cause
 Pre- and post-natal growth failure (and placental hypoplasia) only

<Pubertal period>

- Class 4: Consider TS14 with a high priority
 Precocious puberty (plus history of PWS-like and/or SRS-like phenotype in infancy)

<Any age>

- Class 5: Consider TS14 with a high priority
 Familial history of a patient with Kagami-Ogata syndrome

主要責任遺伝子の同定： Temple症候群に関わる主要責任遺伝子を同定するために第14染色体インプリンティング領域を含む父由来微細欠失患者において、(エピ) 遺伝子型-表現型解析を行った (図4)。その結果、DLK1遺伝子欠失が Temple症候群の主要責任遺伝子と判明した。

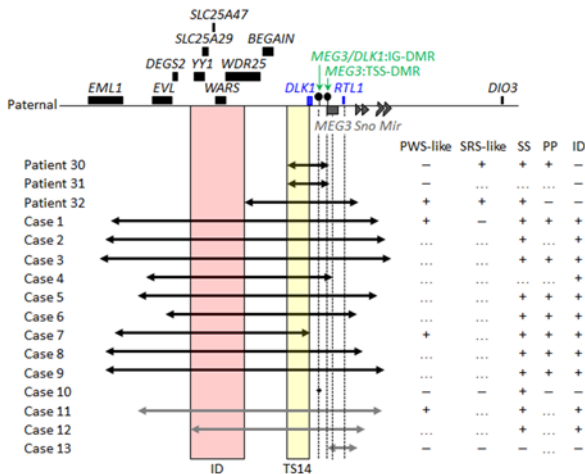


図4. 第14染色体インプリンティング領域を含む父由来微細欠失患者における (エピ) 遺伝子型-表現型解析

D. 考察

以上の成績は、Temple症候群という超希少疾患患者において 32例という大規模な解析結果をまとめた世界初の成果である。過去には、文献データをまとめた検討結果が発表されているが、同一の基準で分子遺伝学的解析と臨床的解析を行った点が強調される。

遺伝子診断の観点では、メチル化可変領域のメチル化パターン解析が極めて有用であることが示された。これは、Kagami-Ogata症候群と同様である。なお、DLK1機能低下変異が主要発症原因と考えられることから、DLK1欠失・変異患者も存在しうる可能性がある。これは今後の

検討課題である。

臨床的解析では、世界で初めて Temple症候群の心象診断クライテリアが作成された。これは、今後本疾患の同定に大きく貢献すると期待される。

E. 結論

Temple症候群 (第14染色体父性ダイソミー関連疾患) の分子遺伝学的診断法や臨床診断ガイドラインについて、本邦における32例の詳細な解析に基づいて以下のように提言した。(1) Temple症候群は、Prader-Willi症候群様の重度筋緊張低下と Silver-Russell症候群表現型の両者を呈する乳児、生下時から継続する成長障害と思春期早発を呈する患者、欠失型 Kagami-Ogata症候群患者家系において考慮されるべきである。(2) Temple症候群の診断は、IG-DMR/MEG3-DMRの低メチル化により確定されるが、DLK1欠失・変異患者も存在しうる可能性がある。これらの成果は、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

- Kon M, Saio K, Mitsui T, Miyado M, Igarashi M, Moriya K, Nonomura K, Shinohara M, Ogata T, Fukami M, Copy-number variations of the azoospermia factor region or SRY are not associated with the risk of hypospadias. Sex Dev10(1)430842016
- 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 Genet89 (5)614-6192015
- 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 Genet135 (2) 209-2222016
- Saito K, Matsuzaki T, Iwasa T, Miyado M, Saito H, Hasegawa T, Homma K, Inoue E, Kubota T, Irahara M, Ogata T, Fukami M, Multiple Androgen Biosynthesis Pathways Are Operating in Women with Polycystic Ovary Syndrome. J Steroid Biochem Mol Biol15831-372016

- 5) 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) 543-5482016
- 6) Fujisawa Y, Sakaguchi K, Ono H, Yamaguchi R, Kato F, Kagami M, Fukami M, Ogata T, Combined steroidogenic characters of fetal adrenal and Leydig cells in childhood adrenocortical carcinoma. *J Steroid Biochem Mol Biol*15986-932016
- 7) Asahina M, Endoh Y, Matsubayashi T, Fukuda T, Ogata T, Novel RAB3GAP1 compound heterozygous mutations in Japanese siblings with Warburg Micro syndrome. *Brain Dev*38 (3) 337-3402016
- 8) Yokoi T, Nishina S, Fukami M, Ogata T, Hosono K, Hotta Y, Azuma N, Genotype-phenotype correlation of PAX6 gene mutations in aniridia. *Hum Genome Variat*3150522016
- 9) 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*61 (2) 585-5912016
- 10) Okuno M, Yorifuji T, Kagami M, Ayabe T, Urakami T, Kawamura T, Kikuchi N, Yokota I, Toru Kikuchi, Amemiya S, Suzuki J, Ogata T, Sugihara S, Fukami M, The Japanese Study Group of Insulin Therapy for Childhood and Adolescent Diabetes (JSGIT) Chromosome 6q24 methylation defects are uncommon in childhood-onset non-autoimmune diabetes mellitus patients born appropriate-for-gestational age. *Clin Pediatr Endocrinol*25 (3) 99-1022016
- 11) Saito K, Matsuzaki T, Iwasa T, Miyado M, Saito H, Kubota T, Irahara M, Ogata T, Fukami M, Blood allopregnanolone levels in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol*85151-1522016
- 12) Luk H-M, Lo F-M I, Sano S, Matsbara K, Nakamura A, Ogata T, Kagami M, Silver-Russell syndrome in a patient with somatic mosaicism for upd(11)mat identified by buccal cell analysis. *Am J Med Genet A*170 (7) 1938-19412016
- 13) Sano S, Nagasaki K, Kikuchi T, Nakabayashi K, Hata K, Fukami M, Kagami M, Ogata T, Beckwith-Wiedemann syndrome and pseudohypoparathyroidism type Ib in a patient with multilocus methylation defects: a female-dominant phenomenon? *J Hum Genet*61 (8) 765-7692016
- 14) Miyamichi D, Asahina M, Nakajima J, Sato M, Hosono K, Nomura T, Negishi T, Miyake N, Hotta Y, Ogata T, Matsumoto N, Novel HPS6 mutations identified by whole-exome sequencing in two Japanese sisters with suspected ocular albinism. *J Hum Genet*61 (9) 839-8422016
- 15) Eggermann T, Brioude F, Russo S, Lombardi MP, Bliet J, Maher ER, Larizza L, Prawitt D, Netchine I, Gonzales M, Gronskov K, Tumer Z, Monk D, Mannens M, Chrzanowska K, Walasek MK, Begemann M, Soellner L, Eggermann K, Tenorio J, Nevado J, Moore GE, Mackay DJ, Temple K, Gillissen-Kaesbach G, Ogata T, Weksberg R, Algar E, Lapunzina P, Prenatal molecular testing for Beckwith-Wiedemann and Silver-Russell syndromes: a challenge for molecular analysis and genetic counseling. *Eur J Hum Genet*24 (6) 784-7932016
- 16) Koyama Y, Homma K, Fukami M, Miwa M, Ikeda K, Ogata T, Murata M, Hasegawa T, Classic and non-classic 21-hydroxylase deficiency can be discriminated from P450 oxidoreductase deficiency in Japanese infants by urinary steroid metabolites. *Clin Pediatr Endocrinol*25 (2) 37-442016
- 17) Miyoshi Y, Yorifuji T, Horikawa R, Takahashi I, Nagasaki K, Ishiguro H, Fujiwara I, Ito J, Oba M, Kawamoto H, Fujisaki H, Kato M, Shimizu C, Kato T, Matsumoto K, Sago H, Takimoto T, Okada H, Suzuki N, Yokoya S, Ogata T, Ozono K, Gonadal function, fertility, and reproductive medicine in childhood and adolescent cancer patients: a national survey of Japanese pediatric endocrinologists. *Clin Pediatr Endocrinol*25 (2) 45-572016
- 18) Moritani M, Yokota I, Horikawa R, Urakami T, Nishii A, Kawamura T, Kikuchi N, Kikuchi T, Ogata T, Sugihara S, Amemiya S; Japanese Study Group of Insulin Therapy for Childhood and Adolescent Diabetes (JSGIT) Identification of monogenic gene mutations in Japanese subjects diagnosed with type 1B diabetes between >5 and 15.1 years of age. *J Pediatr Endocrinol Metab*229 (9) 1047-10542016
- 19) Nakamura A, Hamaguchi E, Horikawa R, Nishimura Y, Matsubara K, Sano S, Nagasaki K, Matsubara Y, Umezawa A, Tajima T, Ogata T, Kagami M, Okamura K, Fukami M, Complex genomic rearrangement within the GNAS region associated with familial pseudohypoparathyroidism Ttype 1b. *J Clin Endocrinol Metab*101 (7) 2623-26272016
- 20) Fujisawa Y, Fukami M, Hasegawa T, Uematsu A, Muroya M, Ogata T, Long-term clinical course in three patients with MAMLD1 mutations. *Endocr J*63 (9) 835-8392016
- 21) Naiki Y, Miyado M, Horikawa R, Katsumata N, Onodera M, Pang S, Ogata T, Fukami M, Extra-

- Adrenal Induction of Cyp21a1 Ameliorates Systemic Steroid Metabolism in a Mouse Model of Congenital Adrenal Hyperplasia. *Endocr J* 63 (10) 897-904 2016
- 22) Montalbano A, Juergensen A, Roeth R, Weiss B, Fukami M, Fricke-Otto S, Binder G, Ogata T, Decker E, Nuernberg G, Hassel 2, Rappold GA Retinoic acid catabolizing enzyme CYP26C1 is a genetic modifier in SHOX deficiency. *EMBO Mol Med* 8 (12) 1455-1469 2016
- 23) Shima H, Yatsuga S, Nakamura A, Sano S, Sasaki T, Katsumata N, Suzuki E, Hata K, Nakabayashi K, Momozawa Y, Kubo M, Okamura K, Kure S, Matsubara Y, Ogata T, Narumi S, Fukami M, NR0B1 frameshift mutation in a boy with idiopathic central precocious puberty. *Sex Dev* 10 (4) 205-209 2016
- 24) Ayabe T, Fukami M, Ogata T, Kawamura T, Urakami T, Kikuchi N, Yokota I, Ihara K, Takemoto K, Mukai T, Nishii A, Kikuchi T, Mori T, Shimura N, Sasaki G, Kizu R, Takubo N, Soneda S, Fujisawa T, Takaya R, Kizaki Z, Kanzaki S, Hanaki K, Matsuura N, Kasahara Y, Kosaka K, Takahashi T, Minamitani K, Matsuo S, Mochizuki H, Kobayashi K, Koike A, Horikawa R, Teno S, Tsubouchi K, Mochizuki T, Igarashi Y, Amemiya S, Sugihara S; Japanese Study Group of Insulin Therapy for Childhood and Adolescent Diabetes (JSGIT). The Japanese Study Group of Insulin Therapy for Childhood and Adolescent Diabetes (JSGIT) Variants associated with autoimmune type 1 diabetes in Japanese children: implications for age-specific effects of cis-regulatory haplotypes at 17q12-q21. *Diabet Med* 33 (12) 1717-1722 2016
- 25) Miyado M, Inui M, Igarashi M, Katoh-Fukui Y, Takasawa K, Hakoda A, Kanno J, Kashimada K, Miyado K, Tamano M, Ogata T, Takada S, Fukami M, The p.R92W variant of NR5A1/Nr5a1 induces testicular development of 46,XX gonads in humans, but not in mice: Phenotypic comparison of human patients and mutation-induced mice. *Biol Sex Differ* 56 (7) eCollection 10.1186/s13293-016-0114-6 2016
- 26) Fukami M, Suzuki E, Shima H, Toki M, Hanew K, Matsubara K, Kurahashi H, Narumi S, Ogata T, Kamimaki T, Complex X-chromosomal rearrangements in two women with ovarian dysfunction: implications for chromothripsis/chromoanagenesis-dependent and -independent origins of complex genomic alterations. *Cytogenet Genome Res* 150(2) 86-92 2016
- 27) Igarashi M, Takasawa K, Hakoda A, Kanno J, Takada S, Miyado M, Baba T, Morohashi KI, Tajima T, Hata K, Nakabayashi K, Matsubara Y, Sekido R, Ogata T, Kashimada K, Fukami M, Identical NR5A1 missense mutations in two unrelated 46,XX individuals with testicular tissues. *Hum Mutat* 38(1) 39-42 2017
- 28) Asahina M, Endoh Y, Matsubayashi T, Hirano K, Fukuda T, Ogata T, Genomewide array comparative genomic hybridization in 55 Japanese normokaryotypic patients with non-syndromic intellectual disability. *J Pediatr Neurol Disord* 2(1) 108 2016
- 29) Ohishi A, Nishimura G, Kato F, Ono H, Maruwaka K, Ago M, Suzumura H, Hirose E, Uchida Y, Fukami M, Ogata T, Mutation analysis of FGFR1-3 in 11 Japanese patients with syndromic craniosynostoses. *Am J Med Genet A* 173(1) 157-162 2017
- 30) Ihara K, Fukano C, Ayabe T, Fukami M, Ogata T, Kawamura T, Urakami T, Kikuchi N, Yokota I, Takemoto K, Mukai T, Nishii A, Kikuchi T, Mori T, Shimura N, Sasaki G, Kizu R, Takubo N, Soneda S, Fujisawa T, Takaya R, Kizaki Z, Kanzaki S, Hanaki K, Matsuura N, Kasahara Y, Kosaka K, Takahashi T, Minamitani K, Matsuo S, Mochizuki H, Kobayashi K, Koike A, Horikawa R, Teno S, Tsubouchi K, Mochizuki T, Igarashi Y, Amemiya S, Sugihara S; Japanese Study Group of Insulin Therapy for Childhood and Adolescent Diabetes (JSGIT) FUT2 nonsecretor status links type 1 diabetes susceptibility in Japanese children. *Diabet Med* 34(4) 586-589 2017
- 31) Kagami M, Matsubara K, Nakabayashi K, Nakamura A, Sano S, Okamura K, Hata K, Fukami M, Ogata T, Genomewide multilocus imprinting disturbance analysis in Temple syndrome and Kagami-Ogata syndrome. *Genet Med* (in press) doi: 10.1038/gim.2016.123 2016
- 32) Okuno M, Kasahara Y, Onodera M, Takubo N, Okajima M, Suga S, Watanabe N, Suzuki J, Ayabe T, Urakami T, Kawamura T, Kikuchi N, Yokota I, Kikuchi T, Amemiya S, Nakabayashi K, Hayashi KK, Hata KK, Matsubara Y, Ogata T, Fukami M, Sugihara S, Nucleotide substitutions in CD101, the human homolog of a diabetes susceptibility gene in non-obese diabetic mouse, in patients with type 1 diabetes. *J Diabetes Investig* [Epub ahead of print] doi: 10.1111/jdi.12586 2016
- 33) Onda Y, Sugihara S, Ogata T, Yokoyama S, Yokoyama T, Tajima N; Type 1 Diabetes (T1D) Study Group Incidence and prevalence of childhood-onset type 1 diabetes in Japan: The T1D Study. *Diabet Med* [Epub ahead of print] doi: 10.1111/dme.13295 2016
- 34) Ohtaka K, Fujisawa Y, Takada F, Hasegawa Y, Miyoshi T, Hasegawa T, Miyoshi H, Kameda H, Kurokawa-Seo M, Fukami M, Ogata T, FGFR1 Analyses in Four Patients with Hypogonadotropic Hypogonadism with Split-Hand/Foot Malformation: Implications for the

