

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の臨床診断に用いる指標の日本人最適化」

研究分担者 松永 達雄

所属・職位 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は WS1～WS4 のサブグループに臨床分類され、それぞれに原因遺伝子が同定されている。臨床分類の指標の一つとして内眼角開離の指標である W-index が用いられる。現在用いられている W-index は白人のデータを基に基準値が設定されているため、日本人で用いると臨床分類と原因遺伝子の関係が不一致となる。そこで、本研究では日本人ワルデンブルグ症候群の臨床診断用に W-index を最適化することを目的とした。対象はワルデンブルグ症候群の臨床診断がされて、遺伝学的検査により確定診断に至った日本人 16 家系 21 症例である。ワルデンブルグ症候群の患者の顔面を正面から撮影した写真を用いて内眼角開離を検討した。遺伝学的検査は、患者の末梢血から抽出した DNA を用いて行い、ワルデンブルグ症候群の原因遺伝子（PAX3, MITF, SOX10, EDNRB）のサンガー法解析で原因が判明した検体を対象とした。従来の W-index を用いた臨床診断基準では、WS1 が 13 家系、WS2 が 2 家系、WS4 が 1 家系であった。分子遺伝学的検査の結果、WS1 の 13 家系中で、PAX3 遺伝子変異が 5 家系、MITF 遺伝子変異が 4 家系、SOX10 遺伝子変異が 3 家系、EDNRB 遺伝子が 1 家系に認められた。PAX3 遺伝子変異症例とそれ以外の原因遺伝子症例の境界となる W-index 値を算出したところ 2.48 であった。さらに W-index の公式に今回のデータを当てはめて日本人用の W-index（Wj-index）を算出したところ 2.51 であった。今回の研究で日本人に適した W-index が設定されたことで、日本人ワルデンブルグ症候群の臨床診断が正確に実施できるようになり、遺伝学的診断の向上にもつながると考えられる。

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

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は WS1～WS4 型に臨床分類され、それぞれに原因遺伝子が同定されている。WS1 と WS3 は内眼角開離が認められ、WS3 はさらに四肢の奇形を伴う。WS1 と WS3 の原因遺伝子は PAX3 遺伝子である。内眼角開離の指標には W-index が用いられるが、現在用いられている W-index は白人のデータを基に基準値が設定されている。日本人では白人と顔面の形態的特徴が異なるため、現在の W-index を用いると臨床分類と原因遺伝子の関係が不一致となる。そこで、日本人ワルデンブルグ症候群患者において、内眼角開離を測定し、分子遺伝学的検査を行い、日本人に適した W-index を算出する必要がある。このような日本人用の W-index を用いることができると、日本

人ワルデンブルグ症候群の患者において原因遺伝子と整合性のとれた臨床診断が可能になる。このため、本研究の目的は日本人に適した W-index を算出することである。

**B. 研究方法**

対象はワルデンブルグ症候群の臨床診断がされて、遺伝学的検査により確定診断に至った 16 家系 21 症例である。

ワルデンブルグ症候群の患者の顔面を正面から撮影した写真を用いて内眼角開離を検討した。写真にはメジャーも入れて顔面の計測ができるように撮影した。この写真を用いて各患者の W-index に必要な部位（ICD:

Innner canthal distance, IPD: interpupillary distance, OCD: outer canthal distance) の計測を行った。この計測値から W-index を計算した。

遺伝学的検査は、患者の末梢血から抽出した DNA を用いて行った。臨床的特徴に基づいて予想されるワルデンブルグ症候群の原因遺伝子 (PAX3, MITF, SOX10, EDNRB) のサンガー法解析を行った。予想された原因遺伝子が判明しない場合は、可能性の高い順に他の原因遺伝子の検査を進め、原因が判明した検体を対象とした。

各患者の W-index と原因遺伝子の関係から W-index および Wj-index を算出した。得られた指標の値に対して、日本人健常者 (小児および成人) の顔面計測データを用いた検証を行った。

(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

従来の W-index を用いた臨床診断基準では、WS1 が 13 家系、WS2 が 2 家系、WS4 が 1 家系であった。分子遺伝学的検査の結果、WS1 の 13 家系中で、PAX3 遺伝子変異が 5 家系、MITF 遺伝子変異が 4 家系、SOX10 遺伝子変異が 3 家系、EDNRB 遺伝子が 1 家系に認められた。つまり、61% で臨床分類と原因遺伝子が不一致であった。そこで各症例の W-index と原因遺伝子の関係を検討し、PAX3 遺伝子変異症例とそれ以外の原因遺伝子症例の境界となる W-index 値を算出したところ 2.48 であった。さらに W-index の公式に今回のデータを当てはめて日本人用の W-index (Wj-index) を算出したところ 2.51 であった。白人のデータから算出された W-index は 1.95 であり、これと比べて日本人の値は高かった。

### D. 考察

ワルデンブルグ症候群では WS1-WS4 のサブタイプ別に、多様な症状を随伴する。その中には、重篤かつ急性の脳神経症状や、緊急手術を要する腸管障害を呈する場合もある。あるいは、原因不明の脳神経、腸管の障害として経過観察されている症例もある。正確な臨床診断および遺伝学的診断は、これらの症状、障害の予測、予防、適正な解釈と医学的対応、生活設計、人生設計に役立つ。

今回の研究で日本人に適した W-index が設定されたことで、日本人ワルデンブルグ症候群の臨床診断が正確に実施できるようになり、遺伝学的診断の向上にもつながると考えられる。

実際に、これまでの W-index と日本人用の W-index を、公開されている日本人健常者の顔面計測値である Kitaoka らによる乳幼児 1006 人と Nakagawa らによる成人 254 人のデータを用いて検証した。その結果、これまでの W-index では日本人健常者の多くがワルデンブルグ症候群に該当してしまうが、日本人用の W-index あるいは Wj-index ではワルデンブルグ症候群に該当しなかった。このことから、W-index を用いることで、遺伝学的診断と整合性のとれた臨床診断が可能になることが確認された。

このため、本研究で確立された W-index を臨床診断に普及していくことで、日本人のワルデンブルグ症候群患者に対して遺伝学的診断と整合性のとれた臨床診断を実現できる。そして、臨床診断早期からサブタイプの特徴に応じた診療を促進できる。

### E. 結論

ワルデンブルグ症候群の診断指標の一つである W-index として、白人の基準値である 1.95 を用いると、日本人ワルデンブルグ症候群では WS1 と診断された症例の 61% で PAX3 遺伝子以外の原因が認められ、遺伝学的原因との不一致が生じる。このため本研究では、日本人ワルデンブルグ症候群患者の測定値から日本人用の W-index を算出し、2.51 という基準値を得た。この基準値を用いることで、遺伝学的診断と整合性のとれた臨床診断が可能となる。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Hatabu N., Katori N., Sato T., Maeda N., Suzuki E., Komiyama O., Tsutsui H., Nagao T., Nakauchi-Takahashi H., Matsunaga T., Ishii T., Hasegawa T. and Yamazawa K. A Familial Case of a Whole Germline CDC73 Deletion Discordant for Primary Hyperparathyroidism. *Horm Res Paediatr.* 92. 56-63. 2019.
- 2) DiStefano M. T., Hemphill S. E., Oza A. M., Siegert R. K., Grant A. R., Hughes M. Y., Cushman B. J., Azaiez H., Booth K. T., Chapin A., Duzkale H., Matsunaga T., Shen J., Zhang W., Kenna M., Schimmenti L. A., Tekin M., Rehm H. L., Tayoun A. N. A., Amr S. S. and ClinGen Hearing Loss Clinical Domain Working G. ClinGen expert clinical validity curation of 164 hearing loss gene-disease pairs. *Genet Med.* 21. 2239-2247. 2019.
- 3) DiStefano M. T., Hemphill S. E., Oza A. M., Siegert R. K., Grant A. R., Hughes M. Y.,

