

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等政策（難治性疾患政策研究事業） 分担研究報告書

1. 骨系統疾患の遺伝子変異と臨床的表現型に関する研究

研究代表者 澤井 英明 兵庫医科大学教授

骨系統疾患は単一遺伝子変異による疾患がほとんどであるが、その遺伝子変異と臨床的表現型については必ずしも明確でない。そこで指定難病または小児慢性特定疾病の骨系統疾患（骨形成不全症、軟骨無形成症、2型コラーゲン異常症、低ホスファターゼ症、大理石病）について、遺伝子変異を検索し、それと臨床的表現型がどのように関連しているかを調べる。具体的にはこれらの疾患の患者を診療している施設の遺伝子検査を希望する患者に検査を実施し、同時に調査用紙により表現型を分析して、その関連を調べた。結果をとりまとめた 2型コラーゲン異常症について報告する。

A. 研究目的

本研究の目的は、骨系統疾患の遺伝子変異と臨床的表現型の関連を調べて、診療に役立てることである。本研究の意義は、これらの関連が明確になることで患者の早期診断・早期治療に役立つ可能性があることである。全国の施設で診療されていて遺伝子検査を必要とする患者に同意を得て、前向き研究として実施する。

B. 研究方法

1) 指定難病または小児慢性特定疾病の骨系統疾患（骨形成不全症、軟骨無形成症、2型コラーゲン異常症、低ホスファターゼ症、大理石病）の患者を診療している全国の小児科と整形外科（小児整形外科を含む）に案内を送付し、本研究にお

いて遺伝子検査をできるので、必要とするまたは希望する患者がいれば、連絡をもらう。なお、上記の骨系統疾患は疾患と遺伝子が異なるので、各疾患ごとに案内を送付することとする。

2) 遺伝子検査を実施する場合には、その患者あるいは代諾者の同意を得て、臨床表現型を調査用紙（内容は添付ファイルを参照）に記入してもらい、それと検体（末梢血 EDTA 採血で 10ml）を本学に送付してもらう。

3) 本学に届いた検体は、2型コラーゲン異常症については、倫ヒ 113 にて承認されている(株)エスアールエルで Sanger 法による遺伝子検査を実施し、それ以外の疾患については本学で Sanger 法または次世代シーケンサー法により遺伝

子検査を実施する。1型コラーゲン遺伝子、FGFR3 遺伝子、組織非特異的アルカリホスファターゼ遺伝子、空胞型プロトンポンプ a3 サブユニットをコードする

TCIRG1、クロライドチャネルをコードする CLCN7、マウスの grey-lethal のヒトオルソログである OSTM1、破骨細胞の分化や活性化、生存に関わる RANKL をコードする TNFSF11、RANKL に対する受容体である RANK をコードする TNFRSF11A。

4) 遺伝子検査の結果と送付された調査票を照合して、どのような遺伝子変異がどのような臨床表現型を示すかを解析する。

(倫理面への配慮)

本研究に係わるすべての研究者は、「ヘルシンキ宣言」および「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守して実施する。研究実施に係る試料・情報を取扱う際は、研究独自の番号を付して管理し、研究対象者の秘密保護に十分配慮する。研究独自の番号は本学で付す。研究の結果を公表する際は、氏名、生年月日などの直ちに研究対象者を特定できる情報を含まないようにする。試料を提供する医療機関は診断目的のためであり、一般の診療における検査と同じく匿名化はしない。匿名化により検体取り違い等のリスクが増加するため。

C. 研究結果

表現型・遺伝子変異から本症の診断に必要な疾患概念を確立していく研究を現在実施している。2018 (H30) 年度の調査で現在通院加療中の本疾患患者が全国に計 261 人

いることがわかり、その中から遺伝子解析に協力希望のある症例を募り現時点で 11 例の遺伝子解析結果が出ている。同じ診断名の症例でも遺伝子変異の有無や内容は様々で表現型も多様であった。表 1 に示す。表現型の記載は省略した。

年齢	診断名	変異の有無	結果	HGMD/ClinVar 文献報告	表現型
8歳	先天性脊椎骨端異形成症	なし			
4歳	先天性脊椎骨端異形成症	なし			
9歳	先天性脊椎骨端異形成症	あり	exon 40-54(第1)変異なし exon 1-39(第2)変異あり p.G744V c.2231 G>T	類似コドンの論文報告はあり SEDC ? p.G744S c.2230G A	
34歳	先天性脊椎骨端異形成症 (SEDC)	あり	exon 40-54(第1)変異なし exon 1-39(第2)変異あり p.G546S c.1636 G>A	同変異の論文報告3件あり	
1歳8ヶ月	先天性脊椎骨端異形成症 (SEDC)	あり	exon 40-54(第1)変異なし exon 1-39(第2)変異あり p.G546S c.1636 G>A	同変異の論文報告3件あり	
13歳	先天性脊椎骨端異形成症 (SEDC)	あり	exon 40-54(第1) p.Q1455X c.4363 C>T	同変異の報告あり 臨床的意義は Likely pathogenic 状態はnot provided	
1歳9ヶ月	Stickler症候群1型	あり	exon 40-54(第1)変異なし exon 1-39(第2)変異あり p.A6D c.17 C>A	同変異の報告あり 2型コラーゲン異常症や Stickler症候群 但し表現型なし明もありVUS	
1歳2ヶ月	Stickler症候群1型	なし			
1歳2ヶ月	不明	なし			
3歳	不明	なし			
13歳	不明	あり	exon 40-54(第1) p.G193V c.3248 G>T	類似コドンの論文報告はあり p.G193D c.3248G>A	

