

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

「九州地区，成育医療施設としての支援機能，補助診断としての遺伝子診断，ヒストンアセチル化・メチル化異常症による先天異常症候群—歌舞伎症候群—」

研究分担者：吉浦 孝一郎  
長崎大学原爆後障害医療研究所・教授

**研究要旨**

ヒストンアセチル化・メチル化異常症について，診断基準・重症度分類・全身管理のチェックポイントを適用しながら，遺伝子診断の結果と照合し，臨床遺伝専門医の臨床診断と遺伝子診断結果の合致率/非合致率の検討，遺伝子変異陽性例と陰性例の違いなど検討する。特に，歌舞伎症候群（KS）についてコンサルトが多く，KSについての研究が主である。そのために，臨床遺伝専門医からの症例コンサルトについては，遺伝子診断を実施し臨床の補助を行い，遺伝子診断結果と臨床症状の収集にあたる。

本年度実施した遺伝子診断は以下である。作性運動誘発性舞蹈アテトーゼ（PRRT2）1例，Rubinstein-Taybi（CREBBP, EP300）2例，自己免疫性リンパ増殖症候群（TNFAIP3）1例，歌舞伎症候群（KMT2D, KDM6A）9例の遺伝子診断を補助的に活用した。遺伝子診断確定例が，発作性運動誘発性舞蹈アテトーゼ1例，Rubinstein-Taybi症候群1例，自己免疫性リンパ増殖症候群1例，歌舞伎症候群5例が遺伝子診断でも変異が確定された。Rubinstein-Taybi症候群1例，歌舞伎症候群4例は遺伝子変異が認められなかった。

吉浦孝一郎・長崎大学原爆後障害医療研究所・教授

**A. 研究目的**

ヒストンアセチル化・メチル化異常症について，診断基準・重症度分類・全身管理のチェックポイントを適用しながら，遺伝子診断の結果と照合し，臨床遺伝専門医の臨床診断と遺伝子診断結果の合致率/非合致率の検討，遺伝子変異陽性例と陰性例の違いなど検討する。特に，歌舞伎症候群（KS）についてコンサルトが多く，KSについての研究が主である。そのために，臨床遺伝専門医からの症例コンサルトについては，多くの遺伝性疾患の遺伝子診断を実施し臨床の補助を行い，遺伝子診断結果と臨床症状の収集にあたる。

歌舞伎症候群は，筋緊張低下，発達遅延，知的障害に加え，下眼瞼外側1/3の外反を含む特徴的顔貌，指尖部の隆起，特徴的な鼻尖部や耳が臨床診断の根拠となる。しかし，KMT2D遺伝子とKDM6A遺伝子の変異陰性例が20～30%程度認められ，逆に症状がそろっていないがKMT2D変異例が存在するなど，KMT2D変異症候群（歌舞伎症候群）の症例は多様であり，遺伝子解析を基盤として症例を蓄積し，生誕時

～小児期～成人期～中高齢期までの臨床像を明らかにすることで，個別患者への対応のガイドライン策定が可能と成る。そのため，非典型例を遺伝子診断解析対処としつつ，病態解析，病態と遺伝子変異との対応の検討をおこなう基礎データ蓄積を図ることが目的である。

**B. 研究方法**

変異解析は，いわゆるターゲット・再シーケンスとして，個別遺伝子の capture オリゴヌクレオチドによってターゲット部位の濃縮後に次世代シーケンサーにて塩基配列を決定した。次世代シーケンサーにて見つかった変異の確定と，遺伝子サイズが小さい場合の変異探索にはキャピラリーシーケンサーを用いた。

DNA メチル化解析は，NEBNext Enzymatic Methyl-seq (EM-seq) を利用し，DNA 濃縮と組み合わせた DNA メチル化解析法を考案した。HCT116 DKO 細胞由来の非メチル化 DNA と同細胞由来メチル化 DNA を適切量混合して，メチル化割合の算定が可能かを検討した。また，それに引き続き，歌舞伎症候群で変化が認

められる CpG アイランドに絞って、Capture-EMseq にてメチル化プロファイリングを実施した。

(倫理面への配慮)