- Promoter Region.Hum Mutat[Epub ahead of print]doi: 10.1002/humu.23178.2017
- 35)Fukami M, Suzuki E, Izumi Y, Torii T, Narumi S, Igarashi M, Miyado M, Katsumi M, Fujisawa Y, Nakabayashi K, Hata K, Umezawa A, Matsubara Y, Yamauchi J, Ogata T,Paradoxical gain-of-function mutant of the G-protein coupled receptor PROKR2 promotes early puberty.J Cell Mol Med[Epub ahead of print]doi: 10.1111/jcmm.13146.2017
- 36)Kagami M, Nagasaki K, Kosaki R, Horikawa R, Naiki Y, Saito S, Tajima T, Yorifuji T Numakura C, Mizuno S, Nakamura A, Matsubara K, Fukami M, Ogata T, Temple syndrome: comprehensive molecular and clinical findings in 32 Japanese patients.Genet Med (accepted).
- 37)Kitaoka T, Tajima T, Nagasaki K, Kikuchi T, Yamamoto K, Michigami T, Okada S, Fujiwara I, Kokaji M, Mochizuki Hi, Ogata T, Tatebayashi K, Watanabe A, Yatsuga S, Kubota T, Ozono K: Safety and Efficacy of Treatment with Asfotase Alfa in Patients with Hypophosphatasia (HPP)Results from Japanese Physician-Initiated Clinical Trial.Clin Endocrinol (accepted)
- 38)Ogata T, Kagami M,Kagami-Ogata syndrome: a clinically recognizable upd(14)pat and related disorder affecting the chromosome 14q32.2 imprinted region.J Hum Genet61 (2)87-942016
- 39)Fukami M, Seki A, Ogata T,SHOX haploinsufficiency as a cause of syndromic and non-syndromic short stature.Mol Syndromol7(1)428052016
- 40)Marchini A, Ogata T, Rappold GA,A track record on SHOX: from basic research to complex models and therapy.Endocr Rev37(4)417-4482016
- 41)Wakeling EL, Brioude F, Lokulo-Sodipe O, O'Connell SM, Salem J, Bliet J, Canton AP, Chrzanowska KH, Davies JH, Dias RP, Dubern B, Elbracht M, Giabicani E, Grimberg A, Gronskov K, Hokken-Koelega AC, Jorge AA, Kagami M, Linglart A, Maghnie M, Mohnike K, Monk D, Moore GE, Murray PG, Ogata T, Petit IO, Russo S, Said E, Toumba M, Tumer Z, Binder G, Eggermann T, Harbison MD, Temple IK, Mackay DJ, Netchine IDiagnosis and management of Silver-Russell syndrome: first international consensus statement.Nat Rev Endocrinol[Epub ahead of print]doi: 10.1038/nrendo.2016.138.2016
- 42)Fukami M, Shima H, Suzuki E, Ogata T, Matsubara K, Kamimaki T.Catastrophic Cellular Events Leading to Complex Chromosomal Rearrangements in the Germline.Clin Genet (accepted)[Epub ahead of print]doi: 10.1111/cge.12928.2016

2. 学会発表
省略

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

Angelman症候群およびPrader-Willi症候群の体系的診断法の確立

研究分担者 齋藤 伸治

公立大学法人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Prader-Willi症候群（PWS）に対する体系的遺伝学的診断法を開発し検討を行った。平成28年度はAS疑い23例、PWS疑い26例を対象とした。AS疑い23例中3例（13.0%）にDNAメチル化の異常を同定し、そのうち1例は刷り込み変異と確定診断を得た。UBE3A変異例は1例（4.3%）であった。PWS疑い26例中11例（42.3%）にDNAメチル化の異常を同定し、そのうち3例が15番染色体母性片親性ダイソミーであった。1例がTemple症候群と診断され、1例に4番染色体短腕の欠失と11番染色体短腕の重複を同定した。ASおよびPWSの診療において、体系的遺伝学的診断は多彩な病因を同定することができ、有用であった。

A. 研究目的

Angelman症候群（AS）およびPrader-Willi症候群（PWS）は知的障害を主たる症状とする異なった疾患である。原因遺伝子は15q11-q13のゲノム刷り込み領域に位置しており、そのため、共通の遺伝学的診断法を用いて初期診断を行うことができる。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、全国からの診断依頼に応じてきている。平成28年4月からは両疾患の遺伝学的解析が健康保険の適応となった。DNAメチル化テストは複数の検査会社が提供している。しかし、DNAメチル化解析のみでは、正確な遺伝学的分類はできず、体系的な遺伝学的診断法の需要は継続している。今回私たちは、平成28年度に実施した解析結果について検討を行った。

B. 研究方法

ASもしくはPWSが疑われた患者で平成28年度に依頼があったのはAS疑い23例、PWS疑い26例であった。FISH法で15q11-q13の欠失は既に否定されている。末梢白血球からゲノムDNAを抽出し体系的解析を実施した。

解析は、SNURF・SNRPN遺伝子のDNAメチル化テストを行い、陽性の場合には両親の検体を用いて多型解析を実施し、片親性ダイソミー（uniparental disomy: UPD）もしくは刷り込み変異（imprinting defect: ID）を診断した。ASではメチル化テスト陰性の場合にはUBE3Aの変異解析をサンガー法で実施した。変異陰性の場合にはAS類似症状を示すことが知られている6個の遺伝子（SLC9A6、TCF4、MBD5、CDKL5、MECP2、FOXG1）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を用いて解析を行った。

PWSではメチル化テスト陰性例に対して、14q32に位置するMEG3遺伝子のDNAメチル化テストを行い、Temple症候群の同定を行った。異常が同定されない場合は、Agilent SurePrint G3 Human CGH60Kを用いて染色体コピー数解析を実施した。

（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

AS疑い23例中、DNAメチル化テストでは3例（13.0%）で陽性（父由来パターンのみ）であった。内1例でのみ両親解析が行われ、刷り込み変異であった。メチル化テスト陰性20例のなかで1例（全体の4.3%）にUBE3Aの変異が同定された。いずれの変異も同定されなかった19例にはパネル解析でも病因となる変異は同定されなかった。

PWS疑い26例のなかでDNAメチル化テストは11例（42.3%）が陽性（母由来パターンのみ）であった。両親解析ができた3例はいずれも母性UPDであり、刷り込み変異はいなかった。メチル化陰性例のうち1例はMEG3メチル化が陽性であり、Temple症候群と診断された。残り、14例に染色体コピー数解析を実施し、1例に4番染色体短腕の欠失と11番染色体短腕の重複を同定し、病因と判定した。

D. 考察

体系的遺伝学的解析を長年にわたり提供してきているなかで、平成28年度の変異同定率はASではやや低く、PWSではやや高かった。しかし、大きな変化はなく、両疾患において遺伝学的解析

が診断のために重要な意義を果たしていることが確認された。

平成 28 年度から両疾患の遺伝学的解析が保険適応となった。しかし、現実的には DNA メチル化テストのみが検査会社で実施されている。DNA メチル化テストは世界的には第一選択であるので、日本においても世界標準の遺伝学的診断を実施する基盤ができたと評価できる。FISH 法は既に検査会社で実施可能であり、広く普及している。従って、まず DNA メチル化テストを実施し、陽性であれば FISH 法を実施するまでは商業的に可能になった。一方、UPD と ID との区別は遺伝カウンセリングの観点からは重要であるが、対応はできていない。さらに、AS における UBE3A 変異解析は予算的に未対応である。対応できていないグループに再発危険率が高い患者が含まれていることは臨床的には不十分な感を抱かざるを得ない。

今回の解析でも PWS 疑い患者のなかに、1 例の Temple 症候群と、染色体微細コピー数異常が含まれていた。以前の解析でも、AS 疑いや PWS 疑い例のなかに、一定の割合で良く似た疾患が含まれていた。従って、遺伝学的に AS や PWS が否定された場合もこれらの類似疾患の解析は価値があると考えられる。

一方、類似疾患は染色体アレイ解析と全エクソーム解析を行うことでもれなく同定することができる。染色体解析においては染色体アレイ解析が第一選択であることは 2010 年から勧告されている。また、全エクソーム解析も世界的には商業的な実施が普及している。我が国においては、これらの遺伝学的検査インフラが脆弱であり、国際標準の検査が提供できていない。引き続き、体制整備の重要性を訴えて行くことが重要である。

PWS 疑い例に同定された 4 番染色体短腕欠失と 11 番染色体長腕重複の合併例は興味深い。4p-症候群は認識可能な疾患であり、発達遅滞に加えて低身長と成長障害を主要な症状とする。11p 重複は父由来では Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS)、母由来では Silver-Russell 症候群 (SRS) の原因となる。BWS は過成長、SRS は成長障害と反対のベクトルを有する疾患である。今回同定された患児では出生時体重が正常範囲であり、4p-症候群の症状が BWS と重なったために相殺された可能性が考えられた。そのため、発達遅滞だけが目立つ結果となった。このような組み合わせは稀であるが、過去にも報告がある。dual pathogenesis の例となると考えられた。

E. 結論

AS と PWS とに対する体系的遺伝学的診断法を開発し、平成 28 年度の結果を報告した。保険適応となっても、体系的な解析は重要である

ことが示された。さらに、類似疾患を念頭に置いた解析が重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Uehara DT, Hayashi S, Okamoto N, Mizuno S, Chinen Y, Kosaki R, Kosho T, Kurosawa K, Matsumoto H, Mitsubuchi H, Numabe H, Saitoh S, Makita Y, Hata A, Imoto I, Inazawa J. SNP array screening of cryptic genomic imbalances in 450 Japanese subjects with intellectual disability and multiple congenital anomalies previously negative for large rearrangements. *J Hum Genet* 61:335-43, 2016.
- 2) Hori I, Miya F, Ohashi K, Negishi Y, Hattori A, Ando N, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S. Novel splicing mutation in the ASXL3 gene causing Bainbridge-Ropers syndrome. *Am J Med Genet A*. 170:1863-7, 2016.
- 3) Saitsu H, Watanabe M, Akita T, Ohba C, Sugai K, Ong WP, Shiraishi H, Yuasa S, Matsumoto H, Beng KT, Saitoh S, Miyatake S, Nakashima M, Miyake N, Kato M, Fukuda A, Matsumoto N. Impaired neuronal KCC2 function by biallelic *SLC12A5* mutations in migrating focal seizures and severe developmental delay. *Sci Rep* 6:30072, 2016.
- 4) Tsutsumi M, Yokoi S, Miya F, Miyata M, Kato M, Okamoto N, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S, Kurahashi H. Novel compound heterozygous variants in *PLK4* identified in a patient with autosomal recessive microcephaly and chorioretinopathy. *Eur J Hum Genet* 24:1702-6, 2016.

2. 学会発表

- 1) 堀いくみ、宮冬樹、中島光子、大友孝信、根岸豊、服部文子、安藤直樹、角田達彦、西野一三、金村米博、吉森保、松本直通、小崎健次郎、齋藤伸治 Vici 症候群 9 例の臨床的および遺伝学的検討. 第 58 回日本小児神経学会学術集会 (東京) 平成 28 年 6 月 3-5 日
- 2) Hori I, Miya F, Ohashi K, Negishi Y, Hattori A, Ando N, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S. Novel splicing mutation in the ASXL3 gene causes Bainbridge-Ropers syndrome. 13th International Congress of Human Genetics (Kyoto, Japan). 2016.4.3-7.
- 3) 堀いくみ、河村理恵、中林一彦、家田大輔、大橋圭、根岸豊、服部文子、杉尾嘉嗣、涌井敬子、黒澤健司、秦健一郎、副島英伸、齋藤伸治. CTCF 遺伝子欠失を認めた 2 女児の臨床的および遺伝学的検討. 第 39 回日本小児遺伝学会学術集会 (東京) 平成 28 年 12 月 9-10 日

- 4) 齋藤伸治、堀いくみ、稲垣秀人、宮冬樹、家田大輔、根岸豊、岡本伸彦、服部文子、加藤光広、角田達彦、山崎 麻美、金村米博、小崎健次郎、倉橋浩樹. ASXL3遺伝子変異が同定されたBainbridge-Ropers症候群の2例. 第39回日本小児遺伝学会学術集会（東京）平成28年12月9-10日

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

多発関節拘縮を伴う先天異常症候群に関する研究

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 部長 兼 発達障害研究所 非常勤研究員

研究要旨

マイクロアレイや全エクソン解析などの、近年の網羅的な遺伝学的検査の進歩によって、稀少疾患の診断例が急速に増加し、従来原因不明とされた先天異常症候群においてもその原因遺伝子が同定されその発症メカニズムが明らかになるものが増えている。遠位型多発関節拘縮を呈する知的障害を伴わない症候群について、自験例から原因が特定された症例について検討し報告する。3例はCHRNGの既報告の複合ヘテロ変異を同定した。Escobar症候群として知られるが、本症においては従来の報告に比べて大関節の拘縮が軽度で従来の記述からは本症候群と認識が困難であった。一方で顔貌に共通する特徴があり、そのゲシュタルトを理解すれば軽症例であっても臨床診断が可能な症候群であると考えられた。

本症候群は胎児期に発現するアセチルコリン受容体 γ サブユニット（CHRNG）の不活性化変異がその原因であり、翼状片は胎児の運動低下による二次的な成因と理解されている。Freeman-Sheldon症候群他複数の遠位型多発関節拘縮症候群においても、胎児期の運動低下を引き起こす機能に影響する遺伝子変異が遠位型多発関節拘縮の原因となることが示唆される。

A. 研究目的

数多い先天異常症候群の中で、遠位型多発関節拘縮を呈する知的障害を伴わない症候群について、自験例から原因が特定された症例について検討してその臨床像を明らかにし、診断及び治療の基礎資料とする。

B. 研究方法

臨床的に遠位型多発関節拘縮を呈する自験症例においてCHRNGのバイアレリック変異を同定した3例の臨床所見を後方的に検討した。

（倫理面への配慮）

対象の患者は未成年であり研究への参加としての情報の収集に際しては親権者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た。本研究の聞き取りは診療の範囲内の問診であり個人情報が特定されるものはない。

C. 研究結果

症例1 近親婚の無い健康な両親から出生、生後4ヶ月に横隔膜挙上症（内視鏡下手術）、2歳鼠径ヘルニア精巣固定術、手指屈曲拘縮、装具治療の後屈曲解除術を受けた。学齢期側彎症の経過観察中、高口蓋、歯列不整あり。

非進行性の軽度の眼瞼下垂。頸部を後屈させてものを見る（Chin up posture）。知的発達は正常であるが、生活上、じゃんけんができない。



症例1 4歳時

症例2 近親婚のない両親。出生体重3000g台。出生後のチアノーゼのためNICU搬送。右横隔膜挙上症の診断。生後1ヶ月に横隔膜挙上症縫縮術。先天性内反足及び手指を主体とする多発関節拘縮。生後3ヶ月時に内反足アキレス腱切断術。当時の診断名はPena Shokier 症候群及び多発関節拘縮症。3歳児に眼瞼下垂挙上術を受けたが改善は少ない。高口蓋、歯列不整、肘関節、膝関節に僅かな伸展制限があるが翼状片は無く生活上の問題も少ない。知的発達は正常