- Cushman B. J., Azaiez H., Booth K. T., Chapin A., Duzkale H., Matsunaga T., Shen J., Zhang W., Kenna M., Schimmenti L. A., Tekin M., Rehm H. L., Tayoun A. N. A., Amr S. S. and ClinGen Hearing Loss Clinical Domain Working G. Correction: ClinGen expert clinical validity curation of 164 hearing loss gene-disease pairs. *Genet Med.* 21. 2409. 2019.
- 4) Minami S. B., Nara K., Mutai H., Morimoto N., Sakamoto H., Takiguchi T., Kaga K. and Matsunaga T.. A clinical and genetic study of 16 Japanese families with Waardenburg syndrome. *Gene.* 704. 86-90. 2019.
  - 5) Shen J., Oza A. M., Del Castillo I., Duzkale H., Matsunaga T., Pandya A., Kang H. P., Mar-Heyming R., Guha S., Moyer K., Lo C., Kenna M., Alexander J. J., Zhang Y., Hirsch Y., Luo M., Cao Y., Wai Choy K., Cheng Y. F., Avraham K. B., Hu X., Garrido G., Moreno-Pelayo M. A., Greinwald J., Zhang K., Zeng Y., Brownstein Z., Basel-Salmon L., Davidov B., Frydman M., Weiden T., Nagan N., Willis A., Hemphill S. E., Grant A. R., Siegert R. K., DiStefano M. T., Amr S. S., Rehm H. L., Abou Tayoun A. N. and ClinGen Hearing Loss Working G. Consensus interpretation of the p.Met34Thr and p.Val37Ile variants in GJB2 by the ClinGen Hearing Loss Expert Panel. *Genet Med.* 21. 2442-2452. 2019.
  - 6) Wasano K., Takahashi S., Rosenberg S. K., Kojima T., Mutai H., Matsunaga T., Ogawa K. and Homma K. Systematic quantification of the anion transport function of pendrin (SLC26A4) and its disease-associated variants. *Hum Mutat.* 41. 316-331. 2020.
  - 7) Maeda-Katahira A., Nakamura N., Hayashi T., Katagiri S., Shimizu S., Ohde H., Matsunaga T., Kaga K., Nakano T., Kameya S., Matsuura T., Fujinami K., Iwata T. and Tsunoda K. Autosomal dominant optic atrophy with OPA1 gene mutations accompanied by auditory neuropathy and other systemic complications in a Japanese cohort. *Mol Vis.* 25. 559-573. 2019.
  - 8) 山本修子、南修司郎、榎本千江子、加藤秀敏、松永達雄、伊藤文展、遠藤理奈子、橋本陽介、石川直明、加我君孝. 東京医療センターにおける成人人工内耳症例の適応と有用性の検討. *日本耳鼻咽喉科学会会報.* 2019; 122(8):1118-1126
  - 9) 松永達雄\*. 「第119回日本耳鼻咽喉科学会総会シンポジウム」難聴のゲノム医療. *日本耳鼻咽喉科学会会報*2019:122:16-21
  - 10) 松永達雄. 視覚聴覚二重障害の診療. *JOHNS Vol. 35 No.9* 2019: 1377-1378頁.2019年9月発行
  - 11) 松永達雄. 遺伝情報をどう管理し、活用するか—耳科領域—. *JOHNS Vol. 35 No.10* 2019: 1452-1454頁.2019年9月発行
2. 学会発表
    - 1) 仲野敦子、有本友季子、船越うらら、松永達雄. 劣性遺伝が疑われた難聴同胞症例の検討. 第120回日本耳鼻咽喉科学会. 大阪 2019年5月8—11日
    - 2) 細谷誠、藤岡正人、野口勝、吉浜圭祐、西山崇経、鈴木成尚、大石直樹、神崎晶、松永達雄、小川郁. 当院における難聴遺伝外来の現況とこころみ. 第120回日本耳鼻咽喉科学会. 大阪 2019年5月8—11日
    - 3) 和佐野浩一郎、松永達雄. エクソン上の点変異に伴うペンドリンのスプライシング異常に関する検討. 第120回日本耳鼻咽喉科学会. 大阪 2019年5月8—11日
    - 4) 松永達雄、奈良清光、務台英樹、井上沙聡、山本修子、細谷誠、和佐野浩一郎、南修司郎、加我君孝. ClinGen Hearing Loss Working Groupによる難聴遺伝子バリエーション評価のガイドライン. 第120回日本耳鼻咽喉科学会. 大阪 2019年5月8—11日
    - 5) 野口勝、藤岡正人、大石直樹、吉浜圭祐、松永達雄、務台英樹、奈良清光、西山崇経、鈴木成尚、細谷誠、松崎佐栄子、神崎晶、小川郁. 当院の神経線維腫症2型症例におけるNF2遺伝子の分子遺伝学的検討. 第120回日本耳鼻咽喉科学会. 大阪 2019年5月8—11日
    - 6) 藤岡正人、細谷誠、西山崇経、野口勝、鈴木成尚、矢部はる奈、吉浜圭祐、松永達雄、宇佐美真一、小川郁. 遺伝性難聴Pendred症候群/DFNB4の難聴・めまいに対する新規療法の医師主導治験. 第14回日本小児耳鼻咽喉科学会. 福岡 5月23—24日
    - 7) 野口勝、藤岡正人、松永達雄、大石直樹、吉浜圭祐、西山崇経、鈴木成尚、細谷誠、松崎佐栄子、神崎晶、戸田正博、田村亮太、小川郁. 当院の神経線維腫症2型症例におけるNF2遺伝子の分子遺伝学的検討. 第28回日本聴神経腫瘍研究会. 東京 2019年6月8日
    - 8) 橋本陽介、和佐野浩一郎、奈良清光、南修司郎、務台英樹、松永達雄. 極めて希少な遺伝子の病原性バリエーションが原因として疑われた難聴の1家系. 第29回日本耳科学会総会・学術講演会. 山形 2019年10月10日

