

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

RAS信号伝達系に関連する先天異常症候群等、東北地方成育施設としての支援機能
コストロ症候群・Cardio-facio-cutaneous症候群・Noonan症候群

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。今回は特に最近同定されたNoonan症候群の原因遺伝子LZTR1の解析を行い、そのバリエーションの分布と臨床症状について検討を行った。RASopathiesに合併する痙攣、腫瘍、皮膚病変の実態について症例の検討と調査をおこなった。

A. 研究目的

ヌーナン症候群、コストロ症候群および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。最近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 143 人を解析したところ、解析した 143 例中 87 例(60.8%)で正常人データベース 1%以下のバリエーションを検出した。

これまでに原因が同定されていなかった日本人患者において、2013年に Yamamoto らが同定し発表した LZTR1 と 2016年に報告された PPP1CB についてスクリーニングを行ったところ、7人の患者に LZTR1 のレアバリエーションが、1人に PPP1CB のバリエーションが同定された(梅木ら、Hum Genet 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。これまでに報告したバリエーションの分布を調べ

たところ、常染色体優性の患者に同定されたバリエントは優性遺伝形式の家系の報告では **Kelch** ドメイン 4,5 にバリエントが集積しており、劣性遺伝形式の家系での報告はその他の位置に幅広く認められた。

重度の精神遅滞、痙攣重積、髄鞘化遅延、多嚢胞性腎を伴う患者にて **BRAF** の 485 番目のロイシン欠失を同定した。機能解析を行い、**p.L485del** と **p.L485F** は、正常型 cDNA を導入したときに比べて、**ELK** 転写活性上昇がみられたため、臨床症状と合わせて **CFC** 症候群と診断した。これまでの報告では **L485F** が 2 例、**L485S** が 3 例報告されていたが、そのうち 4 人に痙攣の合併を認めていた(鈴木、永井ら、*J Hum Genet*, 2019)。

Noonan 症候群に **JMML** を合併した症例にヘテロ接合体の **PTPN11 p.T42A** 変異を同定した(田村ら、*Clin Case Rep.*, 2018)。

2) 臨床症状 (特に皮膚症状) の調査

RASopathies 患者では多彩な皮膚症状を合併するが疾患や原因遺伝子による違いや治療の実態については明らかではない。また、難治性皮膚病変を合併するという報告があるが、その最適な治療法はいまだに明らかでない。そこで皮膚診断名 (接触性皮膚炎、アトピー性皮膚炎、母斑症など)、皮膚症状名 (皮膚弛緩、角化など) についてその発症年齢、部位、治療法などを記載するための調査票を作製し、研究協力者へ配布し調査を開始しており結果を収集中である。

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。新規原因遺伝子 **LZTR1** についてはまだバリエントの病原性やその臨床症状との相関が明らかになっていない部分が多く、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。

RASopathies はがん遺伝子の germline の変異が原因となるため、腫瘍の合併が問題となる。**Costello** 症候群では約 15% に悪性腫瘍が合併する。**Noonan** 症候群全体の数パーセントに悪性腫瘍が合併するという報告もある。また、特に若年性骨髄単球性白血病の合併は **PTPN11** の特定の変異 (コドン 61 の変異と **T73I** 変異), **KRAS** の特定の遺伝子変異や **CBL** 遺伝子変異で注意すべきとされている。今回は **PTPN11 p.T42A** 変異が同定されたが、これまでの経験では最も頻度の高い **p.N308D** 変異陽性患者においても血液腫瘍が合併する症例

もあったため、コドン 61 の変異と **T73I** 変異以外の **PTPN11** 変異についても注意深い観察が必要と考えられた。

E. 結論

RASopathies の網羅的遺伝子解析系を構築し、新しい原因遺伝子 **LZTR1** のバリエントの分布と臨床症状と合併症を詳細に検討した。**RASopathies** 患者におけるけいれん、腫瘍合併症例について検討を行い、皮膚病変についての実態調査を継続した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takahara S,* Inoue SI, Miyagawa-Tomita S, Matsuura K, Nakashima Y, Niihori T, Matsubara Y, Saiki Y, *Aoki Y. New Noonan syndrome model mice with **RIT1** mutation exhibit cardiac hypertrophy and susceptibility to β -adrenergic stimulation-induced cardiac fibrosis. *EBioMedicine*. 2019 Mar 18. pii: S2352-3964(19)30154-9.
- 2) Suzuki-Muromoto S, Miyabayashi T, Nagai K, Yamamura-Suzuki S, Anzai M, Takezawa Y, Sato R, Okubo Y, Endo W, Inui T, Togashi N, Kikuchi A, Niihori T, Aoki Y, Kure S, Haginoya K. Leucine-485 deletion variant of **BRAF** may exhibit the severe end of the clinical spectrum of **CFC** syndrome. *J Hum Genet*. 2019 Mar 6. doi: 10.1038/s10038-019-0579-3. [Epub ahead of print]
- 3) 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
- 4) Tamura A, Uemura S, Matsubara K, Kozuki E, Tanaka T, Nino N, Yokoi T, Saito A, Ishida T, Hasegawa D, Umeki I, Niihori T, Nakazawa Y, Koike K, Aoki Y, Kosaka Y. Co-occurrence of hypertrophic cardiomyopathy and juvenile myelomonocytic leukemia in a neonate with Noonan syndrome, leading to premature death. *Clin Case Rep*. 6(7):1202-1207, 2018

2. 学会発表

- 1) Shin-Ichi Inoue and Yoko Aoki. The basis of nutritional and metabolic problems in **RASopathies**:Lessons form mouse models 2018年7th International Meeting on Rare Disorders of the **RAS-MAPK** Pathway A workshop precedomg the **ESHG** conmmferemce Milan 2018 2018/6/15-16、国外

- 2) 青木洋子 「RASopathies～新しい疾患概念とその病態解明～」第42回日本小児皮膚科学会学術大会 特別講演 2018/7/14、国内
- 3) 青木洋子 「Noonan症候群をとりまく最新の話題」第52回日本小児内分泌学会学術集会イブニング教育セミナー2018/10/4、国内
- 4) 青木洋子 「RASopathies : 広がりゆく疾患概念とモデルマウス研究」第63回日本人類遺伝学会学術集会 シンポジウム11
New syndromes, New concepts
2018/10/12、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
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし