

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・研究所長

研究要旨

ヌーナン症候群は、1962年にアメリカの小児心臓医である Jacqueline ヌーナン氏が報告した疾患である。欧米では1000人～2500人に1人の罹患率と考えられている。日本では一万人に1人程度と考えられている。ヌーナン症候群では、これまでに約70%の症例で病因遺伝子が明らかにされている。近年、新たなヌーナン症候群の病因遺伝子として RAS subfamily の RRAS, MRAS、既に報告のある RASA1 や SOS1 の関連分子である RASA2, SOS2、そしてこれまでに RAS/MAPK シグナル伝達経路との関連が報告されていなかった A2ML1 と LZTR1 が報告された。LZTR1 は常染色体優性、あるいは劣性遺伝形式をとるヌーナン症候群の原因であることが明らかになった。しかしながらまだその病的意義が明らかでないバリエーションも存在するので、遺伝子診断における解釈には注意が必要である。

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。

ヌーナン症候群では、これまでに約70%の症例で病因遺伝子が明らかにされている。残る症例についても、次々に新しい病因遺伝子が報告されている。それらの情報を遅滞なく収集し、ヌーナン症候群の診断基準及び診療指針に取り入れていくことが重要である。

B. 研究方法

本年度はヌーナン症候群の原因の一つであり、その機能が注目されている LZTR1 について検討を行った。

(倫理面への配慮)

本分担研究ではヒトの検体や個人情報扱わないため、倫理委員会等での審査は必要ないと考えられる。

C. 研究結果

LZTR1 (Leucine Zipper Like Transcription Regulator 1) は癌抑制遺伝子であり、BTB-Kelch スーパーファミリーに属するタンパクをコードする。この遺伝子の変異は2013年に全身に神経鞘腫を呈する schwannomatosis や glioblastoma に同定されたが、2015年に行われたブラジル人ヌーナン症候群患者のコホートで、LZTR1 遺伝子に変異を有する患者5名が同定された (J Med Genet 52:413-421, 2015)。

患者で見出された遺伝子変異はいずれもミスセンス変異(5種)でこの遺伝子がコードするタンパクの kelch domain に位置しており、患者の変異はヘテロ接合であった。さらに最近、米国 NIH の Johnston らは、ヌーナン症候群患者21名において、常染色体劣性遺伝形式と考えられる、biallelic な LZTR1 遺伝子変異を同定した

(Genetics in Medicine 20:1175-1185, 2018)。見出された変異は機能喪失、ミスセンス、スプライシング異常などで、家系内のヘテロ接合性変異陽性者は無症状(健康)であった。

梅木、青木、松原らは、日本人で RASopathies が疑われ既知の遺伝子変異が同定されていない166人の遺伝学的解析を行い、7人の患者に LZTR1 のレアバリエーションを同定した(Umeki 138:21-35, 2019)。LZTR1 のバリエーションのうち一人では常染色体劣性遺伝形式に合致する二つのバリエーションを有していた。1人については新生突然変異でヘテロの変異を有していた。4人についてはヘテロ接合体でバリエーションを有していたが、3人においては、症状が軽微、あるいは症状のない親由来のバリエーションと考えられ、病因かどうか結論はできなかった。LZTR1 変異陽性患者の臨床診断はヌーナン症候群またはヌーナン様症候群であった。臨床症状は低身長、精神発達遅滞、肥大型心筋症の頻度が多いことなど、既報と異なる点も多かった。また、遺伝形式として常染色体劣性遺伝を示すものがある可能性も示唆された。なお梅木らは、LZTR1 と結合するタンパク質を解析

し、RAF1, SHOC2, PPP1CB と結合していることを明らかにした。これらの研究は LZTR1 が RAS/MAPK シグナル伝達経路に関与することを初めて示した重要な知見となった。

これまでの報告において、LZTR1 陽性ヌーナン症候群に腫瘍合併は報告されていなかった。しかし、フランスの Jacquinet らは LZTR1 変異が同定された典型的なヌーナン症候群の患者にて oligoastrocytoma を 22 歳で合併し、26 歳時の腫瘍再発時には病理学的に ganglioblastoma と診断された一例を報告している。筆者らは、患者が 15 歳から 17 歳まで成長ホルモンの投与を受けていたことから何らかの関連がある可能性も考えられると述べている。

なおこれまでは LZTR1 の機能はほとんど明らかでなかったが、梅木、青木、松原らは LZTR1 が RAF1/PPP1CB 複合体と結合することを明らかにした。さらに海外のグループからは 2018 年に LZTR1 が RAS をユビキチン化し、その細胞内局在を変化させることが報告された (Science 362: 1171-1177, 2018, Science 362: 1177-1182, 2018)

D. 考察

LZTR1 遺伝子については、2 つの異なるヌーナン症候群患者のコホート群で LZTR1 遺伝子変異が同定され、常染色体優性および劣性遺伝のいずれの形式でも認められることが明らかになった。今回日本人でのコホートでも 7 人の患者に LZTR1 バリエントが同定された。一例は常染色体劣性遺伝であったが、優性遺伝形式で同定されたバリエントに関しては症状のない親にも同定されたため、病的意義との関連についてははっきりとした結論がつかなかった。