症例2 3歳時

症例3

近親婚のない両親から出生。出生体重3000g台。手指の屈曲異常、足関節、趾の変形、肘関節、股関節の軽度の制限、特徴的な鼻の形態、鼻柱の高位挿入、長い人中、特徴的な上口唇、などの所見を認める。

症例1,2と顔貌、眼瞼下垂、低身長等の類似所見から同一疾患と判断した。



症例3 2ヶ月時

遺伝学的解析

症例1, 2は患者及び両親の末梢血由来のゲノムDNAを用いたWhole exome sequence (Agilent社 Sure select V5+Illumina社 HiSeq2000)にて解析。*CHRNG*(acetylcholine receptor, muscle, gamma subunit)の既知の複合ヘテロ接合体変異を検出し、当該エクソンのPCR+Direct sequencingで同定した。症例3はトリオ検体由来ゲノムDNAを*CHRNG*のダイレクトシーケンスにて解析し複合ヘテロ変異を同定し、本症候群の原因と考えた。

D. 考察

先天性翼状片症候群は、頸部、腋窩、肘膝関節の翼状片(Pterigium)を特徴とする致死性及び非致死性の常染色体劣性遺伝の疾患であり、最重症の胎児致死例に対し非致死性の本症をEscobar typeもしくはEscobar症候群(#265000)と称する。

本症候群は胎児期だけに発現するアセチルコリン受容体 γ サブユニットの不活性変異による胎児運動低下(Fetal akinesia)により、翼状片と

関節拘縮が二次的に発生すると考えられている。別の遠位型多発関節拘縮症であるFreeman-Sheldon症候群も胎児期に発現するEmbryonic myosin heavy-chain mutationsをコードする*MYH2*のヘテロ接合体変異によることが知られており、胎児期の筋病態が先天性多発関節拘縮の原因と考えられている。(表)

多発関節拘縮の原因遺伝子

• <i>CHRNG</i>	CHOLINERGIC RECEPTOR, NICOTINIC, GAMMA POLYPEPTIDE
• <i>MYH3</i>	MYOSIN, HEAVY CHAIN 3, SKELETAL MUSCLE, EMBRYONIC
• <i>MYBPC1</i>	MYOSIN-BINDING PROTEIN C, SLOW TYPE
• <i>MYH8</i>	MYOSIN, HEAVY CHAIN 8, SKELETAL MUSCLE, PERINATAL;
• <i>TPM2</i>	TROPOMYOSIN 2
• <i>TNNI2</i>	TROPONIN I, FAST-TWITCH SKELETAL MUSCLE ISOFORM
• <i>TNNT3</i>	TROPONIN T3, FAST SKELETAL
• <i>PIEZO2</i>	PIEZO-TYPE MECHANOSENSITIVE ION CHANNEL COMPONENT 2
• <i>NALCN</i>	SODIUM LEAK CHANNEL, NONSELECTIVE;

いずれも胎児期に発現する筋および神経筋接合部、イオンチャンネルに関連する遺伝子群。知的障害は伴わない。

従来報告されているEscobar症候群は大関節や頸部の翼状片と全身の多発関節拘縮が特徴とされたが、今回の症例は大関節の拘縮が僅か、かつ翼状片が認められなかったために、当初は単に遠位型関節拘縮症と認識されていて、遺伝医療の対象とは考えられていなかった。軽症例においては、大関節の拘縮や翼状片は伴わないことが示唆された。

今回我々の症例は、古典的な大関節の多発翼状片や拘縮を伴わず重症所見ない一方で、眼瞼下垂、耳介形態、歯列不整などの認識可能な頭頸部の特徴を有していた。

自験例と過去報告例の顔貌は上に凸の眉毛、眼瞼裂斜下と下眼瞼の外反、耳介低位など本症候群に特異的であり、顔貌のみでも認識されうる症候群であることが示唆される。多発関節拘縮例の軽症例においては本症候群の鑑別診断を考慮した臨床的検討が望まれる。

E. 結論

*CHRNG*のバイアレリック変異の自験例3例の臨床像を示した。Escobar症候群は必ずしも大関節拘縮を伴わない。顔貌の特徴も特異的であり臨床診断に資する。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Watanabe S, Shimizu K, Ohashi H, Kosaki R, Okamoto N, Shimojima K, Yamamoto T, Chinen Y, Mizuno S, Dowa Y, Shiomi N, Toda Y, Tashiro K, Shichijo K, Minatozaki K, Aso S, Minagawa K, Hiraki Y, Shimokawa O, Matsumoto T, Fukuda M, Moriuchi H, Yoshiura K, Kondoh T. Detailed analysis of 26 cases of 1q partial duplication/triplication syndrome. *Am J Med Genet A*. 2016 Apr;170A(4):908-17.
- 2) Muramatsu Y, Tokita Y, Mizuno S, Nakamura M. Disparities in visuo-spatial constructive abilities in Williams syndrome patients with typical deletion on chromosome 7q11.23. *Brain Dev*. 2017 Feb;39(2):145-153.
- 3) Hirai M, Muramatsu Y, Mizuno S, Kurahashi N, Kurahashi H, Nakamura M. Typical visual search performance and atypical gaze behaviors in response to faces in Williams syndrome. *J Neurodev Disord*. 2016 Oct 24;8:38.
- 4) Negishi Y, Miya F, Hattori A, Johmura Y, Nakagawa M, Ando N, Hori I, Togawa T, Aoyama K, Ohashi K, Fukumura S, Mizuno S, Umemura A, Kishimoto Y, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Nakanishi M, Saitoh S. A combination of genetic and biochemical analyses for the diagnosis of PI3K-AKT-mTOR pathway-associated megalencephaly. *BMC Med Genet*. 2017 Jan 13;18(1):4.
- 5) Hirai M, Muramatsu Y, Mizuno S, Kurahashi N, Kurahashi H, Nakamura M. Preserved search asymmetry in the detection of fearful faces among neutral faces in individuals with Williams syndrome revealed by measurement of both manual responses and eye tracking. *J Neurodev Disord*. 2017 Mar 3;9:8.
- 6) Tanigawa J, Mimatsu H, Mizuno S, Okamoto N, Fukushi D, Tominaga K, Kidokoro H, Muramatsu Y, Nishi E, Nakamura S, Motooka D, Nomura N, Hayasaka K, Niihori T, Aoki Y, Nabatame S, Hayakawa M, Natsume J, Ozono K, Kinoshita T, Wakamatsu N, Murakami Y. Phenotype-genotype correlations of PIGO deficiency with variable phenotypes from infantile lethality to mild learning difficulties. *Hum Mutat*. 2017 Mar 23. doi: 10.1002/humu.23219. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

該当なし

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

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

歌舞伎症候群の新規合併症について

研究分担者 岡本 伸彦

地方独立行政法人大阪府立病院機構 大阪母子医療センター 遺伝診療科 主任部長

研究要旨

歌舞伎症候群はヒストンメチル基転移酵素の異常による先天異常症候群である。精神運動発達遅滞、内臓奇形、成長障害、内分泌異常など多彩な合併症を認める。最近 年間に初診で受診した歌舞伎症候群33例の中で、7例の頭蓋縫合早期癒合症が見いだされた。頭蓋縫合早期癒合症は歌舞伎症候群の診療において年頭に置くべき重要な合併症であると考えられた。頭部の形態について注意すべきであることを診療ガイドラインに明記すべきと考えられた。

研究協力者

大阪母子医療センター遺伝診療科副部長 植田紀美子、遺伝カウンセラー 松田桂子、三島祐子、川戸和美、山本悠斗

A. 研究目的

歌舞伎症候群は1981年に日本で新川・黒木らが報告した先天異常症候群である。*KMT2D*変異、*KDM6A*変異による先天異常症候群である。責任遺伝子はヒストンメチル基転移酵素であり、体の発生や発育・発達に関わる。罹患率は32,000人に1人という報告があるが、実地臨床では比較的頻度の高い先天異常症候群である。大多数は孤発例であるが、常染色体優性遺伝の家系が存在する。精神運動発達遅滞、内臓奇形、成長障害、内分泌異常など多彩な合併症を認める。自験例の検討の中で、頭蓋縫合早期癒合症が有意に多いことが判明した。歌舞伎症候群の新規合併症として検討すべきか研究を行った。

B. 研究方法

最近5年以内に当センターを初診で受診した歌舞伎症候群症例33例について、小頭症頭蓋形態の異常を認めた症例について、頭部CT検査を行った。検査結果、臨床経過を検討した。歌舞伎症候群の遺伝子診断を確定診断目的で実施した。解析は横浜市立大学遺伝学松本直通先生、三宅紀子先生に依頼した。当方での次世代シーケンサーでも解析を行った。

(倫理面への配慮)

歌舞伎症候群の遺伝子診断にあたっては倫理面の配慮を行い、全例に遺伝カウンセラーによるカウンセリングを実施した。

C. 研究結果

7例で頭蓋縫合早期癒合症の合併を把握した。

【症例1】6歳女児。在胎37週、出生体重3250gで出生した。三心房心の手術をうけた。体重増加不良の精査目的で当センターを受診した。特徴的顔貌、身体所見から歌舞伎症候群を疑い、遺伝子解析で*KMT2D*変異が認められた。3歳時、頭蓋変形精査目的で頭部CT検査を行い左冠状縫合早期癒合、指圧痕増強を認めた。脳神経外科で骨延長術を受けた。術後、発達経過は順調である。

【症例2】4歳男児。在胎38週、出生体重270gで出生。大動脈縮窄術後、1歳時に成長発達の遅れを主訴に当センターを受診。臨床的に歌舞伎症候群を疑い、遺伝子解析を行ったところ、*KMT2D*変異が認められた。三角頭蓋が進行し、3歳時に骨延長術を受けた。術後、有意語数が飛躍的に増加した。

【症例3】6歳女児。在胎35週、出生体重2280gで出生。新生児期は、横隔膜ヘルニアの治療をうけた。肺高血圧症のため人工呼吸管理を要した。口唇口蓋裂、右小眼球、横隔膜ヘルニア、馬蹄腎などの合併症、特徴的顔貌より歌舞伎症候群と臨床診断した。長頭が進行し、頭部CT検査で矢状縫合早期癒合症を認めた。5歳時に骨延長術を受けた。

【症例4】1歳女児。矢状縫合早期癒合症を認め、手術を行った。経過は順調である。

【症例5】7歳女児。矢状縫合早期癒合症を認めた。

【症例6】3歳男児。前頭縫合早期癒合を認めた。

【症例7】1歳女児。矢状縫合早期癒合症を認めた。

D. 考察

クルーズン症候群、アペール症候群、ファイファー症候群のような頭蓋縫合早期癒合が中心症状となる疾患群以外に、頭蓋縫合早期癒合を合併しやすい症候群が知られている。我々は、ウィリアムズ症候群で頭蓋縫合早期癒合が多いことを報告した (Ueda et al. Eight patients with Williams syndrome and craniosynostosis. *Eur J Med Genet.* 58:355-7,2015)。頭蓋縫合早期癒合症は様々な先天異常症候群の診療において注意すべき合併症のひとつと考えられる。

歌舞伎症候群と頭蓋縫合早期癒合症の合併は過去に報告が散見されるが、ほとんど注目されていない。今回の検討では33症例中少なくとも7例で合併がみられ、うち4例は外科手術を施行されていた。他にも頭蓋縫合早期癒合症の可能性で要フォローとなっている症例もある。頭部CT未施行例もあり、頭蓋縫合早期癒合症の合併はさらに多い可能性がある。

手術の適応については3D-CTによる縫合線や指圧痕の程度などの画像所見、頭蓋内圧センサーによる頭蓋内圧測定などが行われる。幼少児で発達遅滞もあるため、頭痛などの自覚症状の訴えは困難な例が多い。いずれの症例も頭蓋形態の異常を認めた。歌舞伎症候群では頭囲の計測だけでなく、頭部の形態も慎重に診察する必要がある。

頭痛の訴えが難しいため、歌舞伎症候群では頭蓋変形や小頭症が顕著な場合は3D-CTを含めた画像検査が必要と考えられる。

早期癒合症術後に言語発達が伸びた例もあり、適切な対応は発達予後の改善に有用な可能性がある。今後さらに長期フォローを行い、発達面への効果を把握する方針である。

E. 結論

当センターの経験で、歌舞伎症候群では頭蓋縫合早期癒合症の合併率は少なくとも20%以上と高く、看過されている例が多いことが予想される。診療ガイドラインに組み入れるべき、重要な合併症と考えられる。全例での放射線学的検査は被爆の問題があり推奨されないが、疑い例では積極的な検査が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 岡本伸彦 日本が貢献した先天異常症候群 Coffin-Siris 症候群小児科診療 791807-18122016
- 2) 岡本伸彦 結節性硬化症小児内科 431520-15232016
- 3) 岡本伸彦 Sener 症候群小児科診療 791282016
- 4) 岡本伸彦 染色体異常・先天奇形症候群 Smith-Lemli-Opitz 症候群小児科診療 7962016
- 5) Takenouchi T, Okamoto N, Ida S, Uehara T, Kosaki K. Further evidence of a mutation in CDC42 as a cause of a recognizable syndromic form of thrombocytopenia. *Am J Med Genet A.* 170A852-52016
- 6) Tsutsumi M, Yokoi S, Miya F, Miyata M, Kato M, Okamoto N, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S, Kurahashi H. Novel compound heterozygous variants in PLK4 identified in a patient with autosomal recessive microcephaly and chorioretinopathy. *Eur J Hum Genet* 241702-17062016
- 7) Fukuoka M, Kuki I, Kawawaki H, Okazaki S, Kim K, Hattori Y, Tsuji H, Nukui M, Inoue T, Yoshida Y, Uda T, Kimura S, Mogami Y, Suzuki Y, Okamoto N, Saito H, Matsumoto N. Quinidine therapy for West syndrome with KCNT1 mutation: A case report. *Brain Dev* 3980-832017
- 8) Okamoto N, Kimura S, Shimojima K, Yamamoto T. Neurological Manifestations of 2q31 Microdeletion Syndrome. *Congenit Anom (Kyoto)* Online 2017
- 9) Miyake N, Abdel-Salam G, Yamagata T, Eid MM, Osaka H, Okamoto N, Mohamed AM, Ikeda T, Afifi HH, Piard J, van Maldergem L, Mizuguchi T, Miyatake S, Tsurusaki Y, Matsumoto N. Clinical features of SMARCA2 duplication overlap with Coffin-Siris syndrome. *Am J Med Genet A.* 170A2662-702016
- 10) Fujita A, Isidor B, Piloquet H, Corre P, Okamoto N, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saito H, Miyake N, Matsumoto N. De novo MEIS2 mutation causes syndromic developmental delay with persistent gastro-esophageal reflux. *J Hum Genet.* 61835-8.2016
- 11) Sangu N, Okamoto N, Shimojima K, Ondo Y, Nishikawa M, Yamamoto T. A de novo microdeletion in a patient with inner ear abnormalities suggests that the 10q26.13 region contains the

responsible gene.Hum Genome
Var3160082016

- 12) Okamoto N, Toribe Y, Shimojima K, Yamamoto T.Tatton-Brown-Rahman syndrome due to 2p23 microdeletion.Am J Med Genet A.170A1339-42.2016
- 13) Miyake N, Tsurusaki Y, Koshimizu E, Okamoto N, Kosho T, Jane Brown N, Yang Tan T, Jia Jiunn Yap P, Suzumura H, Tanaka T, Nagai T, Nakashima M, Saitsu H, Niikawa N, Matsumoto N.Delineation of clinical features in Wiedemann-Steiner syndrome caused by KMT2A mutations.Clin Genet89115-92016
- 14) Shimojima K, Ondo Y, Nishi E, Mizuno S, Ito M, Ioi A, Shimizu M, Sato M, Inoue M, Okamoto N, Yamamoto T.Loss-of-function mutations and global rearrangements in GPC3 in patients with Simpson-Golabi-Behmel syndrome.Hum Genome Var3160332016
- 15) Hamada N, Negishi Y, Mizuno M, Miya F, Hattori A, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Tabata H, Saitoh S, Nagata KI.Role of a heterotrimeric G-protein, Gi2, in the corticogenesis: Possible involvement in periventricular nodular heterotopia and intellectual disability.J Neurochem14092-952017

