

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）  
総合研究報告書

「RASopathiesにおける遺伝子特異的臨床症状と成人期における合併症の検討」

研究分担者 青木 洋子

東北大学大学院医学系研究科 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に合併する癭癭、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。これまでに収集した20歳以上のRASopathies患者13人についてのADLや現在の生活場所や学校・職業などの情報を収集した。

**研究協力者**

松原洋一（国立成育医療研究センター研究所）  
緒方 勤（浜松医科大学・小児科）  
黒澤健司（神奈川県立こども医療センター・遺伝科）  
川目 裕（東北大学・東北メディカルメガバンク機構）  
岡本伸彦（大阪府立母子医療センター・遺伝診療科）  
大橋博文（埼玉県立小児医療センター・遺伝科）  
水野誠司（愛知県心身障害者コロニー中央病院）  
呉 繁夫（東北大学・大学院医学系研究科）  
梅澤明弘（国立成育医療研究センター研究所）  
新堀哲也（東北大学・大学院医学系研究科）  
井上晋一（東北大学・大学院医学系研究科）  
阿部太紀（東北大学・大学院医学系研究科）  
堅田有宇（東北大学・大学院医学系研究科）  
永井康貴（東北大学・大学院医学系研究科）  
井上彩（東北大学・大学院医学系研究科）

**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で 1%以下のバリエントを検出した。

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 のレアバリエントが、1 人に PPP1CB のバリエントが同定された(梅木ら、Hum Genet 2019)。LZTR1 のバリエント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ントを有していた。これまでに報告したバリエント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)。

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。今回新規原因遺伝子として RRAS2 を同定し、機能解析を行い報告した。

## 2) 成人患者の臨床症状についての検討

これまでの全国調査などの結果からも特に Costello 症候群・CFC 症候群においては 30 代以上の患者は日本では報告が大ほとんどない。Noonan 症候群においても成人期の合併症や医療管理については検討されていない。

20 歳以上の RASopathies 患者において、悪性腫瘍の合併、心疾患、中枢神経系の異常などの臨床症状に加え、ADL (歩行、精神遅滞、会話、生活場所、学校・職場) も加えた intake list を作成し研究協力者へ配布し調査を開始し結果を収集した。

全国調査を行った 2012 年以降では、15 人の成人患者について調査票を配布した。13 人の年齢は 20 代が 8 人、30 代が 3 人、40 代が 3 人、50 代で 1 人であった。臨床診断としては CFC 症候群が 7 人 (うち BRAF 変異が 5 人、MAP2K1 変異が 1 人、MAP2K2 変異が 1 人)、Noonan 症候群が 6 人 (KRAS が 2 人、PTPN11、RIT1、SOS1、SOS2 が各 1 人)、NSML が 1 人、Costello 症候群が 1 人であった。CFC 症候群の中で情報を収集できた 7 人では、精神遅滞の程度は 5 人が最重度、1 人が重度精神遅滞、1 人は軽度精神遅滞、会話については不能が 4 人、簡単な会話可能が 3 人であった。現在の生活場所は 6 人が自宅、1 人は不明であり、知的障害者通所施設などの施設への通所は 4 人、なしが 2 人、不明が 1 人であった。

ヌーナン症候群では精神遅滞無しが 1 人おり、残りは軽度遅れがあるものの生活には支障なく、就職して働いている人もいた。

他の成人患者における臨床症状で特記すべきものとして 2 人の Noonan 症候群患者に冠動脈瘤の増大を認めた患者を経験した。1 人は 40 歳男性であり、循環器科受診時に左右冠動脈瘤と僧帽弁の colapse を認めた。その後遺伝子診断により KRAS 変異が同定され、Noonan/CFC 症候群と診断された。もう 1 人は 44 歳男性で、肥大型心筋症、精神遅滞、ヌーナン症候群を疑わせる特異的顔貌を有していた。紹介時、左前下降枝の走行異常と、右冠動脈と、左冠動脈主幹部に動脈瘤を認めたためバイパス手術を受けた。遺伝子解析にて PTPN11 の c.1517A>C (p.Q506P) が同定され Noonan 症候群と診断できた。

## 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。

RASopathies の成人における症状や生活、自然歴などはまだ明らかではない。私たち研究班では、2012 年の全国調査時に、15 人の Costello 症候群・CFC 症候群成人患者の報告を行った。今回は 15 人の成人患者の生活歴などを含めた調査を行った。CFC 症候群と Noonan 症候群の情報についてそれぞれ 7 人、6 人が収集されたが、CFC 症候群では精神遅滞が最重度・重度の精神遅滞は 6 人であった。Noonan 症候群では軽度知的障害や学習障害を有する者もいるが、生活には支障なく生活を行っていた。しかしながら、KRAS と PTPN11 変異を持つ 40 代の成人患者に冠動脈の走行異常や冠動脈瘤が見られた。2019 年には、フランスの NSML の患者においても巨大な大動脈瘤合併の報告があり、RASopathies 成人患者の合併症として冠動脈瘤も留意する合併症である可能性が示唆された。

## E. 結論

LZTR1 のバリエーションの分布と臨床症状と合併症を詳細に検討した。RASopathies 患者における臨床症状について検討を継続し、けいれん、腫瘍合併症例について検討を行った。RASopathies 成人患者 15 人の生活状況や臨床症状を解析し、2 人の患者に冠動脈瘤の合併を認めた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) S. I. Inoue, S. Takahara, T. Yoshikawa, T. Niihori, K. Yanai, Y. Matsubara, and Y. Aoki, “Activated Braf induces esophageal dilation and gastric epithelial hyperplasia in mice,” *Hum Mol Genet*, vol. 26, no. 23, pp. 4715-4727, Dec 1, 2017
- 2) K. Ueda, M. Yaoita, T. Niihori, Y. Aoki, and N. Okamoto, “Craniosynostosis in patients with RASopathies: Accumulating clinical evidence for expanding the phenotype,” *Am J Med Genet A*, vol. 173, no. 9, pp. 2346-2352, Sep, 2017.
- 3) D. Oba, S. I. Inoue, S. Miyagawa-Tomita, Y. Nakashima, T. Niihori, S. Yamaguchi, Y.

Matsubara, and Y. Aoki, “Mice with an Oncogenic HRAS Mutation are Resistant to High-Fat Diet-Induced Obesity and Exhibit Impaired Hepatic Energy Homeostasis,” *EBioMedicine*, vol. 27, pp. 138-150, Jan, 2018.

- 4) 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  $\beta$ -adrenergic stimulation-induced cardiac fibrosis. *EBioMedicine*. 2019 Mar 18. pii: S2352-3964(19)30154-9.
  - 5) 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]
  - 6) 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
  - 7) 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
  - 8) Shoji Y, Ida S, Niihori T, Aoki Y, Okamoto N, Etani Y, Kawai M. Genotype-phenotype correlation analysis in Japanese patients with Noonan syndrome. *Endocr J*. 28;66(11):983-994, 2019
  - 9) \*Niihori T, Nagai K, Fujita A, Ohashi H, Okamoto N, Okada S, Harada A, Kihara H, Arbogast T, Funayama R, Shirota M, Nakayama K, Abe T, Inoue SI, Tsai IC, Matsumoto N, Davis EE, \*Katsanis N, Aoki Y. Germline-Activating RRAS2 Mutations Cause Noonan Syndrome. *Am J Hum Genet*. 104(6):1233-1240, 2019
- ### 2. 学会発表
- 1) 青木 洋子. 単一遺伝子疾患におけるゲノム医療の発展：新しい疾患概念形成と治療

法開発へ 第60回日本腎臓学会学術総会  
2017/5/26、国内

- 2) 青木 洋子. 遺伝性疾患の病態解明から新しい生命現象を明らかにする 第59回日本小児神経学会学術集会 2017/6/15、国内
- 3) 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 conmferece Milan 2018 2018/6/15-16、国外
- 4) 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
- 5) 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
- 6) イブニング教育セミナー 2018/10/4、国内
- 7) 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
- 8) 青木洋子、梅木郁美、阿部太紀、岡本伸彦、水野誠司、黒澤健司、長崎啓祐、吉田真、大橋博文、井上晋一、松原洋一、藤原幾磨、呉繁夫、新堀哲也 Noonan 症候群類縁疾患の網羅的解析と LZTR1 の機能

解明、第43回日本遺伝カウンセリング学会学術集会 第26回日本遺伝子診療学会大会、2019/8/3日、国内

- 9) Yoko Aoki, Shin-Ichi Inoue, Taiki Abe, Yu Katata, Aya Shibui-Inoue, Koki Nagai and Tetsuya NiihoriRASopathies : genetic syndromes associ d with the Ras/MAPK pathway、Tohoku Forum for Creativity Thematic program 2019 International symposium1 Cancer Etiology、2019/9/24、国内
- 10) 青木洋子 「NGS を用いた希少遺伝性疾患の研究やその医療への応用」、第37回日本染色体遺伝子学会学術集会 教育講演2 2019/1/16日、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