

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

「PCS (MVA) 症候群の遺伝的異質性に関する研究」

研究分担者 松浦 伸也

所属・職位 広島大学 原爆放射線医科学研究所 教授

研究要旨

非典型的な経過を示す PCS (MVA) 症候群の 5 家系について病因および病態解析を実施した。その結果、2 家系に既知の原因遺伝子である BUB1B に変異を同定した。変異が認められなかった 3 家系のうち 1 家系に新規原因遺伝子として CDC20 を同定した。CDC20 にミスセンス変異を保有していた 54 歳女性は著明な早老症を呈しており、紡錘体形成チェックポイント異常と早老性の関連性がヒトで初めて明確に示された。

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

宮本達雄・広島大学・准教授

阿久津シルビア夏子・広島大学・助教

A. 研究目的

本研究は、PCS (MVA) 症候群の標準的診断法の確立と合併症の予見・早期治療による医療の質の向上を目的としている。また、発症メカニズムの解明により、将来的な治療法の開発を目指している。

B. 研究方法

PCS (MVA) 症候群の非典型 5 家系を収集して遺伝子型と表現型の関連性を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究では、稀少性遺伝病のゲノム DNA を使用することから、個人情報保護を必要がある。研究代表者はこれまでに広島大学ヒトゲノム研究倫理審査委員会に研究申請を行い、すでに承認を受けている（課題名：先天異常症候群の病因遺伝子と病態に関する研究・承認番号：ヒ-94 号）。

C. 研究結果

PCS (MVA) 症候群は、国内外で約 50 例が知られている。患児は出生前から発育遅滞を示し、重度の小頭症を呈する。小脳虫部の低形成を伴う Dandy-Walker 奇形を示し、生後数ヶ月から難治性けいれんを発症する。両眼の白内障・小眼

球症・口蓋裂・男児の外性器異常・肥満をときに認める。ウィルムス腫瘍または横紋筋肉腫を発症する。

非典型的な経過を示す PCS (MVA) 症候群の 5 家系を収集した。1 例目は、4 歳男児。言葉の後れと特異顔貌、中等度難聴を認めた。染色体検査で PCS 核板を 24.5% に認め、遺伝子検査で、BUB1B のミスセンス変異をヘテロ接合体に検出したことから、PCS (MVA) 症候群の保因者と診断した。

2 例目は、生後 42 週の男児。先天性乳糜胸水と、出生後から傾眠傾向を認めた。染色体検査で PCS 核板を 24.5% に認めたが、遺伝子検査で、BUB1B 遺伝子に変異は検出されなかったことから、BUB1B 以外の病態が考えられた。

3 例目は、2 歳の男児。生後から筋緊張低下があり、染色体検査で 19 番染色体のフルトリソミーモザイクが認められた。生後 6 ヶ月の染色体検査では、多彩異数性モザイクが検出された。筋緊張が低下しており、気管切開を実施した。頭部 MRI で Dandy-Walker 奇形を認めたが、痙攣や悪性腫瘍の合併は見られなかった。遺伝子検査で、BUB1B 遺伝子に変異は検出されなかった。

4 家系目は、横紋筋肉腫発症を発症した 4 歳と 8 歳の兄弟例。いずれも本疾患に特徴的な症状を

認めなかったが、染色体検査でPCS核板を約70%に検出し、遺伝子検査でBUB1Bの遺伝子間領域変異とスプライス変異の複合ヘテロ接合体であることが判明した。5家系目は、早老症の54歳の女性。末梢血白血球に多彩異数性モザイクを認めた。患者と両親の全エクソーム解析により、染色体分離を促進する細胞周期調節因子CDC20にミスセンス変異が同定された。

D. 考察

本研究により、PCS(MVA)症候群の遺伝的異質性が明らかとなった。今後は、さらに症例を収集し、個々人の病態に応じた医療管理ガイドラインを作成して、最終的に患児のQOLに貢献したいと考えている。