2. 学会発表
該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

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

真性小頭症の発症機序に関する研究

研究分担者 松浦 伸也
国立法人大学広島大学 原爆放射線医科学研究所 教授

研究要旨

WDR62 欠損症は真性小頭症を引き起こす。本研究により、ゲノム編集法を用いて、*WDR62* を原因とする小頭症のモデル細胞を樹立して、分裂期キナーゼ PLK1 による真性小頭症原因遺伝子産物 WDR62 のリン酸化を介した細胞分裂軸制御機構を明らかにした。

A. 研究目的

真正小頭症は、重度小頭症を特徴とする常染色体劣性の遺伝病である。これまでに 13 原因遺伝子が同定されており、そのほぼすべてが中心体に局在することが知られている。しかし、その分子機能は不明な点が多く、細胞レベルでの小頭症発症メカニズムの理解は十分には進んでいない。これまでに、日本人真性小頭症 1 家系の同胞 2 例に *WDR62* 遺伝子の c.731 C>T (p. Ser244Leu) ミスセンス変異と c.2413G>T (p. Glu805X) ナンセンス変異との複合ヘテロ変異を同定した。昨年までに、ゲノム編集法を用いて、*WDR62* を原因とする小頭症のモデル細胞を樹立して、*WDR62* が水平方向の紡錘体軸の維持に関わることを明らかにした。そこで平成 28 年度は、*WDR62* による紡錘体軸維持機構を解明することを目的とした。

B. 研究方法

WDR62 を原因遺伝子とする日本人真性小頭症家系を経験した。*WDR62* を介した細胞分裂軸維持機構を明らかにする。

(倫理面への配慮)

本研究では、頻度が稀な疾患の患者とその家系のゲノム DNA を使用するため、個人情報保護を必要とする。研究代表者は「広島大学ヒトゲノム研究倫理審査委員会」に申請して既に承認を得ている（課題名：先天異常症候群の病因遺伝子と病態に関する研究、承認番号：第ヒ-94 号）。

C. 研究結果

WDR62 を介した細胞分裂軸維持機構を明らかにする目的で、細胞分裂軸安定化を担う分裂期キナーゼ PLK1 による *WDR62* リン酸化制御を検討

した。まず、免疫沈降法により、PLK1 キナーゼと *WDR62* が物理的に相互作用することを確認した。次に、*WDR62* の 4 カ所の PLK1 リン酸化予測アミノ酸のリン酸化抵抗型変異体を *WDR62* 欠損細胞に導入して、細胞分裂軸安定化に必要な *WDR62* 上の PLK1 リン酸化部位を探索・同定した。さらに、*WDR62* の PLK1 リン酸化疑似変異体は、PLK1 阻害剤 BI2536 処理下でも正常な細胞分裂軸を維持することが明らかになった。これらの結果から、PLK1 は *WDR62* のリン酸化を介して紡錘体を細胞接地面に対して水平に維持することが示唆された。

D. 考察

ヒトの神経発生において、神経幹細胞は均等分裂により十分な幹細胞数を確保した後、不均等分裂によってニューロンを産生することで正常な脳サイズが規定されている。本研究により *WDR62* 欠損による小頭症発症のメカニズムが明らかになった。

E. 結論

ゲノム編集法を用いて、*WDR62* を原因とする小頭症のモデル細胞を樹立して、分裂期キナーゼ PLK1 による真性小頭症原因遺伝子産物 *WDR62* のリン酸化を介した細胞分裂軸制御機構を明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shimada K, Yanagisawa R, Kubota N, Hidaka E, Sakashita K, Ishii E, Matsuura S, Ogiso Y. Wilms tumor accompanied by premature chromatid separation. *Pediatr Blood Cancer*. Epub 2016 Sep 24, DOI: 10.1002/pbc.26255

- 2) Matsuura S, Royba E, Akutsu SN, Ynanagihara H, Ochiai H, Kudo Y, Tashiro H, Miyamoto T. Analysis of individual differences in radiosensitivity using genome editing. *Ann ICRP*. 2016 Mar 24
2. 学会発表
- 1) 小林純也 松浦伸也 他 低線量率放射線照射による細胞内 ROS 上昇と DNA 損傷応答との関係 第 59 回日本放射線影響学会 (広島) 2016 年 10 月
 - 2) 河村香寿美 松浦信也 他 日本人 AT-LD 患者における *MRE11* 変異部位と DNA 損傷応答異常との関係 第 59 回日本放射線影響学会 (広島) 2016 年 10 月
 - 3) 福満啓博 松浦信也 他 遺伝性小頭症の原因遺伝子 *WDR62* による細胞分裂軸制御機構 第 59 回日本放射線影響学会 (広島) 2016 年 10 月
 - 4) Zaharieva Elena Shinya Matsuura 他 Inflammatory response in primary human endothelial cells subjected to gamma irradiation at different dose rates 第 59 回日本放射線影響学会 (広島) 2016 年 10 月
 - 5) 宮本達雄 松浦信也 他 *ATM* ヘテロ遺伝子変異は放射線感受性個人差に寄与する 第 59 回日本放射線影響学会 (広島) 2016 年 10 月
 - 6) 柳原啓見 松浦信也 他 ゲノム編集法を用いた *NBS1* SNP 導入細胞の作製と放射線感受性の評価 第 59 回日本放射線影響学会 (広島) 2016 年 10 月
 - 7) 福満啓博 松浦信也 他 分裂期キナーゼ *PLK1* による真性小頭症原因遺伝子産物 *WDR62* のリン酸化を介した細胞分裂軸制御機構 第 39 回
 - 8) 宮本達雄 松浦信也 他 ゲノム編集技術を用いた放射線発がんリスクの個人差を規定する遺伝素因としての *ATM* ヘテロ遺伝子変異の同定 第 39 回日本分子生物学会 (横浜) 2016 年 11 月
 - 9) Kosuke Hosoba, Shinya Matsuura et al. Generation of PCS(MVA) syndrome-mutation knock-in mice using CRISPR/Cas9 system and ssODN mediated genome editing technology 第 39 回日本分子生物学会 (横浜) 2016 年 11 月
 - 10) Tatsuo Miyamoto, Shinya Matsuura et al. Effect of *ATM* heterozygous mutations on individual differences of radiosensitivity in human populations 第 75 回日本癌学会学術総会 (横浜) 2016 年 10 月
 - 11) Shinya Matsuura, et al. Molecular basis of human *BUBR1* deficiency, a central protein of the spindle assembly checkpoint 第 75 回日本癌学会学術総会 (横浜) 2016 年 10 月
 - 12) Shinya Matsuura, et al. *ATM* heterozygous mutations underlying individual differences in radiosensitivity in human populations. ASHG2016 (Vancouver) October, 2016
 - 13) Kosuke Hosoba, Shinya Matsuura et al. Generation of PCS (MVA) syndrome mutation knock-in mice using CRISPR/Cas9-mediated genome editing technology. ASHG2016 (Vancouver) October, 2016
 - 14) Tatsuo Miyamoto, Shinya Matsuura et al. A combined approach of exome sequencing and genome editing identified *WDR62/MCPH2* mutations in patients with primary microcephaly. ASHG2016 (Vancouver) October, 2016
 - 15) 宮本達雄 松浦信也 他 CRISPR/Cas9 システムと ssODN を用いた遺伝性小頭症モデル細胞の樹立 第 1 回日本ゲノム編集学会 (広島) 2016 年 9 月
 - 16) 宮本達雄 松浦信也 他 全エクソーム解析とゲノム編集法を用いた遺伝性小頭症の発症機構の解析 第 57 回原子爆弾後障害研究会 (長崎) 2016 年 6 月
 - 17) 福満啓博 松浦信也 他 真性小頭症発症機構の分子遺伝学的解析 第 41 回中国地区放射線影響研究会 (広島) 2016 年 7 月
 - 18) Yoshinori Masatsuna, Shinya Matsuura et al. *WDR62/MCPH2* mutations identified in patients with primary microcephaly by a combined approach of exome sequencing and genome editing technology. ICHG2016 (Kyoto) April, 2016
 - 19) Ekaterina Royba, Shinya Matsuura et al. Evaluation of individual differences of radiosensitivity using genome editing. The 1st International Symposium of the network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science. (Hiroshima) February, 2017
 - 20) Ekaterina Royba, Shinya Matsuura et al. Genome editing technique as a useful tool for analysing individual differences

of radiosensitivity. The 6th International symposium of Phoenix Leader Education Program for Renaissance from Radiation Disaster (Hiroshima) February, 2017

- 21) Shinya Matsuura; Current research of low dose radiation effects in Hiroshima. GAP related meeting between Hiroshima University and the University of Texas DM Anderson Cancer Center (Hiroshima) July, 2016
- 22) Harumi Fujita, Shinya Matsuura et al. Genetic characterization of a patient with a progeroid phenotype and mosaic variegated aneuploidy. KEYSTONE SYMPOSIA MEETING, Aging and Mechanism of Aging-Related Disease (Yokohama) May, 2017
- 23) Shinya Matsuura genome editing. The 1st International Symposium of the network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science. (Hiroshima) February, 2017
- 24) Ekaterina Royba, Shinya Matsuura et al. Genome editing technique as a useful tool for analysing individual differences of radiosensitivity. The 6th International symposium of Phoenix Leader Education Program for Renaissance from Radiation Disaster (Hiroshima) February, 2017
- 25) Shinya Matsuura; Current research of low dose radiation effects in Hiroshima. GAP related meeting between Hiroshima University and the University of Texas DM Anderson Cancer Center (Hiroshima) July, 2016
- 26) Harumi Fujita, Shinya Matsuura et al. Genetic characterization of a patient with a progeroid phenotype and mosaic variegated aneuploidy. KEYSTONE SYMPOSIA MEETING, Aging and Mechanism of Aging-Related Disease (Yokohama) May, 2017

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

該当なし

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

過成長を主徴とする奇形症候群に関する研究

研究分担者 副島 英伸
国立大学法人佐賀大学医学部 分子生命科学講座 教授

研究要旨

過成長を主徴とする奇形症候群としてBeckwith-Wiedemann症候群（BWS）とSotos症候群（SS）の遺伝子解析を行った。H28年度中に解析したBWS症例数は14例で、これまでの総解析数は215例となった。国内最大の解析数であり、これにより本邦BWSの発症原因別頻度が明らかとなった。SS症例で低メチル化を示す2カ所のインプリントDMRについて、培養細胞を用いてメチル化と遺伝子発現の関連性を解析したところ、DMRのメチル化の低下に伴い遺伝子の発現量が増加していた。NSD1変異によりインプリントDMRの低メチル化が生じ遺伝子発現が上昇することがSSの症状と関連する可能性が示唆された。

研究協力者

東元 健：佐賀大学医学部・助教
八木ひとみ：佐賀大学医学部・技術専門職員

A. 研究目的

本研究では、過成長を主徴とする奇形症候群として Beckwith-Wiedemann 症候群（BWS）と Sotos 症候群（SS）を対象とし、患者検体を用いた遺伝子解析（ゲノム解析およびエピゲノム解析）を行い、ゲノム・エピゲノム異常と病態の関連性について解明する。さらに、これらの結果を通して、エビデンスに基づいた診療指針の確立・普及および遺伝子変異データの蓄積に貢献する。

BWS は、過成長、巨舌、臍ヘルニアを三主徴とする過成長症候群の一つで、11p15.5 のインプリント異常により発症するインプリンティング疾患である。BWS の主要な発症原因は、KvDMR1 低メチル化（loss of methylation : LOM）、HI9DMR 高メチル化(gain of methylation : GOM)、11 番染色体の父性片親性ダイソミー（paternal uniparental disomy : patUPD）、CDKN1C の機能喪失変異、11p15 の染色体構造異常(重複、転座、逆位等)が知られている。BWS は Wilms 腫瘍や肝芽腫をはじめとする胎児性腫瘍が発生しやすいことが知られているが、腫瘍の発生頻度は上述の発症原因のタイプ毎に異なる。具体的には、HI9DMR-GOM と patUPD の腫瘍発生頻度は25%以上、KvDMR1-LOM と CDKN1C 変異は5%程度と大きな違いがある。胎児性腫瘍のリスクを判定し、腫瘍の早期発見を診療に反映させるためには、個々の症例の遺伝子解析を行い発症原因のタイプを確定することが重要である。当研究

室では、2012 年より有償で BWS 症例の遺伝子解析を行っている（トリオ解析で5万円）。

SS は、過成長、骨年齢促進、特異顔貌、精神遅滞を特徴とすることから、症状の一部が BWS とオーバーラップする。ヒストン H3 リジン 36 のモノ・ジメチル化（H3K36me1・H3K36me2）酵素をコードしている NSD1 のハプロ不全が原因である。NSD1 のハプロ不全による H3K36me3 の減少は、DNA メチル化酵素 DNMT3A のリクルートに影響を与え、DNA メチル化レベルを低下させ、その結果、標的遺伝子の発現に影響を及ぼし症状が出現すると考えられる。NSD1 変異がインプリント DMR の DNA メチル化に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1. Beckwith-Wiedemann 症候群（BWS）の解析

上述の3つの診断基準のうちいずれかに合致する BWS 症例の末梢血由来ゲノム DNA を用いた。KvDMR1-LOM と HI9DMR-GOM については、メチル化感受性サザンブロットあるいは bisulfite-pyrosequencing 法で解析した。patUPD については、11p15 の Short tandem repeat (STR) マーカー (DIIS1997, HUMTH01, DIIS1984) を PCR で増幅したのち、Applied Biosystems 3130 genetic analyzer で電気泳動し、GeneMapper software で各アレル由来 PCR 産物のピーク高を計測してモザイク率を算出した。CDKN1C 変異については、全コーディングエクソンをサンガー法にて解析

した。

2. Sotos 症候群 (SS) の解析

SS 症例の約半数で異常低メチル化を示す *IGF2*-DMR0 と *IG*-DMR-GC6 について、培養細胞 HEK293 (ヒト胎児腎由来)、TCL-1 および HTR8 (ヒト trophoblast 由来) を用いて、DMR のメチル化異常との関連するインプリント遺伝子の発現量を解析した。細胞を DNA 脱メチル化剤 5-Aza-2'-deoxycytidine (5-aza-CdR) 存在下で 7 培養したのち、DMR のメチル化状態を bisulfite-pyrosequence 法で解析した。また、遺伝子発現量を real time-RT-PCR で定量的に解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、佐賀大学医学部倫理委員会、佐賀大学医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会の承認を受けて実施した。人権擁護上の配慮、不利益・危険性の排除などの詳細な説明を行い、書面により同意を得たうえで検体収集を行った。

C. 研究結果

1. BWS の解析

前述の診断基準のいずれかに合致する BWS で、H28 年度中に解析した症例数は 14 例で、これまでの総解析数は 215 例であった (2017 年 3 月 31 日現在)。遺伝子解析の結果を表 1 に示す。

表 1 発症原因別頻度 (n = 215)

発症原因	症例数	頻度
<i>Kv</i> DMR1-LOM	69	32%
<i>H19</i> DMR-GOM	14	7%
patUPD	48	22%
<i>CDKN1C</i> 変異	14	7%
Trisomy 11	8	4%
既知の異常なし	62	28%

今年度は新規の *CDKN1C* 変異によって発症した症例 (c.263_286del, p.Pro88_Val95del, (RefSeq: NM_000076.2)) を一例見いだした。

2. SS の解析

5-Aza-CdR 処理により、*IGF2*-DMR0 と *IG*-DMR GC6 で脱メチル化が誘導され、*IGF2*-DMR0 で制御されるインプリント遺伝子 *IGF2* は 5-6 倍程度、*IG*-DMR-GC6 で制御されるインプリント遺伝子 *MEG3* は数百倍、*MEG8* は数十倍、発現量が増加していた。

D. 考察

遺伝子解析を行った BWS 症例数 215 例は国内最大の解析数であり、これにより本邦 BWS の発症原因別頻度が明らかとなった。

SS の解析に関しては、インプリント遺伝子 *IGF2* は増殖因子をコードし、その過剰発現は過成長を呈する BWS を惹起することから、SS の過成長と関連する可能性が示唆された。一方、*IG*-DMR-GC6 の低メチル化は精神発達遅滞を呈する Temple 症候群で認められることから、SS の精神遅滞と関連する可能性が示唆された。

E. 結論

過成長を主徴とする奇形症候群として、BW と SS の遺伝子解析を行った。BWS の有償遺伝子解析は国内の患児・家族のニーズに応じて今後も解析を続け臨床現場にフィードバックしていきたい。SS では、過成長の原因となりうる DMR のメチル化異常と遺伝子発現増加を同定した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Ohtsuka Y, Higashimoto K, Oka T, Yatsuki H, Jozaki K, Maeda T, Kawahara K, Hamasaki Y, Matsuo M, Nishioka K, Joh K, Mukai T, Soejima H. Identification of consensus motifs associated with mitotic recombination and clinical characteristics in patients with paternal uniparental isodisomy of chromosome 11. *Hum Mol Genet.* 25(7):1406–1419, 2016
- Rumbajan JM, Yamaguchi Y, Nakabayashi K, Higashimoto K, Yastuki H, Nishioka K, Matsuoka K, Aoki S, Toda S, Takeda S, Seki H, Hatada I, Hata K, Soejima H, Joh K. The *HUS1B* promoter is hypomethylated in the placentas of low-birth-weight infants. *Gene,* 583(2):141-146, 2016
- Ito Y, Maehara K, Kaneki E, Matsuoka K, Sugahara N, Miyata T, Kamura H, Yamaguchi Y, Kono A, Nakabayashi K, Migita O, Higashimoto K, Soejima H, Okamoto A, Nakamura H, Kimura T, Wake N, Taniguchi T, Hata K. Novel Nonsense Mutation in the *NLRP7* Gene Associated with Recurrent Hydatidiform Mole. *Gynecol Obstet Invest,* 81(4):353-358, 2016
- 大塚泰史, 副島英伸. モザイク病、インプリンティング. 腎と透析. 82(3):356-362, 2017

2. 学会発表

- Hidaka H, Higashimoto K, Takara Y, Takedomi H, Okamoto N, Kawakubo H, Yamamoto K,

- Yamanouchi K, Koga Y, Iwakiri R, Noshiro H, Fujimoto K, Soejima H. Comprehensive methylation analysis of imprinting-associated differentially methylated regions in colorectal cancer. 24th United European Gastroenterology Week. 2016.10.15-19. Vienna, Austria
- 2) Hidaka H, Higashimoto K, Aoki S, Watanabe H, Yatsuki H, Nishioka K, Joh K, Maeda T, Koga Y, Iwakiri R, Noshiro H, Fujimoto K, Soejima H. Comprehensive methylation analysis of imprinting-associated differentially methylated regions in colorectal cancer. The 13th International Congress of Human Genetics. 2016.4.3-7. Kyoto International Conference Center, Japan
- 3) Aoki S, Higashimoto K, Hidaka H, Watanabe H, Ohtsuka Y, Mishima H, Yoshiura KI, Yatsuki H, Nishioka K, Joh K, Ohba T, Katabuchi H, Soejima H. Aberrant methylation at imprinted DMRs is associated with placental mesenchymal dysplasia. The 13th International Congress of Human Genetics. 2016.4.3-7. Kyoto International Conference Center, Japan
- 4) Okamoto N, Miya F, Nishioka K, Soejima H, Tsunoda T, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K. Novel MCA/ID syndrome with ASH1L mutation. The 13th International Congress of Human Genetics. 2016.4.3-7. Kyoto International Conference Center, Japan
- 5) 長崎啓祐、東元健、相馬規子、今村勝、齋藤昭彦、副島英伸。DIS3L2 複合ヘテロ変異を同定した長期生存 Perlman 症候群の 1 例。第 39 回日本小児遺伝学会学術集会 2016.12.9-10。慶應義塾大学三田キャンパス
- 6) 渡邊英孝、東元健、三宅紀子、前田寿幸、樋高秀憲、青木早織、八木ひとみ、西岡憲一、城圭一郎、松本直通、副島英伸。ソトス症候群とベックウィズ・ビーデマン症候群でオーバーラップする表現型の原因探索。第 39 回日本小児遺伝学会学術集会 2016.12.9-10。慶應義塾大学三田キャンパス
- 7) 堀いくみ、河村理恵、中林一彦、家田大輔、大橋圭、根岸豊、服部文子、杉尾嘉嗣、涌井敬子、黒澤健司、秦健一郎、副島英伸、齋藤伸治。CTCF 遺伝子欠失を認めた 2 女児の臨床的および遺伝学的検討。第 39 回日本小児遺伝学会学術集会 2016.12.9-10。慶應義塾大学三田キャンパス
- 8) 渡邊英孝、東元健、三宅紀子、前田寿幸、樋高秀憲、青木早織、八木ひとみ、西岡憲一、城圭一郎、森田純代、堀居拓郎、木村美香、畑田出穂、松本直通、副島英伸。NSDI ハプロ不全は DNA メチル化インプリント異常と遺伝子発現異常を惹起する。第 39 回日本分子生物学会年会 2016.11.30-12.2。パシフィコ横浜
- 9) 樋高秀憲、東元健、古賀靖大、副島英伸。大腸癌におけるインプリント DMR の包括的メチル化解析 (Comprehensive methylation analysis of imprinting-associated differentially methylated regions in colorectal cancer)。第 75 回日本癌学会学術総会 2016.10.6-8。パシフィコ横浜
- 10) 青木早織、東元健、樋高秀憲、大塚泰史、渡邊英孝、三嶋博之、吉浦孝一郎、大場 隆、片渕秀隆、副島英伸。間葉性異形成胎盤のゲノム・エピゲノム解析。第 10 回日本エピジェネティクス研究会年会 2016.5.19-20。千里ライフサイエンスセンター
- 11) 樋高秀憲、東元健、青木早織、渡邊英孝、前田寿幸、古賀靖大、岩切龍一、能城浩和、藤本一眞、副島英伸。大腸癌におけるインプリント DMR の包括的メチル化解析。第 10 回日本エピジェネティクス研究会年会 2016.5.19-20。千里ライフサイエンスセンター
- 12) 東元健、八木ひとみ、副島英伸。DNA メチル化異常不一致を示す一卵性 2 絨毛膜 2 羊膜双胎の Beckwith-Wiedemann syndrome。第 23 回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会 2016.9.24。長崎大学医学部良順会館
- 13) 青木早織、東元健、樋高秀憲、大塚泰史、渡邊英孝、三嶋博之、吉浦孝一郎、八木ひとみ、西岡憲一、城圭一郎、大場 隆、片渕秀隆、副島英伸。間葉性異形成胎盤のゲノム・エピゲノム解析。三大学次世代コンソーシアム 2016.2.13。熊本大学

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

歌舞伎症候群の新規原因遺伝子の探索

研究分担者 吉浦 孝一郎

国立大学法人長崎大学 原爆後障害医療研究所人類遺伝学研究分野 教授

研究要旨

臨床的に歌舞伎症候群として診断された症例において、KMT2D遺伝子とKDM6A遺伝子の両原因遺伝子に変異が認められない例が存在する。そのような変異陰性例2トリオを解析した。いずれも親は、歌舞伎症候群の症状は示しておらず、子は de novo 変異、または常染色体劣性の可能性が想定される。本2トリオについて全ゲノムシーケンスを実施し、KMT2D遺伝子とKDM6A遺伝子以外の遺伝子の de novo 変異による疾患発症の可能性を探った。

研究協力者氏名：三嶋博之 長崎大学原爆後障害医療研究所・助教

A. 研究目的

臨床症状から歌舞伎症候群と診断される例の中に、原因遺伝子として確立されているKMT2D遺伝子とKDM6A遺伝子に変異が認められない例が~10%程度存在している。遺伝子変異の可能性としては、1. KMT2D遺伝子またはKDM6A遺伝子領域のエピゲノム変異による発現低下 2. 両遺伝子以外の原因遺伝子（新規原因遺伝子）による新生突然変異（de novo変異） 3. 両遺伝子以外の原因遺伝子（新規原因遺伝子）によるホモ接合変異（homozygous mutation）もしくは複合ヘテロ接合変異（compound heterozygous mutation）の3つの可能性が想定される。2トリオについて全ゲノムシーケンスを実施し可能性2の新規原因遺伝子による変異の可能性を探索した。

B. 研究方法

2トリオについて Illumina 社の HiSeq を用いて塩基配列情報を取得した。得られたデータは、Novoalign ソフトウェアパッケージにより参照ヒトゲノム配列 hg38 へマッピングを行った。参照配列として東北メディカル・メガバンクが公開している日本人デコイ配列（JRGv1）も併せて使用した。また同パッケージにて塩基品質値補正、データ整列および duplicate シーケンス除去を行い BAM ファイルを得た。さらに Genome Data Toolkit (GATK) を用いて、depth 計測および単塩基変化（SNV）・挿入欠失（indel）の検出を行い VCF ファイルを得た。VCF ファイルから de novo 変異で QUAL 値>300, GQ 値≥90 を指標として pick up した。検出された de novo 変異は、

ANNOVAR ソフトウェアパッケージによって注釈付けした。ゲノム上の segmental duplication 領域（両端 500bp をのぞく）は解析から除外した。

（倫理面への配慮）

解析に用いた2組のトリオは、全ゲノムシーケンスに関するインフォームド・コンセントを得て解析を実施している。また解析に関するゲノム研究倫理審査は、長崎大学の許可のもとで実施した。

C. 研究結果

解析対象領域 3,088,269,832 bp（hg38 における chr1-22, X, Y）について、平均 depth は、第一家系（KT 家系）について 29.93x、第二家系（SK8 家系）について 30.00x であった。

全ゲノムを対象としたとき検出された de novo 変化は、KT家系では43,978 SNV、17,303 indel であった。SK8家系では50,513 SNV、19,341 indel であった。

さらに一般集団（東北メディカル・メガバンク2KJPN、京都大学HGVD、ExAC、NHLBI-ESP、1000ゲノムプロジェクト）での非参照配列塩基頻度（AAF）が0.5%を越えず、かつ遺伝子産物のアミノ酸変化を伴うものに絞りこんだ。その結果KT家系では52 SNV、19 indel であり、SK8家系では29 SNV、21 indel であった。2家系に共通の遺伝子変化は見つからなかった。

D. 考察

Illumina社の短配列解析（short read sequence）

は、indel でない塩基変化に関しては抜群の精度を誇り、GATKが算出する変異存在に関する統計学的な信頼性の指標 (QUAL値, GQ値y) が十分に機能する。したがって、de novo として選択されたうちFam1の9 SNV, Fam2の3 SNVは、本物のde novo変異と考えられる。しかし、Fam1 とFam2 の重ね合わせ (overlying) でも共通の変異遺伝子は見つからなかった。

基本的には、短配列解析であるIllumina社の機器では、indel の存在信頼性の指標が無いため、Fam1の19 indel, Fam2の21 indelは、ほとんどが偽、つまり実際には存在しないのde novo indelであることが多い。それでも、新規原因変異遺伝子が見つかる可能性を考え、Overlyingしたが、共通の変異遺伝子は見つからなかった。特に、KMT2D遺伝子/KDM6A遺伝子周辺は、イントロン部に注目してindel検索を行ったが、みつかることはできなかった。

KMT2D 遺伝子/KDM6A 遺伝子変異陰性歌舞伎症候群例は、KMT2D 遺伝子/KDM6A 遺伝子領域のエピゲノム異常、新規原因遺伝子の変異、Illumina の次世代シーケンサーで検出さない、あるいは塩基配列決定自体が行えていない部分の塩基変異/構造異常が考えられる。

E. 結論

KMT2D 遺伝子/KDM6A 遺伝子変異陰性歌舞伎症候群例が~10%程度存在していると考えられる。これらの症例で新規原因遺伝子の de novo 変異を想定して、全ゲノムシーケンス解析を行ったが、新規原因変異は見つからなかった

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nikitski A, Rogounovitch T, Bychkov A, Takahashi M, Yoshiura KI, Mitsutake N, Kawaguchi T, Matsuse M, Drozd VM, Demidchik YE, Nishihara E, Hirokawa M, Miyauchi A, Rubanovich AV, Matsuda F, Yamashita S, Saenko VA. Genotype analyses in the Japanese and Belarusian populations reveal independent effects of rs965513 and rs1867277 but do not support the role of FOXE1 polyalanine tract length in conferring risk for papillary thyroid carcinoma. *Thyroid* 27(2): 224-235, 2016. doi:10.1089/thy.2015.0541.
- 2) Uchiyama Y, Nakashima M, Watanabe S, Miyajima M, Taguri M, Miyatake S, Miyake N, Saitsu H, Mishima H, Kinoshita A, Arai H, Yoshiura K, Matsumoto N. Ultra-sensitive droplet digital PCR for detecting a low-prevalence somatic GNAQ mutation in

Sturge-Weber syndrome. *Sci Rep* 6:22985, 2016. doi:10.1038/srep22985.