解析を依頼された症例は、全ゲノムシーケンスおよび全ゲノムエピゲノムシーケンス解析が可能となるようにインフォームド・コンセントを得て解析を実施している。試料は、今後の解析のために DNA を保管している。解析に関するヒトゲノム・遺伝子行使研究倫理審査は、長崎大学で受け許可の元で実施している。

### C. 研究結果

発作性運動誘発性舞踏アテトーゼ

(PRRT2) 1例, Rubinstein-Taybi (CREBBP, EP300) 2例, 自己免疫性リンパ増殖症候群 (TNFAIP3) 1例, 歌舞伎症候群 (KMT2D, KDM6A) 9例の遺伝子診断を補助的に活用した。遺伝子診断確定例が、発作性運動誘発性舞踏アテトーゼ 1例, Rubinstein-Taybi症候群1例, 自己免疫性リンパ増殖症候群1例, 歌舞伎症候群5例が遺伝子診断でも変異が確定された。Rubinstein-Taybi症候群1例, 歌舞伎症候群4例は遺伝子変異が認められなかった。

歌舞伎症候群のCpGアイランドメチル化解析において、メチル化頻度を用いた主成分分析の結果、歌舞伎症候群は、特異的な歌舞伎クラスターを形成していた。ただし、歌舞伎クラスターに含まれない変異陽性例や、歌舞伎クラスターに含まれない変異陰性例も存在する。歌舞伎クラスターには、変異が見つからない患者も含まれ、非理患者は全く含まれておらず、CpGメチル化解析を検査ととらえると特異度100%であった。

### D. 考察

歌舞伎症候群に限らず、ある症候群を疑われてから実施する遺伝子診断において、典型例・非典型例のいずれから、既知の原因遺伝子に変異が見つかる陽性例と変異が見つからない陰性例が混在する。非典型例では変異陰性例が多いが、遺伝子診断だけでは確定診断検査としては不十分で、臨床遺伝専門医の臨床診断は尊重されるべきであると考えられる。

ゲノム研究の視点から見ると、変異陰性例は新規の病原遺伝子の発見に繋がる可能性があり、典型例であるから遺伝子診断を省略して良いことにはならない。遺伝医療として遺伝子検査態勢の充実が求められる。

歌舞伎症候群の CpG メチル化プロファイリングは、検査あるいは患者の層別化に有効な可

能性がある。今後、解析試料数を増やしてさらに検討が必要である。

### E. 結論

原因不明の神発達遅滞や免疫不全症の網羅的な遺伝子診断 (エクソーム解析) から KMT2D 遺伝子変異が認められることもある。特定疑わしい遺伝性疾患で変異が認められない場合や全くの新規症候群の場合には、網羅的な遺伝子診断が有効に機能することが公知となってきたおり、網羅的遺伝子診断を実施して、変異陰性例も情報収集して将来の患者さん管理に役立てることが肝要である。特に、ヒストンアセチル化・メチル化酵素遺伝子異常症は、精神発達遅滞の非特異的病態が前面に出ることが多く、網羅的遺伝子解析が、遺伝医療の一検査として充実されていく態勢が求められる。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Dateki S., Watanabe S., Mishima H., Shirakawa T., Morikawa M., Kinoshita E., Yoshiura K.I. and Moriuchi H. A homozygous splice site ROBO1 mutation in a patient with a novel syndrome with combined pituitary hormone deficiency. *J Hum Genet.*64.341-346.2019
- 2) Shimizu H., Watanabe S., Kinoshita A., Mishima H., Nishimura G., Moriuchi H., Yoshiura K.I. and Dateki S. Identification of a homozygous frameshift variant in RFLNA in a patient with a typical phenotype of spondylarthritis with synostosis syndrome. *J Hum Genet.*64.467-471.2019
- 3) Morimoto Y., Yoshida S., Kinoshita A., Satoh C., Mishima H., Yamaguchi N., Matsuda K., Sakaguchi M., Tanaka T., Komohara Y., Imamura A., Ozawa H., Nakashima M., Kurotaki N., Kishino T., Yoshiura K.I. and Ono S. Nonsense mutation in CFAP43 causes normal-pressure hydrocephalus with ciliary abnormalities. *Neurology.*92.e2364-e2374.2019
- 4) Yamashita Y., Nishikawa A., Iwahashi Y., Fujimoto M., Sasaki I., Mishima H., Kinoshita A., Hemmi H., Kanazawa N., Ohshima K., Imadome K. I., Murata S. I., Yoshiura K.I., Kaisho T., Sonoki T. and Tamura S. Identification of a novel CCDC22 mutation in a patient with severe Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis and aggressive natural killer cell leukemia. *Int J Hematol.*109.744-750.2019
- 5) Matsuno S., Furuta H., Kosaka K., Doi A., Yorifuji T., Fukuda T., Senmaru T., Uraki S.,

- Matsutani N., Furuta M., Mishima H., Iwakura H., Nishi M., Yoshiura K., Fukui M. and Akamizu T. Identification of a variant associated with early-onset diabetes in the intron of the insulin gene with exome sequencing. *J Diabetes Investig.*10.947-950.2019
- 6) Mishima H., Suzuki H., Doi M., Miyazaki M., Watanabe S., Matsumoto T., Morifuji K., Moriuchi H., Yoshiura K.I., Kondoh T. and Kosaki K. Evaluation of Face2Gene using facial images of patients with congenital dysmorphic syndromes recruited in Japan. *J Hum Genet.*64.789-794.2019
- 7) Masui D., Fukahori S., Mizuochi T., Watanabe Y., Fukui K., Ishii S., Saikusa N., Hashizume N., Higashidate N., Sakamoto S., Takato A., Yoshiura K.I., Tanaka Y. and Yagi M. Cystic biliary atresia with paucity of bile ducts and gene mutation in KDM6A: a case report. *Surg Case Rep.*5.132.2019
- 8) Hamaguchi Y., Aoki M., Watanabe S., Mishima H., Yoshiura K.I., Moriuchi H. and Dateki S. KAT6B-related disorder in a patient with a novel frameshift variant (c.3925dup). *Hum Genome Var.*6.54.2019
- 9) Shibano M., Watanabe A., Takano N., Mishima H., Kinoshita A., Yoshiura K.I. and Shibahara T. Target Capture/Next-Generation Sequencing for Nonsyndromic Cleft Lip and Palate in the Japanese Population. *Cleft Palate Craniofac J.*57.80-87.2020
- 10) Tanaka A., Matsuse M., Saenko V., Nakao T., Yamanouchi K., Sakimura C., Yano H., Nishihara E., Hirokawa M., Suzuki K., Miyauchi A., Eguchi S., Yoshiura K.I., Yamashita S., Nagayasu T. and Mitsutake N. TERT mRNA Expression as a Novel Prognostic Marker in Papillary Thyroid Carcinomas. *Thyroid.*29.1105-1114.2019
- 11) Endo Y., Koga T., Nakashima M., Mishima H., Yoshiura K.I. and Kawakami A. Atypical phenotype without fever in a Japanese family with an autosomal dominant transmission of familial Mediterranean fever due to heterozygous MEFV Thr577Asn mutations. *Clin Exp Rheumatol.*37 Suppl 121.161-162.2019
- 12) Taguchi M., Mishima H., Shiozawa Y., Hayashida C., Kinoshita A., Nannya Y., Makishima H., Horai M., Matsuo M., Sato S., Itonaga H., Kato T., Taniguchi H., Imanishi D., Imaizumi Y., Hata T., Takenaka M., Moriuchi Y., Shiraishi Y., Miyano S., Ogawa S., Yoshiura K.I. and Miyazaki Y. Genome analysis of myelodysplastic syndromes among atomic bomb survivors in Nagasaki. *Haematologica.*105.358-365.2020
- 13) Shimizu K., Oba D., Nambu R., Tanaka M., Oguma E., Murayama K., Ohtake A., Yoshiura K.I. and Ohashi H. Possible mitochondrial dysfunction in a patient with deafness, dystonia, and cerebral hypomyelination (DDCH) due to BCAP31 Mutation. *Mol Genet Genomic Med.*8.e1129.2020
2. 学会発表
- 1) 吉浦孝一郎, 森本芳郎, 吉田真太朗, 菰原義弘, 松田勝也, 中島正洋, 三嶋博之, 木下晃, 小野慎治. ヒト正常圧水頭症の原因遺伝子. 第4回放射線災害・医科学研究拠点カンファレンス, 平成31年6月1日(土), 広島大学臨床管理棟3階 大会議室(霞キャンパス), 広島. 【口演】
- 2) 吉浦孝一郎 Genome Sequence for diagnosis and successive research of genetic disorders. 第59回日本先天異常学会学術集会, 愛知学院大学名城公園キャンパス, 2019年7月27日, 名古屋. 【口演】
- 3) 高尾真未, 宮田海香子, 松本 正, 三嶋博之, 三浦清徳, 吉浦孝一郎. 当院の IRUD の実績と遺伝カウンセリングの実際. 第26回 出生前から小児期にわたるゲノム医療フォーラム, 九州大学医学部コラボステーション I 2F 視聴覚ホール, 2019年10月27日, 福岡. 【口演】
- 4) 宮田海香子, 松本 正, 高尾真未, 三嶋博之, 三浦清徳, 吉浦孝一郎. IRUD によって原因遺伝子が確定した家族の出生前検査に対する思い. 第26回 出生前から小児期にわたるゲノム医療フォーラム, 九州大学医学部コラボステーション I 2F 視聴覚ホール, 2019年10月27日, 福岡. 【口演】
- 5) 長谷川ゆり, 宮田海香子, 三浦生子, 吉浦孝一郎, 三浦清徳. 周産期領域における遺伝カウンセリング. 第64回 日本人類遺伝学会, 長崎ブリックホール/長崎新聞社文化ホール, 2019年11月6日~9日, 長崎. 【口演】
- 6) 及川将弘, 瀬戸口優美香, 榎本康子, 久松和史, 濱田哲夫, 大坪竜太, 松本 恵, 矢野 洋, 永安 武, 三嶋博之, 木下 晃, 吉浦孝一郎. 乳がん患者における血漿遊離 DNA (cfDNA) 濃度と血漿循環腫瘍 DNA (ctDNA) の解析. 第64回 日本人類遺伝学会, 長崎ブリックホール/長崎新聞社文化ホール, 2019年11月6日~9日, 長崎. 【口演】
- 7) 古賀智裕, 三嶋博之, 宮田海香子, 三浦清徳, 吉浦孝一郎, 川上 純. 次世代シーケンサーを用いた日本全域の家族性地中海熱患者にお

ける MEFV 遺伝子の包括的解析. 第 64 回 日本人類遺伝学会, 長崎ブリックホール/長崎新聞社文化ホール, 2019 年 11 月 6 日~9 日, 長崎. 【口演】

- 8) 伊達木澄人, 里 龍晴, 渡辺 聡, 宮田海香子, 近藤達郎, 松本 正, 吉浦孝一郎, 森内浩幸. LARP7 遺伝子複合ヘテロ接合体変異による Alazami 症候群の 2 症例. 第 64 回 日本人類遺伝学会, 長崎ブリックホール/長崎新聞社文化ホール, 2019 年 11 月 6 日~9 日, 長崎. 【口演】
- 9) 三嶋博之, 鈴木寿人, 近藤達郎, 吉浦孝一郎, 小崎健次郎. 本邦における先天性形態以上症候群患者の顔貌画像を用い他診断補助システム Face2Gene の評価. 第 64 回 日本人類遺伝学会, 長崎ブリックホール/長崎新聞社文化ホール, 2019 年 11 月 6 日~9 日, 長崎. 【口演】
- 10) 川野奈々江, 福島直喜, 吉浦孝一郎, 井原健二. 重度の成長障害, 精神運動発達遅滞を認めた Ogden 症候群の女兒例. 第 42 回小児遺

伝学会学術集会, 沖縄市町村自治会館, 2020 年 2 月 28 日~29 日, 沖縄. 【口演】(コロナウイルスのため, 学会中止)

#### 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