LZTR1 はがん抑制遺伝子とされ、その機能喪失型変異が schwannomatosis や glioblastoma の発症と関連することが知られていた。

今回 LZTR1 遺伝子変異が同定されたヌーナン症候群の患者で脳腫瘍の合併報告があった。まだ報告数は少ないが、本遺伝子変異を有するヌーナン症候群患者について、今後その腫瘍発症を注意深くフォローする必要がある。

これまで LZTR1 の機能や RAS/MAPK シグナル伝達経路との関連は明らかでなかったが、LZTR1 が RAF1/PPP1CB 複合体と結合することや、RAS のユビキチン化に関わっているという新しい機能がわかってきており、病態との関連が明らかになっていくことが期待される。

E. 結論

LZTR1 は常染色体優性、あるいは劣性遺伝形式をとるヌーナン症候群の原因であることが

明らかになった。まだその病的意義が明らかでないバリエントも存在するので、遺伝子診断における解釈には注意が必要である。今後更に病型との相関や悪性腫瘍発生の可能性について検討していくことが重要と考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hamanaka T, Kimura M, Sakurai T, Ishida N, Yasuda J, Nagasaki M, Nariai N, Endo A, Homma K, Katsuoka F, Matsubara Y, Yamamoto M, Fuse N. A Histologic Categorization of Aqueous Outflow Routes in Familial Open-Angle Glaucoma and Associations With Mutations in the MYOC Gene in Japanese Patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 58(5):2818-2831, 2018.
- 2) Katoh-Fukui Y, Yatsuga S, Shima H, Hattori A, Nakamura A, Okamura K, Yanagi K, Iso M, Kaname T, Matsubara Y, Fukami M. An unclassified variant of CHD7 activates a cryptic splice site in a patient with CHARGE syndrome. *Hum Genome Var.* 5:18006, 2018.
- 3) Mizuguchi T, Nakashima M, Kato M, Okamoto N, Kurahashi H, Ekhilevitch N, Shiina M, Nishimura G, Shibata T, Matsuo M, Ikeda T, Ogata K, Tsuchida N, Mitsunashi S, Miyatake S, Takata A, Miyake N, Hata K, Kaname T, Matsubara Y, Saitsu H, Matsumoto N. Loss-of-function and gain-of-function mutations in PPP3CA cause two distinct disorders. *Hum Mol Genet.* 27(8):1421-1433, 2018.
- 4) Osumi T, Tsujimoto SI, Nakabayashi K, Taniguchi M, Shirai R, Yoshida M, Uchiyama T, Nagasawa J, Goyama S, Yoshioka T, Tomizawa D, Kurokawa M, Matsubara Y, Kiyokawa N, Matsumoto K, Hata K, Kato M. Somatic MECOM mosaicism in a patient with congenital bone marrow failure without a radial abnormality. *Pediatr Blood Cancer.* 65(6):e26959, 2018.
- 5) Oba D, Inoue SI, Miyagawa-Tomita S, Nakashima Y, Niihori T, Yamaguchi S, Matsubara Y, Aoki Y. Mice with an Oncogenic HRAS Mutation are Resistant to High-Fat Diet-Induced Obesity and Exhibit Impaired Hepatic Energy Homeostasis. *EBioMedicine.* 27:138-150, 2018.
- 6) Ozono K, Ogata T, Horikawa R, Matsubara Y, Ogawa Y, Nishijima K, Yokoya S. Efficacy and safety of two doses of Norditropin® (somatropin) in short stature due to Noonan syndrome: a 2-year randomized, double-blind, multicenter trial in Japanese patients. *Endocr J.* 65(2):159-174, 2018.
- 7) Ushijima K, Fukami M, Ayabe T, Narumi S, Okuno M, Nakamura A, Takahashi T, Ihara K,