D. 考察

本疾患は 2016 (H28) 年度に指定難病と小児慢性特定疾病に申請され、後者については認定されたが、前者は認定されなかった。その理由としては全国患者数や疾病状況が把握できておらず、成人期の疾患病態も明確にされていないことが原因とされた。しかし、本調査で現在通院中の本疾患症例(疑いも含め)が、200人以上もいることが判明した。現時点では、症例間での表現型や遺伝子変異に明らかな一貫性はみられていないが、更なる全国調査を行い、症例数を増やしていく。また現在倫理審査を申請中であるが、すでに遺伝子解析を他施設で実施済の患者も調査対象とし、表現型の詳細を聴取、これらの症例から表現型と遺伝子変異の関連性を調査していく。

E . 結論

非常に稀な疾患ではあるが本研究で本邦に 200 人以上の本疾患症例が存在することが判明した。この患者の表現型や遺伝子解析をすすめ関連性を調査していくことで今後、本疾患の診断をより簡便で確定的なものにし、指定難病の認定に貢献することが可能かもしれない。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

Suzumori N, Sekizawa A, Takeda E, Samura O, Sasaki A, Akaishi R, Wada S, Hamanoue H, Hirahara F, Kuriki H, Sawai H, Nakamura H, Yamada T, Miura K, Masuzaki H, Yamashita T, Kamei Y, Namba A, Murotsuki J, Tanemoto T, Fukushima A, Haino K, Tairaku S, Matsubara K, Maeda K, Kaji T, Ogawa M, Osada H, Nishizawa H, Okamoto Y, Kanagawa T, Kakigano A, Endo M, Kitagawa M, Ogawa M, Izumi S, Katagiri Y, Takeshita N, Kasai Y, Naruse K, Neki R, Masuyama H, Hyodo M, Kawano Y, Ohba T, Ichizuka K, Nagamatsu T, Watanabe A, Nishikawa N, Hamajima N, Shirato N, Yotsumoto J, Nishiyama M, Koide K, Hirose T, Sago H. Classification of factors involved in nonreportable results of noninvasive prenatal testing (NIPT) and prediction of success rate of second NIPT. *Prenat Diagn.* 2019 Jan;39(2):100-106. doi: 10.1002/pd.5408. Epub 2019 Jan 10. PubMed PMID: 30586157.

Yamada T, Sekizawa A, Fujii Y, Hirose T, Samura O, Suzumori N, Miura K, Sawai H, Hirahara F, Murotsuki J, Kamei Y, Sago H. Maternal age-specific risk for trisomy 21 based on the clinical performance of NIPT and empirically derived NIPT age-specific positive and negative

predictive values in Japan. *J Hum Genet.* 2018 Oct;63(10):1035-1040. doi: 10.1038/s10038-018-0453-8. Epub 2018 May 30. PubMed PMID: 29849041.

Kamei H, Wakimoto Y, Murakami Y, Omote M, Harada K, Fukui A, Tanaka H, Sawai H, Shibahara H. A Case of a Pregnant Woman with Thrombosis in an Artificial Aortic Valve Resulting in Severe Cerebral Hemorrhage in the Newborn. *Case Rep Obstet Gynecol.* 2018;2018:6154382. doi: 10.1155/2018/6154382. eCollection 2018. PubMed PMID: 30151288; PubMed Central PMCID: PMC6087570.

Suzumori N, Sekizawa A, Ebara T, Samura O, Sasaki A, Akaishi R, Wada S, Hamanoue H, Hirahara F, Izumi H, Sawai H, Nakamura H, Yamada T, Miura K, Masuzaki H, Yamashita T, Okai T, Kamei Y, Namba A, Murotsuki J, Tanemoto T, Fukushima A, Haino K, Tairaku S, Matsubara K, Maeda K, Kaji T, Ogawa M, Osada H, Nishizawa H, Okamoto Y, Kanagawa T, Kakigano A, Kitagawa M, Ogawa M, Izumi S, Katagiri Y, Takeshita N, Kasai Y, Naruse K, Neki R, Masuyama H, Hyodo M, Kawano Y, Ohba T, Ichizuka K, Nagamatsu T, Watanabe A, Shirato N, Yotsumoto J, Nishiyama M, Hirose T, Sago H. Fetal cell-free DNA fraction in maternal plasma for the prediction of hypertensive disorders of pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2018 May;224:165-169. doi: 10.1016/j.ejogrb.2018.03.048. Epub 2018 Mar 26. PubMed PMID: 29605711.

H . 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他 なし

