

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

インプリンティング異常を主徴とする先天異常症候群：
第14 番染色体父親性ダイソミーおよびその類縁疾患、先天異常症候群等

研究分担者 緒方 勤
浜松医科大学小児科・教授

研究要旨

本研究班の目的は、Reverse phenotypingを包含したアプローチにより先天異常症候群のライフステージ全体の自然歴と合併症を把握することである。そして、われわれはヒトインプリンティング疾患について検討を進めている。本年度の成果には、多くのインプリンティング疾患患者の集積、第14 番染色体父親性ダイソミー症候群（Kagami-Ogata症候群）の新規発症機序同定、Silver-Russell症候群の新規発症機序同定が挙げられる。われわれは、これらの成果をもとに、Kagami-Ogata症候群、Temple症候群、Silver-Russell症候群の臨床診断基準や遺伝学的アプローチと共に、自然歴や合併症のデータベースを作成する予定である。

研究協力者

鏡雅代・国立成育医療研究センター研究所 分子内分泌研究部 室長

A. 研究目的

本研究班の目的は、Reverse phenotypingを包含したアプローチにより先天異常症候群のライフステージ全体の自然歴と合併症を把握することである。そして、われわれは、第14 番染色体父親性ダイソミー症候群（Kagami-Ogata症候群）、Temple症候群、Silver-Russell症候群を主としてヒトインプリンティング疾患の検討を進めている。

B. 研究方法

インプリンティング疾患が想定される患者を国内外から集積し、遺伝学的解析を行い、その原因に基づいて表現型を再検討する。すなわち、通常の臨床診断から遺伝子診断という通常の流れと共に、reverse phenotyping の手法を駆使した自然歴と合併症の把握を実施する。

(倫理面への配慮)

本研究の遂行にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針を遵守して行い、検体は、書面によるインフォームド・コンセントを取得後に収集した。なお、下記の研究課題が、浜松医科大学倫理委員会で承認されていることを付記する。

- 成長障害における遺伝的原因の探索
- 先天性奇形症候群における遺伝的原因の探索

C. 研究結果

＜インプリンティング疾患患者の集積＞

われわれは、国内外からインプリンティング疾患患者の集積を長年に亘って行っている。現在までに、約60例の第14 番染色体父親性ダイソミー症候群（Kagami-Ogata症候群）患者、約40例のTemple症候群患者、約400例のSilver-Russell症候群患者を集積している。このような大規模のインプリンティング疾患患者の集積は世界的にも稀であり、国際共同研究も含めて、研究の基盤となっている。

＜第14 番染色体父親性ダイソミー症候群

（Kagami-Ogata症候群）の新規発症機序同定＞

本症候群は、多くのインプリンティング疾患と同様、インプリンティング領域を含む片親性ダイソミー、エピ変異、微細欠失に起因することが知られている。本年度、われわれは、世界で初めて第14染色体インプリンティング領域を含む均衡型転座によるKagami-Ogata症候群患者を同定した。