- Ohkubo K, Tachikawa E, Nakayama S, Arai J, Kikuchi N, Kikuchi T, Kawamura T, Urakami T, Hata K, Nakabayashi K, Matsubara Y, Amemiya S, Ogata T, Yokota I, Sugihara S; Japanese Study Group of Insulin Therapy for Childhood and Adolescent Diabetes. Comprehensive screening for monogenic diabetes in 89 Japanese children with insulin-requiring antibody-negative type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*. 19(2):243-250, 2018.
- 8) Umeki I, Niihori T, Abe T, Kanno SI, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Nagasaki K, Yoshida M, Ohashi H, Inoue SI, Matsubara Y, Fujiwara I, Kure S, Aoki Y. Delineation of LZTR1 mutation-positive patients with Noonan syndrome and identification of LZTR1 binding to RAF1-PPP1CB complexes. *Hum Genet*. 138(1):21-35, 2019.
- 9) Ohki K, Kiyokawa N, Saito Y, Hirabayashi S, Nakabayashi K, Ichikawa H, Momozawa Y, Okamura K, Yoshimi A, Ogata-Kawata H, Sakamoto H, Kato M, Fukushima K, Hasegawa D, Fukushima H, Imai M, Kajiwara R, Koike T, Komori I, Matsui A, Mori M, Moriwaki K, Noguchi Y, Park MJ, Ueda T, Yamamoto S, Matsuda K, Yoshida T, Matsumoto K, Hata K, Kubo M, Matsubara Y, Takahashi H, Fukushima T, Hayashi Y, Koh K, Manabe A, Ohara A. Clinical and molecular characteristics of MEF2D fusion-positive precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia in childhood, including a novel translocation resulting in MEF2D-HNRNP1 gene fusion. *Haematologica*. 104(1):128-137, 2019.
- 10) Yoshida T, Matsuzaki T, Miyado M, Saito K, Iwasa T, Matsubara Y, Ogata T, Irahara M, Fukami M. 11-oxygenated C19 steroids as circulating androgens in women with polycystic ovary syndrome. *Endocr J*. 65(10):979-990, 2018.
- 11) Okano S, Miyamoto A, Fukuda I, Tanaka H, Hata K, Kaname T, Matsubara Y, Makita Y. Genitopatellar syndrome: the first reported case in Japan. *Hum Genome Var*. 2018 May 28;5:8. doi: 10.1038/s41439-018-0010-1. eCollection 2018.
- 12) Kawashima S, Nakamura A, Inoue T, Matsubara K, Horikawa R, Wakui K, Takano K, Fukushima Y, Tatematsu T, Mizuno S, Tsubaki J, Kure S, Matsubara Y, Ogata T, Fukami M, Kagami M. Maternal Uniparental Disomy for Chromosome 20: Physical and Endocrinological Characteristics of Five Patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 103(6):2083-2088, 2018.
- 13) Tanase-Nakao K, Mizuno K, Hayashi Y, Kojima Y, Hara M, Matsumoto K, Matsubara Y, Igarashi M, Miyado M, Fukami M. Dihydrotestosterone induces minor transcriptional alterations in genital skin fibroblasts of children with and without androgen insensitivity. *Endocr J*. 2019 Feb 19. doi: 10.1507/endocrj.EJ18-0494. [Epub ahead of print]
- ## 2. 学会発表
- 1) 未診断疾患イニシアチブ (IRUD)から見えてきたもの、口頭、松原洋一、第91回日本内分泌学会学術総会、教育講演18、2018/4/28、国内
 - 2) 遺伝学的検査 ～なぜ、いつ、どこで、どうやって?～、口頭、松原洋一、nordiscience forum2018 企画セッション「日常診療における遺伝学的検査の臨床応用の現状」における基調講演、2018/6/2、国内
 - 3) セッション：シンポジウム6「腎臓病領域における希少疾患と指定難病」、口頭、松原洋一、第61回日本腎臓学会学術総会、2018/6/8、国内
 - 4) ゲノム医療時代に求められる遺伝カウンセリングの役割 Genetic counselling in the era of genomic medicine、口頭、松原洋一、第42回日本遺伝カウンセリング学会学術集会 特別講演、2018/6/30、国内
 - 5) 未診断疾患イニシアチブ (IRUD)の診療体制、口頭、松原洋一、第25回日本遺伝子診療学会大会、シンポジウム2「希少疾患と遺伝医療」、2018/7/13、国内
 - 6) 急速に拡大しつつある遺伝学的検査～小児科診療へのインパクトと倫理的課題、口頭、松原洋一、第647回日本小児科学会東京都地方会講話会、2018/7/14、国内
 - 7) 進化する小児疾患の遺伝子診断、口頭、松原洋一、第5回サマーセミナー、国立成育医療研究センター セミナールーム講堂、2018/7/28、国内
 - 8) Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases (IRUD)、口頭、松原洋一、16th Asia Pacific Congress of Pediatrics(APCP)2018, 9th Annual Scientific Meeting of Indonesian Pediatric Society(ASMIPS), 2018/8/27、国外
 - 9) 「ゲノム医療時代における遺伝カウンセリング」、口頭、松原洋一、第77回日本癌学会、特別企画3、人類遺伝学会、遺伝カウンセリング学会、家族性腫瘍学会の3学会合同シンポジウム、2018/9/28、国内
 - 10) Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases (IRUD)、ポスター、松原洋一、American Society of Human Genetics 2018、2018/10/16～20、国外
 - 11) "日本先天代謝異常学会の活性化に向けて：関連学会の立場から How we can facilitate the activity of JSIMD?"、口頭、松原洋一、第60回日本先天代謝異常学会総

会 シンポジウム 2 今後の日本先天代謝異常学会を考える、2018/11/8～10、国内

- 12) Plenary Lecture III "Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases in Pediatrics in Japan", 口頭、松原洋一、2018EAUHGS meeting, Seoul, Korea, 2018/11/30、国外
- 13) 「遺伝子診療における倫理的課題」、口頭、松原洋一、第4回日本産科婦人科遺伝診療学会学術講演会 特別講演 1、2018/12/15、国内

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
該当なし