E. 結論

PCS(MVA)症候群の非典型例5家系について病因と病態解明を行った。その結果、1家系に新規原因遺伝子としてCDC20を同定した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) T. Miyamoto, S. N. Akutsu, A. Fukumitsu, H. Morino, Y. Masatsuna, K. Hosoba, H. Kawakami, T. Yamamoto, K. Shimizu, H. Ohashi, and S. Matsuura, PLK1-mediated phosphorylation of WDR62/MCPH2 ensures proper mitotic spindle orientation., *Hum Mol Genet*, vol. 26 no. 22, 4429-4440, 2017
- 2) E. Royba, T. Miyamoto, S. Natsuko Akutsu, K. Hosoba, H. Tauchi, Y. Kudo, S. Tashiro, T. Yamamoto, and S. Matsuura, Evaluation of ATM heterozygous mutations underlying individual differences in radiosensitivity using genome editing in human cultured cells., *Sci Rep*, vol. 7 no. 1, 5996, 2017
- 3) H. Nagashima, K. Shiraishi, S. Ohkawa, Y. Sakamoto, K. Komatsu, S. Matsuura, A. Tachibana, and H. Tauchi, Induction of somatic mutations by low-dose X-rays: the challenge in recognizing radiation-induced events., *J Radiat Res*, vol. 59 no. suppl_2, ii11-ii17, 2018
- 4) T. Miyamoto, S. N. Akutsu, and S. Matsuura, Updated summary of genome editing technology in human cultured cells linked to human genetics studies., *J Hum Genet*, vol. 63 no. 2, 133-143, 2018
- 5) S. Matsuura, The effects of radiation on the human body., *Peace Culture*, vol. 78 no. 1, 9-12, 2017
- 6) A. Inoko, T. Yano, T. Miyamoto, S. Matsuura, T. Kiyono, N. Goshima, M. Inagaki, and Y. Hayashi, "Albatross/FBF1 contributes to both centriole

duplication and centrosome separation," *Genes Cells*, vol. 23, no. 12, pp. 1023-1042, Dec, 2018.

- 7) T. Miyamoto, S. N. Akutsu, H. Tauchi, Y. Kudo, S. Tashiro, T. Yamamoto, and S. Matsuura, "Exploration of genetic basis underlying individual differences in radiosensitivity within human populations using genome editing technology," *J Radiat Res*, vol. 59, no. suppl_2, pp. ii75-ii82, Apr 1, 2018.
 - 8) Yoshida, S. Yamaoka, M. Yoshida, K. Nakabayashi, R. Shirai, T. Osumi, C. Kiyotani, S. Akutsu, T. Miyamoto, K. Hata, N. Kiyokawa, Y. Yoza, K. Matsumoto, S. Matsuura and M. Kato. OS25-1-3 Familial rhabdomyosarcoma due to germline bi-allelic variants of BUB1B. *Pediatr Blood Cancer* 66.e28049.2019
 - 9) S. N. Akutsu, K. Fujita, K. Tomioka, T. Miyamoto and S. Matsuura. Applications of Genome Editing Technology in Research on Chromosome Aneuploidy Disorders. *Cells*;9.2020
 - 10) T. Miyamoto, K. Hosoba, T. Itabashi, A. H. Iwane, S. N. Akutsu, H. Ochiai, Y. Saito, T. Yamamoto and S. Matsuura. Insufficiency of ciliary cholesterol in hereditary Zellweger syndrome. *EMBO J*;e103499.2020
- ##### 2. 学会発表
- 1) Fujita H, et al. Genetic characterization of a patient with a progeroid phenotype and mosaic variegated aneuploidy. KEYSTONE SYMPOSIA MEETING, Aging and Mechanism of Aging-Related Disease (Yokohama) May 15-19, 2017
 - 2) 宮本達雄, 他 放射線感受性個人差を規定する遺伝素因の定量的評価としてのヒト培養細胞株におけるゲノム編集 第58回原子爆弾後障害研究会 (広島) 2017年6月4日
 - 3) 宮本達雄, 他 ヒト培養細胞におけるCRISPR - ObLiGaRe法を用いた放射線発がんリスクの個人差を規定する遺伝素因の探索 第2回日本ゲノム編集学会 (大阪) 2017年6月28~30日
 - 4) Royba E. et al. Evaluation of ATM heterozygous mutations underlying individual differences in radiosensitivity using genome editing in human cultured cells 第42回中国地区放射線影響研究会 (広島) 2017年7月27日
 - 5) Miyamoto T, et al. PLK1-mediated phosphorylation of WDR62/MCPH2 is required for proper mitotic spindle orientation 第75回日

- 本癌学会学術総会（横浜）2017年9月29～30日
- 6) 宮本達雄 他 分裂期キナーゼ PLK1 による遺伝性小頭症原因遺伝子産物 WDR62 のリン酸化を介した細胞分裂軸安定化機構 第 60 回日本放射線影響学会（千葉）2017年10月25～28日
 - 7) 小林純也 他 低線量率放射線照射によるミトコンドリア影響と ROS 産生との関係 第 60 回日本放射線影響学会（千葉）2017年10月25～28日
 - 8) 宮本達雄 他 放射線に対する強さ・弱さの個人差を決める遺伝子変化の探索 共同利用・共同研究拠点「放射線災害・医科学研究拠点」県民公開大学（福島）2018年1月20日
 - 9) Akutsu SN, et al. Experimental trials for the chromosome aneuploidy correction in Down syndrome cell lines. 第 59 回原子爆弾後障害研究会（長崎）2018年6月3日
 - 10) 宮本達雄, 他 Synthesis Dependent Strand Annealing に依存した ssODN ノックインの可能性について: ssODN 導入マウス作製からの知見 第 3 回日本ゲノム編集学会(広島)2018年6月18～20日
 - 11) Akutsu SN, et al. Development of chromosomal Therapies to rescue trisomy 21 to normal karyotype 第 43 回中国地区放射線影響研究会（広島）2018年7月31日
 - 12) 宮本達雄, 他 ヒト培養細胞におけるゲノム編集を用いた遺伝性小頭症の病因・病態解明 第 63 回日本人類遺伝学会（横浜）2018年10月10～13日
 - 13) 宮本達雄, 他 ゲノム編集技術を用いた NBS1 I171V 多型ノックインマウスの作製 第 61 回日本放射線影響学会（長崎）2018年11月7～9日
 - 14) 河村香寿美, 他 日本人 AT-LD 患者における MRE11 変異部位と DNA 損傷応答異常との関係 第 61 回日本放射線影響学会（長崎）2018年11月7～9日
 - 15) Akutsu SN, et al. Experimental strategies for the chromosome therapy in Down syndrome cell. 第 61 回日本放射線影響学会（長崎）2018年11月7～9日
 - 16) 宮本達雄, 他 ゲノム編集技術を用いたナイミーヘン症候群原因遺伝子 NBS1 I171V 多型ノックインマウスの作製 第 41 回日本分子生物学会年会（横浜）2018年11月28～30日
 - 17) 河村香寿美, 他 日本人 AT-LD 患者における MRE11 変異部位と DNA 損傷応答異常との関係 第 41 回日本分子生物学会年会(横浜) 2018年11月28～30日
 - 18) Miyamoto T, et al. Generation of NBS1 I171V knock-in mice using genome editing technology. The 3rd International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science (Fukushima) 13-14 January, 2019
 - 19) Nagashima H, et al. Analysis of somatic mutations induced by low-dose X-ray by using a hypersensitive system. The 3rd International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science (Fukushima) 13-14 January, 2019
 - 20) 宮本達雄, 他 放射線に対する強さ・弱さの個人差を決める遺伝子変化の探索 第 3 回ふくしま県民公開大学（福島）2019年2月23日
 - 21) 松浦伸也, 他 ヒト培養細胞の染色体数維持機構に関する研究 第 3 回放射線災害・医科学研究拠点カンファランス（長崎）2019年6月2日
 - 22) 宮本達雄, 他 放射線感受性個人差を規定する遺伝素因の探索とリスク定量 第 4 回放射線災害・医科学研究拠点カンファランス（広島）2019年6月1日
 - 23) 富岡啓太, 他 放射線感受性の遺伝的個人差を規定する候補素因としての NBS1 遺伝子 I171V 多型の定量的評価 原子爆弾後障害研究会（広島）2019年6月2日
 - 24) 阿久津シルビア夏子, 他 CRISPR-ObLiGaRe 法を用いた iPS 細胞における蛍光核標識によるモザイク・トリソミー21 のモデル細胞系の開発 第 4 回日本ゲノム編集学会(東京)2019年6月3～5日
 - 25) Akutsu SN, et al. The generation of mosaic trisomy 21 model cells using cells from a patient with full trisomy 21 by trisomy rescue during cell reprogramming and their modification with fluorescent nuclear markers by genome editing technique. The 65th Brazilian Congress of Genetics (São Paulo) 17-20 September, 2019
 - 26) Akutsu SN, et al. Generation of Down syndrome iPS cells tagged with fluorescence marker in chromosome 21 using genome editing technology. 第 64 回日本人類遺伝学会（長

崎) 2019年11月6~9日

- 27)田内 広, 他 DNA二重鎖切断修復を標的とした放射線治療創薬の取り組み 第62回日本放射線影響学会(京都)2019年11月14~16日
- 28)富岡啓太, 他 NBS1遺伝子I171V多型の放射線感受性に対する定量的評価 第62回日本放射線影響学会(京都)2019年11月14~16日
- 29)河村香寿美, 他 ATLD細胞におけるMRN複合体形成タンパク質の発現制御メカニズム 第62回日本放射線影響学会(京都)2019年11月14~16日
- 30)Yoshida K, et al. BUB1Bの生殖細胞系列の両アレルバリエーションによる家族性横紋筋肉腫 第61回小児血液・がん学会学術集会(広島)2019年11月14~16日
- 31)富岡啓太, 他 放射線感受性の遺伝的個人差を規定する候補素因としてのNBS1遺伝子I171V多型の逆遺伝学的解析 第42回日本分子生物学会年会(福岡)2019年12月3~6日
- 32)河村香寿美, 他 新規ATLD変異細胞を用いたMRN複合体形成タンパク質の発現制御メカニズムの解析 第42回日本分子生物学会年会(福岡)2019年12月3~6日
- 33)Tomioka K, et al. Quantitative evaluation of the NBS1 I171V variant on radiosensitivity. The 4th International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science (Hiroshima) 12 February, 2020

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