- 3) Koga T, Migita K, Sato S, Umeda M, Nonaka F, Kawashiri SY, Iwamoto N, Ichinose K, Tamai M, Nakamura H, Origuchi T, Ueki Y, Masumoto J, Agematsu K, Yachie A, Yoshiura K, Eguchi K, Kawakami A. Multiple Serum Cytokine Profiling to Identify Combinational Diagnostic Biomarkers in Attacks of Familial Mediterranean Fever. *Medicine (Baltimore)* 95(16): e3449, 2016. doi:10.1097/MD.0000000000003449.
- 4) Watanabe S, Shimizu K, Ohashi H, Kosaki R, Okamoto N, Shimajima K, Yamamoto T, Chinen Y, Mizuno S, Dowo Y, Shiomi N, Toda Y, Tashiro K, Shichijo K, Minatozaki K, Aso S, Minagawa K, Hiraki Y, Shimokawa O, Matsumoto T, Fukuda M, Moriuchi H, Yoshiura K, Kondoh T. Detailed analysis of 26 cases of 1q partial duplication/triplication syndrome. *Am J Med Genet A* 170(4): 908-917, 2016. doi:10.1002/ajmg.a.37496.
- 5) Dateki S, Watanabe S, Nakatomi A, Kinoshita E, Matsumoto T, Yoshiura K, Moriuchi H. Genetic background of hyperphenylalaninemia in Nagasaki, Japan. *Pediatr Int* 2016 May;58(5): 431-433. doi:10.1111/ped.12924.
- 6) Mussazhanova Z, Akazawa Y, Matsuda K, Shichijo K, Miura S, Otsubo R, Oikawa M, Yoshiura KI, Mitsutake N, Rogounovitch T, Saenko V, Kozykenova Z, Zhetpisbaev B, Shabdarbaeva D, Sayakenov N, Amantayev B, Kondo H, Ito M, Nakashima M. Association between p53-binding protein 1 expression and genomic instability in oncocytic follicular adenoma of the thyroid. *Endocr J* 63(5): 457-467. 2016. doi:10.1507/endocrj.EJ15-0629.
- 7) Migita K, Izumi Y, Jiuchi Y, Iwanaga N, Kawahara C, Agematsu K, Yachie A, Masumoto J, Fujikawa K, Yamasaki S, Nakamura T, Ubara Y, Koga T, Nakashima Y, Shimizu T, Umeda M, Nonaka F, Yasunami M, Eguchi K, Yoshiura K, Kawakami A. Familial Mediterranean fever is no longer a rare disease in Japan. *Arthritis Res Ther* 18: 175, 2016. doi:10.1186/s13075-016-1071-5.
- 8) Wada H, Matsuda K, Akazawa Y, Yamaguchi Y, Miura S, Ueki N, Kinoshita A, Yoshiura K, Kondo H, Ito M, Nagayasu T, Nakashima M. Expression of Somatostatin Receptor Type 2A and PTEN in Neuroendocrine Neoplasms Is Associated with Tumor Grade but Not with Site of Origin. *Endocr Pathol* 27(3): 179-187, 2016. doi:10.1007/s12022-016-9436-5.
- 9) Konomoto T, Imamura H, Orita M, Tanaka E, Moritake H, Sato Y, Fujimoto S, Harita Y, Hisano S, Yoshiura KI, Nunoi H. Clinical and

histological findings of autosomal dominant renal-limited disease with LMX1B mutation. *Nephrology (Carlton)*. 21(9): 765-773, 2016. doi:10.1111/nep.12666.

- 10) Miura K, Mishima H, Yasunami M, Kaneuchi M, Kitajima M, Abe S, Higashijima A, Fuchi N, Miura S, Yoshiura KI, Masuzaki H. A significant association between rs8067378 at 17q12 and invasive cervical cancer originally identified by a genome-wide association study in Han Chinese is replicated in a Japanese population. *J Hum Genet* 61(9): 793-796, 2016.
- 11) Matsuda K, Tateishi S, Akazawa Y, Kinoshita A, Yoshida S, Morisaki S, Fukushima A, Matsuwaki T, Yoshiura KI, Nakashima M. Rapid growth of mitotically active cellular fibroma of the ovary: a case report and review of the literature. *Diagn Pathol* 11(1): 101, 2016. doi:10.1186/s13000-016-0554-7

2. 学会発表

1. 国内学会

- 1) 第一回放射線災害・医科学研究拠点カンファレンス, 平成 28 年 6 月 4 日 (土), 長崎大学良順会館専斎ホール, 長崎. 長崎大学における Initiative on Rare and Undiagnosed Disease in Pediatrics (IRUD-P)解析についての報告. 吉浦孝一郎, 木下 晃, 三嶋博之, 林田知佐, 近藤達郎, 渡邊順子, 伊達木澄人, 要 匡, 松原洋一 (口頭, 国内)
- 2) 第二十三回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会, 平成 28 年 9 月 24 日 (土), 長崎大学良順会館ボードインホール, 長崎. IRUD-P 解析プログラムで判明した FG 症候群を疑われた家族発症例の原因変異. 前川隆太, 佐藤智生, 吉浦孝一郎, 近藤達郎 (口頭, 国内)

2. 国際学会

- 3) The international Congress of Human Genetics (ICHG2016) April 3 (sun) – 7 (Thu), Kyoto International Conference Center, Japan. Mon(2)-P48: Evaluation of genome-wide association study-identified SNPs at 4q12, 17q12, and 6p21.32 with cervical cancer susceptibility in a Japanese population. Kiyonori Miura, Hiroyuki Mishima, Shuhei Abe, Yuko Murakami, Naoki Fuchi, Ai Higashijima, Yuri Hasegawa, Shoko Miura, Masako Masuzaki, Masanori Kaneuchi, Koh-ichiro Yoshiura, Hideaki Masuzaki.
- 4) The international Congress of Human Genetics (ICHG2016) April 3 (sun) – 7 (Thu), Kyoto International Conference Center, Japan. Mon(2)-P109: Bio-Virtuso: A package

of Docker containers for multiple source data retrieval, RDF conversion, and triplestore deployment in a simplified manner. Hiroyuki Mishima, Koh-ichiro Yoshiura.

- 5) The international Congress of Human Genetics (ICHG2016) April 3 (sun) – 7 (Thu), Kyoto International Conference Center, Japan. Tue(3)-P213: Mutations in the patients with Nakajo Nishimura Syndrome-like autoinflammatory diseases. Akira Kinoshita, Nobuo Kanazawa, Noriko Kinjo, Hiroyuki Mishima, Koh-ichiro Yoshiura.
- 6) The international Congress of Human Genetics (ICHG2016) April 3 (sun) – 7 (Thu), Kyoto International Conference Center, Japan. Tue(3)-P232: Aberrant methylation at imprinted DMRs is associated with placental mesenchymal dysplasia. Saori Aoki, Ken Higashimoto, Hidenori Hidaka, Hidetaka Watanabe, Yasufumi Ohtauka, Mishima Hiroyuki, Koh-ichiro Yoshiura, Hitomi Yatsuki, Kenichi Nishioka, Keiichiro Joh, Takashi Ohba, Hidetaka Katabuchi, Hidenobu Soejima.
- 7) The international Congress of Human Genetics (ICHG2016) April 3 (sun) – 7 (Thu), Kyoto International Conference Center, Japan. Wed(4)-P291: Circulation levels of C19Mc-cluster microRNAs in pregnant women with abruptio placenta. Yuri Hasegawa, Kiyonori Miura, Ai Higashijima, Yuko Murakami, Ozora Tsukamoto, Shuhei Abe, Naoki Fuchi, Shoko Miura, Atsushi Yoshida, Hiroyuki Mishima, Akira Kinoshita, Koh-ichiro Yoshiura, Hideaki Masuzaki.
- 8) The international Congress of Human Genetics (ICHG2016) April 3 (sun) – 7 (Thu), Kyoto International Conference Center, Japan. Wed(4)-P293: Normal ranges of plasma concentrations of pregnancy-associated microRNAs during pregnancy. Yuko Murakami, Kiyonori Miura, Ai Higashijima, Naoki Fuchi, Shuhei Abe, Yuri Hasegawa, Atsushi Yoshida, Masanori Kaneuchi, Yuko Murakami, Ozora Tsukamoto, Shoko Miura, Hiroyuki Mishima, Akira Kinoshita, Koh-ichiro Yoshiura, Hideaki Masuzaki.

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。健康危険情報なし。

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

ハーラーマン・ストライフ症候群

研究分担者 沼部 博直
国立大学法人お茶の水女子大学 基幹研究院自然科学系 教授

研究要旨

ハーラーマン・ストライフ症候群は、小眼球、凸形の鼻堤、乏毛を呈する原因不明の先天奇形症候群である。本邦における本症の疫学的情報ならびに自然歴を明らかとすべく、患者・家族会からの情報収集、ならびに全国の小児病院・大学病院等の主に周産期・小児科領域の医師延べ281名に対して、診療経験の有無やその時期、主な症状などについてアンケート調査を行い、確定診断例5例、疑診例3例のあることが判明した。患者会に入会している成人例を含めると本邦においては8名以上の患者が存在することが確認された。この調査結果も参考に、本症の医学的管理指針を策定した。

A. 研究目的

本年度は、ハーラーマン・ストライフ症候群の全国における有病率ならびにその自然歴を収集し、evidence basedな診断基準、医学的管理指針の策定を行うことを目的とした。

B. 研究方法

ハーラーマン・ストライフ症候群の自助団体である「唯結」の年次総会に研究代表者である小崎健次郎教授、研究分担者である小崎里華医長とともに賛助会員として参加し、医療相談に応ずるとともに、許可を得て現在までの症状などの推移の聴取を行った。

一方で、本症候群を継続的に診療している可能性の高い全国の臨床遺伝医や小児科医の勤務する延べ281施設を対象に、2016年に診療経験の有無、診療時期、当時の患者年齢、診断基準に含まれる症状の有無などにつき、匿名でのアンケート調査を行った。

(倫理面への配慮)

今回のアンケート項目には患者の個人情報は一切含まれないよう留意した。

C. 研究結果

事前研究としてハーラーマン・ストライフ症候群の診断基準案を作成し、必須症状の有無から確定診断例と疑診例とに分類した。この診断基準案を用いて、アンケートを実施した結果、49施設から回答が寄せられ、確定診断例5例、疑診例3例があることが判明した。確定診断例については、全て主治医から詳細な情報提供も可能との回答も付記されていた。

上記確定診断例のうち、2例は患者家族ならびに主治医からの回答により、本症候群患者自助団体「唯結」に入会していることが判明した。

「唯結」に所属している成人患者で今回のアン

ケート調査に報告されている例の確認は出来なかった。なお、「唯結」には必ずしも確定診断の診断基準を満たさない症例も含まれている。

D. 考察

今回の調査により、少なくとも5名の小児期診断例が存在することが判明する一方で、本症候群患者自助団体「唯結」の成人を中心とする会員にも確定診断例が3名確認されているところから、本邦においては8名以上の症例が存在することが確実となった。

今回のアンケート調査は主に小児科医を対象としたものであったため、眼症状により眼科を中心に受診している症例や、呼吸障害などにより内科や耳鼻咽喉科などでフォローされている症例は把握できていない可能性が高い。

E. 結論

小児科を中心とするアンケート調査ならびに患者自助団体年次総会への参加による調査の結果、本邦においては少なくとも8名のハーラーマン・ストライフ症候群患者が存在することが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

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

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

平成27年度特定医療費（指定難病）の受給者証所持者数調査

研究分担者 樋野村 亜希子
国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 難病研究資源研究室 技術補助員

研究要旨

平成27年1月の「難病の患者に対する医療等に関する法律」の施行に伴い、新たな医療費助成の対象となる指定難病が選定され、同年1月に110疾病、7月に196疾病が施行となった。医療費助成の対象は、これまでの特定疾患56疾病から合計306疾病に大きく拡充されたが、実際の受給者はどれほどの人数になったのか。特定医療費（指定難病）の受給者証所持者数について、施行後初年度となる平成27年度衛生行政報告例から調査した。

研究協力者 倉田真由美 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 政策・倫理研究室
主任研究員

A. 研究目的

平成27年1月の「難病の患者に対する医療等に関する法律（以下、「難病法」）」の施行に伴い、同年1月に110疾病、7月に196疾病が医療費助成の対象となり、対象疾病は難病法施行以前の旧事業における特定疾患56疾病から306疾病へと拡充された。

指定難病の医療費助成対象は、客観的かつ公平であることを目指し、全ての対象疾病において診断基準・重症度分類が定められ、医療費助成対象者数は、平成23年度末の56疾病約78万人から、平成27年度は約150万人を見込んで検討が行われてきた。

そこで、施行初年度である平成27年度衛生行政報告例の特定医療費（指定難病）受給者証所持者数から、難病法施行後の医療費助成制度の実態について調査し、よりよい制度の在り方について検討する。

B. 研究方法

（1）調査対象：政府統計のポータルサイト（e-Stat）に公開されている、衛生行政報告例より、難病法施行後初年度となる平成27年度の特定医療費（指定難病）受給者証所持者数と、難病法施行以前の医療費助成制度である平成24～26年度の特定疾患（難病）医療受給者証所持者数を対象とした。

衛生行政報告例は、衛生関係諸法規の施行に伴う各都道府県、指定都市及び中核市における衛生行政の実態を把握し、衛生行政運営の基礎資料を得ることを調査目的としたものである。その対象は特定疾患（難病）関係の他に、精神保健福祉関係、栄養関係、衛生検査関係、生活衛生

関係、食品衛生関係、乳肉衛生関係、医療関係、薬事関係、母体保護関係、狂犬病予防関係に及ぶ。調査系統は、都道府県知事、指定都市及び中核市の長が所定の報告事項について定められた期限までに、厚生労働省政策統括官（統計・情報政策担当）に提出するという流れとなっている。

①平成27年度衛生行政報告例（平成28年11月17日公表、平成28年12月10日取得）

<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001162868>

②平成26年度衛生行政報告例（平成27年11月5日公表、平成28年12月10日取得）

<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001139201>

③平成25年度衛生行政報告例（平成26年10月30日公表、平成28年12月10日取得）

<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001127716>

④平成24年度衛生行政報告例（平成25年10月24日公表、平成28年12月10日取得）

<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001114932>

（2）解析方法

①指定難病のうち、本研究班の研究対象疾病に該当する20疾病について、平成27年度の特定医療費（指定難病）受給者証所持者数の年齢階級別及び都道府県別をそれぞれ抽出した。

②平成24～26年度の特定疾患（難病）医療受給者証所持者数と、指定難病のうち旧事業（特定疾患治療研究事業）においても医療費助成の対象となっていた疾病（65疾病）の平成27年度の

特定医療費（指定難病）受給者証所持者数を抽出した。

（倫理面への配慮）

行政として公開されている情報の利用であり、問題は無い。

C. 研究結果

（1）平成27年度特定医療費（指定難病）受給者証所持数（抜粋）

平成27年度衛生行政報告例から、特定医療費（指定難病）受給者証所持数について、本研究班の対象である20疾病を抜粋したものを、表1（年齢階級別）及び表2（都道府県別）に示した。また、当該20疾病が小児慢性特定疾病において同一疾病名にて医療費助成対象となっているかも知示した。

平成27年度末現在における特定医療費（指定難病）受給者証所持者総数は、全指定難病306疾病で943,460人であった。研究班対象の20疾病では、最も受給者証所持者が多かった疾病はマルファン症候群の297人であり、最も少なかった疾病は、ウィーバー症候群・アペール症候群、ヤング・シンプソン症候群の3疾病で0人であった。

当該20疾病のうち、小児慢性特定疾病においても同一疾病名にて医療費助成対象となっているものは15疾病あったが、そのうち5疾病（マルファン症候群、ヌーナン症候群、チャージ症候群、アンジェルマン症候群、ソトス症候群）では、0～9歳の年齢階級において受給者証所持者がいた。

（2）特定疾患（旧事業）との比較

難病法施行以前の難病医療費助成は、特定疾患治療研究事業（旧事業）として56疾病が対象となっていた。旧事業の56疾病のうち、スモン・難治性の肝炎のうちの劇症肝炎・重症急性膵炎の3疾病については、指定難病の要件を満たしていないと考えられると判断されたが、53疾病は指定難病の要件を満たすと判断され、一部疾病名が変更された上で平成27年1月より第一次実施分指定難病の対象疾病として65疾病が施行されている。そこで、これら旧事業における53疾病と指定難病における65疾病を対象とし、特定疾患から指定難病への変更前後での、医療受給者証所持者数を比較した（表3）。ただし、平成26年度末の衛生行政報告例は、難病法の施行（平成27年1月1日）により、「スモン」「難治性の肝炎のうちの劇症肝炎」「重症

急性膵炎」の3疾病を除く疾病は特定疾患治療研究事業の対象外となったため、平成26年度末現在の数を集計したものである。

平成26年度末現在における特定疾患（難病）医療受給者証所持者総数は、56疾病で925,646人、平成27年度末現在における特定医療費（指定難病）受給者証所持者数は、65疾病で900,568人であった。

D. 考察

指定難病が施行されて初年度となる平成27年度の特定医療費（指定難病）受給者証所持者数は、指定難病の選考時期に見込んでいた150万人に及ばない943,460人となった。受給者証所持者数を比較すると、旧事業の最終年度である平成26年度の受給者証所持者数925,646人からの増減率は1.9%であった。

平成27年度においては、受給者証所持者数が0人の疾病も少なくはなかった。しかし重要なことは、受給者証所持者数が多いかどうかではない。指定難病の選考には、これまで研究班等で研究が進められてきた成果の集約ともいえるものである。長期的な登録状況の確認が必要であろう。

指定難病と関連のある医療費助成として、難病法と同日に施行された「児童福祉法の一部を改正する法律」において規定されている小児慢性特定疾病がある。小児慢性特定疾病についても、平成27年1月1日から対象疾病が704疾病に拡充している。

助成の内容が指定難病と異なることから、指定難病と小児慢性特定疾病の両方で対象となっている疾病の未成年の患者は、小児慢性特定疾病での医療費助成申請が主となるのではないかと推定していたが、指定難病での受給者証所持者がいる疾病があった。考えられる理由として、小児慢性特定疾病の医療費助成対象基準と指定難病の診断基準・重症度分類の違い、診断する医師が両制度それぞれで指定医として認定されているか等が考えられるが、過渡期であることも含め、現状では詳細は不明である。

今後、指定難病の臨床調査個人票の研究利用による実態把握、また臨床調査個人票と小児慢性特定疾病の医療意見書の状況比較などを通じ、医療費助成制度として、助成対象とすべき症状の患者がもれていないか等を確認されていくことが望まれる。

指定難病においては、本研究の研究対象としてきた、先天異常症候群（1q部分重複症候群、9q34欠失症候群、コルネリア・デランゲ症候群、スミス・レムリ・オピッツ症候群）が、平成29年4月1日より第三次実施分として新たに施行

された。疾病名としては「先天異常症候群」で1つだが、臨床調査個人票は疾病ごとに4つ存在する形式となっており、第一次・第二次で選定された他の先天異常症候群の疾病と形式が異なっている。

また、平成27年度より実施されている小児慢性特定疾病のうち、染色体又は遺伝子に変化を伴う症候群の「1から6までに掲げるもののほか、常染色体異常（ウィリアムズ症候群及びプラダー・ウィリ症候群を除く。）」という包括的な細分類(疾患名)を置くという形式もある。

このような形式の違いも含め、研究の推進に伴い新たな疾患が見いだされ、医療費助成対象とするべき症状であったとき、どのような形で法の枠に当てはめていくのがよいのか、というアプローチについても今後検討が望まれる。

E. 結論

難病法施行に伴う医療費助成対象の変更によって、特定医療費受給者所持者数の移行状況を把握するには、旧事業の特定医療費受給者証所持者数との比較だけでは十分ではない。今後、臨床調査個人票の研究利用等によって、精査していくことが必要であると考えられる。

また、小児慢性特定疾病の医療費助成状況と合わせて実態を確認することで、制度間の課題が抽出されるのではないかと考える。課題とされている小児から成人へのトランジションの状況把握に加え、このような観点からの精査を実施することで、小児慢性特定疾病及び指定難病のよりよい制度の充実につながると思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 樋野村亜希子、倉田真由美、小原有弘、松山晃文 指定難病はどのように選考されたのかー難病対策の検討委員会における検討過程の要点整理ー [前篇]. 難病と在宅ケア. Vol.22 No.11 : pp.36-39, 2017.3
- 2) 樋野村亜希子、倉田真由美、小原有弘、松山晃文 指定難病はどのように選考されたのかー難病対策の検討委員会における検討過程の要点整理ー [後篇]. 難病と在宅ケア. Vol.22 No.12 : pp.44-47, 2017.3

2. 学会発表

- 1) Akiko Hinomura, Makoto Hirata, Mayako Tada, Sanae Tanaka, Ryuichi Sakate, Arihiro Kohara, Akifumi Matsuyama. Rare Disease Bank in Japan: To Progress Drug Development Researches. The 8th Asian Network of Research Resource Centers (ANRRC) International Meeting, Kyoto, Sep.20-22, 2016
- 2) 樋野村亜希子、倉田真由美、小原有弘、松山晃文、小崎健次郎 「テキストマイニングによる新たな難病対策の要点整理と課題抽出」第39回日本小児遺伝学会学術集会 東京 2016年12月9-10日

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)なし

表1 平成27年度特定医療費（指定難病）年齢階級・対象疾患別受給者証所持者数（研究班対象抜

	告示番号	167	281	168	195	105	179	201	178	102	103	104	200	176	181	185	194	187	175	182	196
	小児慢性特定疾患との疾病名の一覧	○		○	○	○	○	○		○	○	○		○	○		○	○	○	○	
	総数	マルファン症候群	クリッペル・トレノナー・ウェーバー症候群	エーラス・ダンロス症候群	ヌーナ症候群	チャージ症候群	ウイリアムズ症候群	アンジェアルマン症候群	モット・ウィルソン症候群	ルビンシュタイン・テイビ症候群	CFC症候群	コステロ症候群	第14番染色体父親性ダイノミー症候群	コフィン・ローリー症候群	クルーゾン症候群	コフィン・シルス症候群	ソトス症候群	歌舞伎症候群	ウィーバー症候群	アペール症候群	ヤング・シンプソン症候群
全年齢階級	943,460	297	78	64	18	10	8	8	7	3	3	3	3	2	2	2	2	1	-	-	-
0～9歳	1,114	1	12	-	3	4	-	1	3	-	-	-	2	-	-	1	1	-	-	-	-
10～19歳	10,384	24	22	3	3	5	2	4	4	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-
20～29歳	46,123	57	12	16	4	1	4	3	-	2	3	3	-	2	-	1	1	-	-	-	-
30～39歳	85,735	70	8	19	6	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
40～49歳	132,937	75	14	15	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50～59歳	135,485	46	5	8	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60～69歳	206,860	20	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
70～74歳	108,283	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75歳以上	216,539	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

粋)

表2 平成27年度特定医療費（指定難病）対象疾患・都道府県別受給者証所持者数（研究班対象抜粋)

	告示番号	167	281	168	195	105	179	201	178	102	103	104	200	176	181	185	194	187	175	182	196
	小児慢性特定疾患との疾病名の一覧	○		○	○	○	○	○		○	○	○		○	○		○	○	○	○	
	総数	マルファン症候群	クリッペル・トレノナー・ウェーバー症候群	エーラス・ダンロス症候群	ヌーナ症候群	チャージ症候群	ウイリアムズ症候群	アンジェアルマン症候群	モット・ウィルソン症候群	ルビンシュタイン・テイビ症候群	CFC症候群	コステロ症候群	第14番染色体父親性ダイノミー症候群	コフィン・ローリー症候群	クルーゾン症候群	コフィン・シルス症候群	ソトス症候群	歌舞伎症候群	ウィーバー症候群	アペール症候群	ヤング・シンプソン症候群
全国	943,460	297	78	64	18	10	8	8	7	3	3	3	3	2	2	2	2	1	-	-	-
北海道	52,892	17	3	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
青森	10,082	2	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
岩手	10,073	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
宮城	17,975	1	3	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
秋田	8,966	7	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
山形	7,925	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
福島	13,937	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-
茨城	18,347	5	2	2	-	-	2	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
栃木	13,160	2	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
群馬	13,377	1	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
埼玉	45,853	23	5	2	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
千葉	43,346	16	2	2	1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
東京	88,340	53	6	8	2	3	2	2	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
神奈川	60,100	5	6	2	-	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
新潟	18,849	2	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
富山	8,193	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
石川	9,339	4	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福井	6,029	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
山梨	4,417	2	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
長野	15,567	13	1	4	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
岐阜	13,106	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
静岡	26,593	5	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
愛知	44,746	10	1	3	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
三重	14,318	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
滋賀	10,155	3	2	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
京都	22,221	6	1	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
大阪	69,933	25	4	7	1	1	-	1	1	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
兵庫	39,361	7	3	4	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
奈良	12,025	5	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
和歌山	8,125	5	-	2	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
鳥取	4,980	9	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
島根	6,135	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
岡山	17,562	5	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
広島	22,191	14	2	3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
山口	12,693	3	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
徳島	6,517	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
香川	8,668	5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
愛媛	11,413	2	4	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
高知	6,509	-	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福岡	38,402	10	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
佐賀	6,905	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
長崎	13,726	4	4	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
熊本	15,113	6	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
大分	10,302	2	5	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
宮崎	10,243	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
鹿児島	14,939	2	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
沖縄	9,812	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表3 平成24～26年度対象疾患別 特定疾患受給者証所持数、及び
平成27年度対象疾患別 特定医療費（指定難病）受給者証所持者数（抜粋）

特定疾患(旧事業)					指定難病			
疾患名	平成24年度	平成25年度	平成26年度 ※1	平成27年度 (合算)※2	増減率(%)	平成27年度	疾患名	
1	パーチエット病	18,636	19,147	20,035	19,244	-3.9	←	パーチエット病
2	多発性硬化症	17,073	18,082	19,389	19,645	1.3	←	多発性硬化症／視神経髄炎
3	重症筋無力症	19,670	20,691	22,108	22,242	0.6	←	重症筋無力症
4	全身性エリテマトーデス	60,122	61,528	63,622	62,988	-1.0	←	全身性エリテマトーデス
5	スモン	1,524	1,473	1,425	-	-	-	-
6	再生不良性貧血	10,287	10,428	11,152	10,505	-5.8	←	再生不良性貧血
7	サルコイドーシス	23,088	24,487	26,763	24,645	-7.9	←	サルコイドーシス
8	筋萎縮性側索硬化症	9,096	9,240	9,950	9,434	-5.2	←	筋萎縮性側索硬化症
9	強皮症、皮膚筋炎及び多発性筋炎	47,310	49,631	52,715	51,817	-1.7	←	30,786 全身性強皮症 21,031 皮膚筋炎／多発性筋炎
10	特発性血小板減少性紫斑病	24,100	24,956	27,445	25,236	-8.0	←	特発性血小板減少性紫斑病
11	結節性動脈周囲炎	9,610	10,674	12,057	11,953	-0.9	←	3,442 結節性多発動脈炎 8,511 顕微鏡的多発血管炎
12	潰瘍性大腸炎	143,733	155,116	170,781	166,085	-2.7	←	潰瘍性大腸炎
13	大動脈炎候群	5,881	6,101	6,420	6,119	-4.7	←	高安動脈炎
14	ビュルガー病	7,109	6,979	7,043	6,401	-9.1	←	バーンジャー病
15	天疱瘡	5,279	5,596	6,070	5,777	-4.8	←	天疱瘡
16	脊髄小脳変性症	25,447	26,250	27,582	26,767	-3.0	←	脊髄小脳変性症(多系統萎縮症を除く。)
17	クローン病	36,418	38,271	40,885	41,279	1.0	←	クローン病
18	難治性の肝炎のうちの劇症肝炎	266	253	284	-	-	-	-
19	悪性関節リウマチ	6,255	6,433	6,697	6,185	-7.6	←	悪性関節リウマチ
20	パーキンソン病関連疾患(進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症、パーキンソン病)	120,406	126,211	136,559	134,813	-1.3	←	121,966 パーキンソン病 8,895 進行性核上性麻痺 3,952 大脳皮質基底核変性症
21	アミロイドーシス	1,802	2,016	2,281	2,304	1.0	←	全身性アミロイドーシス
22	後縦靭帯骨化症	33,346	35,700	39,416	37,805	-4.1	←	後縦靭帯骨化症
23	ハンチントン病	851	897	933	899	-3.6	←	ハンチントン病
24	モヤモヤ病(ウイルス動脈輪閉塞症)	15,177	16,086	17,436	17,172	-1.5	←	モヤモヤ病
25	ウェグナー肉芽腫症	1,942	2,176	2,430	2,534	4.3	←	多発血管炎性肉芽腫
26	特発性拡張型(うっ血型)心筋症	25,233	26,556	28,446	27,831	-2.2	←	特発性拡張型心筋症
27	多系統萎縮症(線条体黒質変性症、オリブ橋小脳萎縮症、シャイ・ドレーガー症候群)	11,733	11,956	12,741	11,712	-8.1	←	多系統萎縮症
28	表皮水疱症(接合部型及び栄養障害型)	347	353	366	332	-9.3	←	表皮水疱症
29	膿疱性乾癬	1,843	1,938	2,052	2,034	-0.9	←	膿疱性乾癬(汎発型)
30	広範脊柱管狭窄症	5,147	5,632	6,436	5,906	-8.2	←	広範脊柱管狭窄症
31	原発性胆汁性肝硬変	19,701	21,013	22,381	22,145	-1.1	←	原発性胆汁性肝硬変
32	重症急性膵炎	1,664	1,730	1,829	-	-	-	-
33	特発性大腿骨頭壊死症	15,388	16,035	17,918	16,575	-7.5	←	特発性大腿骨頭壊死症
34	混合性結合組織病	10,146	10,539	11,005	10,811	-1.8	←	混合性結合組織病
35	原発性免疫不全症候群	1,383	1,458	1,598	1,582	-1.0	←	原発性免疫不全症候群
36	特発性間質性肺炎	7,367	7,697	8,846	9,104	2.9	←	特発性間質性肺炎
37	網膜色素変性症	27,158	27,937	29,330	26,987	-8.0	←	網膜色素変性症
38	プリオン病	475	487	584	445	-23.8	←	プリオン病
39	肺動脈性肺高血圧症	2,299	2,587	2,946	3,017	2.4	←	2,999 肺動脈性肺高血圧症 18 肺静脈閉塞症／肺毛細血管腫症
40	神経線維腫症	3,588	3,794	4,075	4,060	-0.4	←	神経線維腫症
41	亜急性硬化性全脳炎	83	88	83	74	-10.8	←	亜急性硬化性全脳炎
42	バット・キアリ(Budd-Chiari)症候群	252	264	293	289	-1.4	←	バット・キアリ症候群
43	慢性血栓性肺高血圧症	1,810	2,140	2,511	2,829	12.7	←	慢性血栓性肺高血圧症
44	ライゾーム病(ファブリー[Fabry]病含む。)	911	967	1,061	1,116	5.2	←	ライゾーム病
45	副腎白質ジストロフィー	193	195	210	221	5.2	←	副腎白質ジストロフィー
46	家族性高コレステロール血症(ホモ接合体)	140	155	166	168	1.2	←	家族性高コレステロール血症(ホモ接合体)
47	脊髄性筋萎縮症	712	797	894	874	-2.2	←	脊髄性筋萎縮症
48	球脊髄性筋萎縮症	960	1,094	1,223	1,230	0.6	←	球脊髄性筋萎縮症
49	慢性炎症性脱髄性多発神経炎	3,423	4,018	4,633	4,676	0.9	←	慢性炎症性脱髄性多発神経炎／多異性運動ニューロパシー
50	肥大型心筋症	3,144	3,616	4,146	4,527	9.2	←	肥大型心筋症
51	拘束型心筋症	24	31	35	61	74.3	←	拘束型心筋症
52	ミトコンドリア病	1,087	1,246	1,439	1,481	2.9	←	ミトコンドリア病
53	リンパ脈管筋腫症(LAM)	526	586	689	744	8.0	←	リンパ脈管筋腫症
54	重症多形滲出性紅斑(急性期)	59	68	123	199	61.8	←	154 スティーヴンス・ジョンソン症候群 45 中毒性表皮壊死症
55	黄色靱帯骨化症	2,360	3,088	4,238	4,718	11.3	←	2,606 下垂体性ADH分泌異常症 157 下垂体性TSH分泌亢進症 2,524 下垂体性PRL分泌亢進症 802 クッシング病 232 下垂体性ゴナドトロピン分泌亢進症 4,068 下垂体性成長ホルモン分泌亢進症 12,582 下垂体前葉機能低下症
56	間脳下垂体機能障害(PRL分泌異常症、ゴナドトロピン分泌異常症、ADH分泌異常症、下垂体性TSH分泌異常症、クッシング病、先端巨大症、下垂体機能低下症)	17,069	19,204	21,871	22,971	5.0	←	
総数※3		810,653	855,061	925,646	900,568	-2.7	←	
総数(スモン・難治性の肝炎のうちの劇症肝炎・重症急性膵炎を除く)		807,199	851,605	922,108	900,568	-2.3	←	