- 9) 松永達雄、奈良清光、務台英樹、細谷誠、小川郁、加我君孝. 国際研究チームによる164難聴遺伝子・疾患の組み合わせに対する臨床的妥当性の評価. 第29回日本耳科学会総会・学術講演会. 山形 2019年10月11日
- 10) 務台英樹、松永達雄、霊長類蝸牛における高発現遺伝子群の探索. 第29回日本耳科学会総会・学術講演会. 山形 2019年10月11日
- 11) 仲野敦子、有本友季子、松永達雄. 前庭水管拡大症例の検討第29回日本耳科学会総会・学術講演会. 山形 2019年10月11日
- 12) 野口勝、藤岡正人、大石直樹、奈良清光、務台英樹、長谷部夏希、松崎佐栄子、西山崇経、鈴木成尚、細谷誠、神崎晶、松永達雄、小川郁. 神経線維腫症2型を呈する日本人症例におけるNF2遺伝子変異と臨床像の関係. 第29回日本耳科学会総会・学術講演会. 山形 2019年10月11日
- 13) 藤岡正人、大石直樹、長谷部夏希、野口勝、松永達雄、小澤宏之、鈴木成尚、細谷誠、神崎晶、北村充、小川郁. 当院における神経線維腫症II型に対する試み—稀少難治性遺伝性疾患として—. 第29回日本耳科学会総会・学術講演会. 山形 2019年10月11日
- 14) 松永達雄、奈良清光、務台英樹、井上沙聡、山本修子、和佐野浩一郎、南修司郎、加我君孝. 病的意義不明GJB2遺伝子バリエントの解釈への国際共同研究による挑戦と成果. 第64回日本聴覚医学会総会・学術講演会. 大阪2019年11月7日
- 15) 川崎泰士、和佐野浩一郎、高橋優宏、務台英樹、奈良清光、松永達雄. NLRP3遺伝子解析によりvariantを同定したクリオピリン関連周期熱症候群症例の長期聴力経過の検討. 第64回日本聴覚医学会総会・学術講演会. 大阪2019年11月7日
- 16) Matsunaga T, Mutai H, Nara K, Wasano K, Minami S, Koga K. Elucidation of Genetic Background and Phenotypic Features in Patients with Hereditary Hearing Loss to

Improve Diagnosis and Care. Association For Research In Otolaryngology (ARO) 43rd Annual MidWinter Meeting San Jose, California, USA. 2020年1月25—29日 (ポスター)

- 17) Noguchi M, Fujioka M, Oishi N, Mutai H, Nara K, Matsunaga T, Ogawa K, Wasano K. Investigation the effects of exonic and intronic variants of NF2 on pre-mRNA splicing. Association For Research In Otolaryngology (ARO) 43rd Annual MidWinter Meeting San Jose, California, USA. 2020年1月25—29日 (ポスター)

- 18) Wasano K, Kojima T, Takahashi S, Mutai H, Matsunaga T, Homma K. Investigating the effects of exonic single nucleotide variants of SLC26A4 on pre-mRNA splicing. Association For Research In Otolaryngology (ARO) 43rd Annual MidWinter Meeting. San Jose, California, USA. 2020年1月25日—29日 (ポスター)

#### 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