※1 難病法の施行(平成27年1月1日)により、「スモン」「難治性の肝炎のうちの劇症肝炎」「重症急性膵炎」の3疾病を除く疾病は特定疾患治療研究事業の対象外となったため、平成26年末現在の数を集計されている。「スモン」「難治性の肝炎のうちの劇症肝炎」「重症急性膵炎」の3疾病については平成26年度末現在の数字を集計されたものである。

※2 旧事業の医療費助成(特定疾患治療研究事業)における疾病名と異なり、指定難病においては疾病名が複数に及んだ場合、旧事業との疾病名の対比を考慮して合算した。

※3 本表における総数とは、平成24～26年度については旧事業の医療費助成(特定疾患治療研究事業)における対象疾病(56疾病)の総数を、平成27年度は指定難病のうち旧事業においても医療費助成の対象となっていた疾病(65疾病)の総数を示す。

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

脆弱X症候群、脆弱X症候群関連疾患の診療指針作成に関する研究

研究分担者 難波 栄二
国立大学法人鳥取大学 生命機能研究支援センター 教授

研究要旨

脆弱X症候群関連疾患および脆弱X症候群は、指定難病になっているが、その患者数は少なく、日本人での患者の特徴を明らかにできていない。今後、日本人患者への診療指針を作成していくためには、広く診断を普及させる必要がある。また、これらの疾患ではCGG繰り返し配列の長さやメチル化の程度が症状や治療とも関連するために、正確な測定法の普及が必要となる。また、これらの測定を踏まえた診療指針を策定する必要がある。さらに、CGG繰り返し配列の長さにより、それらに応じた遺伝カウンセリング体制について検討する必要がある。そこで、本研究ではCGG繰り返し配列の診断法、検査結果の詳細な説明ならびに遺伝カウンセリング体制について検討した。

研究協力者

足立 香織、鳥取大学生命機能研究支援センター、助教
岡崎 哲也、鳥取大学医学部脳神経小児科、助教

A. 研究目的

脆弱X症候群（FXS）は、知的障害、自閉症、細長い顔、大耳介などの症状をもち、*FMR1*遺伝子のCGG繰り返し配列の延長（200リピート以上）で発症する。先行研究からは、本疾患は日本では男性の1万人に1人の頻度で、数千人の患者がいると推定される。しかし、本疾患では知的障害以外の特徴が目立たない例が多いため、実際に診断されている患者は少ない。

脆弱X症候群関連疾患は、脆弱X随伴振戦/失調症候群（FXTAS）、脆弱X関連早期卵巣機能不全（FXPOI）があり、CGG繰り返し配列が55～200リピートをもつ脆弱X症候群の家系の方の一部に発症する。FXTASは小脳失調、振戦、パーキンソニズムなどを示し、パーキンソン病、神経核内封入体病などとの鑑別が必要である。本疾患は脆弱X症候群家系に一定の頻度で発症する。日本では脆弱X症候群の診断が少ないこともあり、実際にFXTASと診断されている患者は少ないと考えられる。

脆弱X症候群関連疾患（告示番号205）ならびに脆弱X症候群（告示番号206）は、平成27年7月1日に指定難病となった。そこで、本研究では、これらの疾患に関する学際的・網羅的検討を行い、日本人患者やその家族に対する診療指針を作成することを目的とする。

診断法の検討：CGG繰り返し配列の長さやメチル化が症状や治療などに関連する可能性があるために、正確な測定法の普及が必要となる。

我々が1995年に開発した診断法、また商業ベースでの検討を行い、FragilEaseキット（PerkinElmer社）などの導入を図って来た。さらに、CGG繰り返し配列内に存在するAGG繰り返し配列も、遺伝カウンセリングには必要となる場合がある。CGが非常に多い配列の特徴から、従来のキャピラリーシーケンス法では正確なCGG繰り返し配列の塩基決定は困難である。そのために、最近普及し始めたナノポアシーケンサーMinION（Oxford Nanopore社）での検討を開始している。

そして、このCGG繰り返し配列の検査結果は、その長さによって家系への影響も異なり、その説明が重要となる。最終的に診療指針を策定するためにも説明内容が重要となる。

そこで今回は、検査結果の説明についての検討を行い、その案を策定したので報告する。

B. 研究方法

アメリカでの検討などを元にして、

1. *FMR1*遺伝子解析結果: full mutation（全変異）
2. *FMR1*遺伝子解析結果: pre-mutation（前変異）
3. *FMR1*遺伝子解析結果: intermediate（中間型）に分けて作成した。

C. 研究結果

1. *FMR1* 遺伝子解析結果: full mutation（全変異）（案）

【*FMR1* 遺伝子のCGGリピート数解析結果】

full mutation（全変異）のリピート回数である、●回の延長を認めました。

脆弱 X 症候群は、*FMR1* 遺伝子にある通常 6-40 回の繰り返し塩基配列である CGG リピート数が、200 回以上に延長することが原因です。日本ではまだ脆弱 X 症候群と診断される患者さんは少ないのですが、欧米では発達遅滞/知的障害の原因として、多くの患者さんの報告があり、研究が進んでいます。日本でも、診断される患者さんが増え、管理などの点で有用な情報が増えてくることが期待されています。脆弱 X 症候群については、難病情報センターのホームページもご参照下さい

(<http://www.nanbyou.or.jp/entry/4612>)。また、この遺伝子解析の結果は一生変化することはありませんので、この結果は大切に保管して下さい。

< 遺伝に関すること >

脆弱 X 染色体は遺伝子の変化により生じる疾患なので、今回の結果から、お母さん(検査を受けられた方が女性の場合にはお父さんが後述する pre-mutation を有する可能性もあります:以下*の場合と記載)や兄弟あるいは姉妹が遺伝子の変化を有している可能性が分かります。

FMR1 遺伝子は X 染色体にあります。今回の解析結果でリピート数延長は、full mutation (全変異: リピート数 200 回以上)あるいは pre-mutation (前変異: リピート数 55-200) のいずれかを有するお母さん (*の場合にはお父さんが pre-mutation を有する可能性もあります) から引き継いだと考えられます。

まず、お母さんが full mutation (全変異) を有している場合、半数のお母さんは無症状ですが、残りの半数の方は程度に差はありますが、知的障害の症状を有するとされています。また、次のお子さんをお考えの場合や今回検査を受けた方に兄弟あるいは姉妹がいる場合、男児であれば 2 分の 1 の確率で脆弱 X 症候群、女児であれば 2 分の 1 の確率でお母さんと同じ遺伝子の変化を引き継ぐ、あるいは引き継いでいることとなります。

一方、お母さん (*場合はお父さんの可能性もあります) が pre-mutation (前変異) を有する場合には脆弱 X 症候群とは症状が異なる、脆弱 X 症候群関連振戦/失調症候群 (FXTAS) という、50 歳を超えた頃から震えやふらつき、認知症を呈する疾患を来たす方がいることが知られています。また、女性では 40 歳までに閉経がみられてしまう、早期卵巣不全 (POF) を来たす方がいることが知られています。

脆弱 X 症候群のお子様をお持ちのお母さん (*の場合はお父さんも) で、上記の疾患を疑うような症状がでてきた場合には、神経内科や産婦人科の先生の診察を受けて下さい。

また、次のお子さんや今回検査を受けた方に兄弟あるいは姉妹がいる場合、遺伝子の変化をそのまま引き継ぐ場合と、リピート数が延長する場合があります。延長があった場合には、男児では脆弱 X 症候群の症状をきたす可能性もあります。延長がなければ、男女ともに将来的に FXTAS、女児であれば POF を発症する可能性があります。

遺伝に関することで、さらなる情報をお知りになりたい場合や不安を感じていらっしゃる場合には、遺伝カウンセリング実施施設へ相談することをお勧めします。現在遺伝カウンセリングの実施施設は全国にあり、下記ホームページからお近くの施設を検索することができます。遺伝子医療体制検索システム <http://www.idenshiiryoubumon.org/search/>

2. *FMR1* 遺伝子解析結果: pre-mutation (前変異) (案)

【*FMR1* 遺伝子の CGG リピート数解析結果】pre-mutation (前変異) のリピート回数である、●回の延長を認めました。

FMR1 遺伝子にある通常 6-40 回の繰り返し塩基配列である CGG リピート数が 55~200 回に延長している方では、脆弱 X 症候群関連振戦/失調症候群 (FXTAS) という、50 歳を超えた頃から震え、ふらつきや認知症を呈する疾患を来たす方がいることが知られています。また、女性では、40 歳までに卵巣の問題による月経の停止がみられてしまう、早期卵巣不全 (POF) を来たす方がいることが知られています。

日本ではまだ患者さんが少ないのですが、欧米では多くの報告があり、研究が進んでいます。日本でも、診断される患者さんが増え、有用な情報が増えてくることが期待されています。

脆弱 X 症候群関連振戦/失調症候群 (FXTAS) については、難病情報センターのホームページもご参照下さい

(<http://www.nanbyou.or.jp/entry/4615>)。また、この遺伝子解析の結果は一生変化することはありませんので、この結果は大切に保管して下さい。

< 遺伝に関すること >

遺伝子の変化であることから、今回の結果から、ご両親のいずれか、また、兄弟あるいは姉妹が遺伝子の変化を有している可能性が分かります。

FMRI 遺伝子は X 染色体にあります。今回検査を受けた方に見られたリピート数延長は、pre-mutation (前変異: リピート数 55-200)、あるいは intermediate (中間型) のいずれかを有するご両親のいずれかから引き継いだと考えられます。

pre-mutation (前変異) を有する場合、脆弱 X 症候群関連振戦/失調症候群 (FXTAS) や女性であれば、早期卵巣不全 (POF) を来たす方がいることが知られています。これらの疾患を疑うような症状がでてきた場合には、神経内科や産婦人科の先生の診察を受けて下さい。

また、兄弟あるいは姉妹、あるいはお子さんは、遺伝子の変化をそのまま引き継ぐ場合と、リピート数が延長する場合があります。延長があった場合には、男児では脆弱 X 症候群の症状をきたす可能性があります。延長がなければ、男女ともに将来的に FXTAS、女児であれば POF を発症する可能性があります。

遺伝に関することで、さらなる情報をお知りになりたい場合や不安を感じていらっしゃる場合には、遺伝カウンセリング実施施設へ相談することをお勧めします。現在遺伝カウンセリングの実施施設は全国にあり、下記ホームページからお近くの施設を検索することができます。遺伝子医療体制検索システム

<http://www.idenshiiryoubumon.org/search/>

3. *FMRI* 遺伝子解析結果: intermediate (中間型) (案)

【*FMRI* 遺伝子の CGG リピート数解析結果】
intermediate (中間型) のリピート回数である、●回の延長を認めました。

正常よりもやや長い「中間型」と呼ばれる回数の繰り返し配列が見つかりました。脆弱 X 症候群や脆弱 X 関連振戦/失調症候群、早期卵巣不全などは *FMRI* 遺伝子にある通常 6-40 回の繰り返し塩基配列である CGG リピート数が、55 回以上に延長することが原因です。

今回の解析で見られた *FMRI* 遺伝子の中間型のリピート配列回数では、ご自身に症状はみられないのですが、世代を経るとリピート回数が延長する場合があります (ご自身の子、ご自身の孫ということになります)。一世代で極端に延長することはないとされ、早くても次世代 (子) で pre-mutation (前変異)、次々世代 (孫) で full mutation (全変異) となります。反対に延長をせずに伝わることもあります。

pre-mutation (前変異) を持つ方では、男女ともに脆弱 X 症候群関連振戦/失調症候群 (FXTAS) という、50 歳を超えた頃から震えや

ふらつきを呈する疾患を来たす方がいることが知られています。女性では 40 歳までに卵巣の問題による月経の停止がみられてしまう早期卵巣不全 (POF) を来たす方がいることが知られています。full mutation (全変異) を有する男児では脆弱 X 症候群の症状を来たすことが分かっています。

遺伝に関することで、さらなる情報をお知りになりたい場合や不安を感じている場合には、遺伝カウンセリング実施施設へ相談することをお勧めします。現在遺伝カウンセリングの実施施設は全国にあり、下記ホームページからお近くの施設を検索することができます。また、この遺伝子解析の結果は一生変化することはありませんので、この結果は大切に保管して下さい。遺伝子医療体制検索システム

<http://www.idenshiiryoubumon.org/search/>

D. 考察

FXS、FXTAS などの診断を行った場合に、その家族への遺伝カウンセリングは重要な課題となり、診療指針にも必須の項目となる。現段階では、遺伝子解析結果を受け取った時に、その解釈さらに家族への説明について、多くの主治医が対応について苦慮する可能性がある。そのために、今回はその説明文章について検討を行った。通常の検査結果に加えて、遺伝に関する詳しい説明が必要となる。さらに、「中間型」という悩ましい検査結果が出てくることがある。この中間型は、FXS や FXTAS の診断よりも頻度が高い。中間型をもつ家系では、その段階では特に病気の心配をしなくて良いとの結論になるが、十分に遺伝について理解していないと、その家系に大きな混乱をもたらす可能性がある。

そのために、本案を元にさらにブラッシュアップし、主治医への正確な遺伝の情報を伝えるものを作成していく。そして、これらも含めた診療指針を作成していく方針である。

E. 結論

診療指針の作成のために、*FMRI* 遺伝子の CGG 繰り返し配列の診断法を改良するとともに、その結果についての説明文章案を策定した。特に中間型については、誤解のないように伝える必要があるため、さらにブラッシュアップしたものの策定を目指し、普及させる。最終的に、この内容を含んだ診療指針の作成を目指す。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表

なし

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