この患者は、NICU入院時にKagami-Ogata症候群に特徴的なレントゲン像であるコートハンガー様肋骨とベル型胸郭を呈した。（図1）。

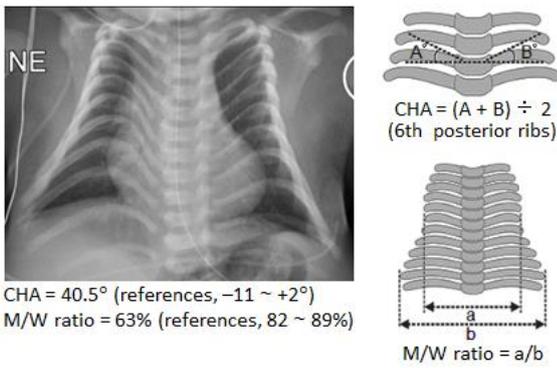


図1. Kagami-Ogata 症候群に特徴的なレントゲン像

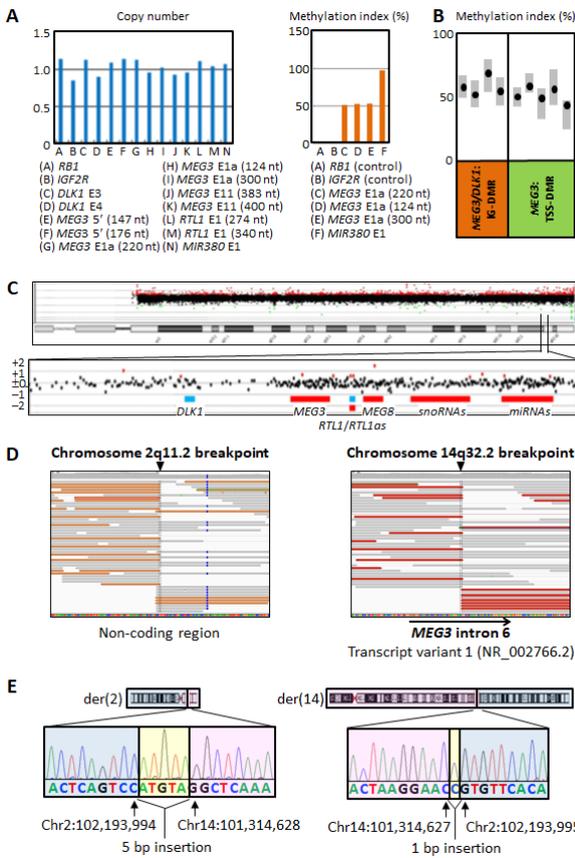


図2. 分子遺伝学的解析結果

しかし、既知の父性ダイソミー、*MEG3/DLK1:IG-DMR*と*MEG3:TSS-DMR*のエピ変異、微細欠失は除外された(図2A, B, C)。そして、染色体検査で母由来の46,XX,t(2;14)(q11.2;q32.2)が検出された。そこで、全ゲノム解析を行い、正確な欠失点が*MEG3*上に存在することを明らかとした(図2D, E)。

この結果は、第14染色体インプリンティング領域の母性発現遺伝子群が、*MEG3*のプロモーターで発現する1塊の遺伝子であり、*MED3*の破断により全ての母性発現遺伝子群の作用が消失したことで

説明される。すなわち、*RTL1as*の発現低下により、父性発現遺伝子*RTL1*が過剰発現し、Kagami-Ogata症候群を招いたと推測される(図3)。母の正常表現型は、この切断点が父由来の第14染

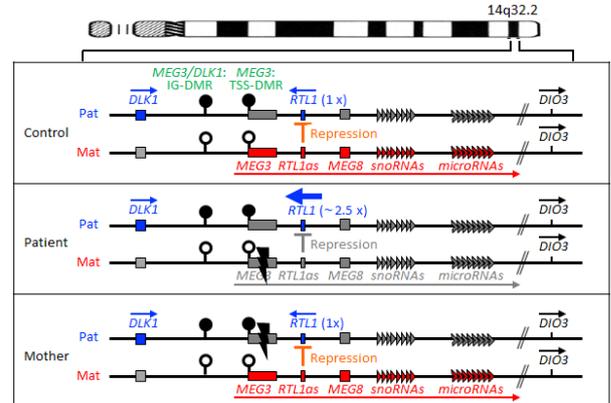


図3. 患者と母におけるインプリンティング遺伝子発現パターン

色体に存在したと仮定することで説明される。

＜Silver-Russell症候群の新規発症機序同定＞

われわれは、Netchine-HarisonのSilver-Russell症候群診断基準6つを全て満足する患者において全染色体母性ダイソミーモザイク(末梢血白血球において全染色体母性ダイソミー細胞70%と正常細胞30%のモザイク)という極めて稀な状態を同定した。すなわち、全ての解析した染色体のメチル化可変領域が母由来パターン優位のメチル化状態を呈し(図4)、SNP array解析(図5)およびマイクロサテライト解析(図6)で第2極体のretentionを介して産生されたことが判明した(図7)。この第2極体のretentionを介するparthenogenetic mosaicism形成の同定は世界初の成果である。

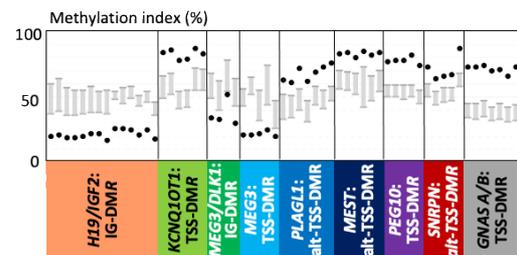


図4. 母由来アレル優位の DMR メチル化解析結果

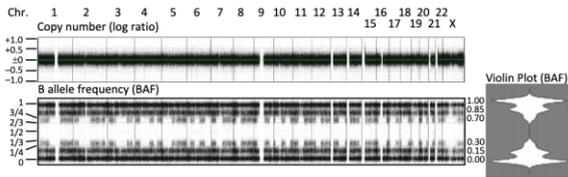


図 5. 4 および 6 BAF bands の存在を示す SNP array 解析

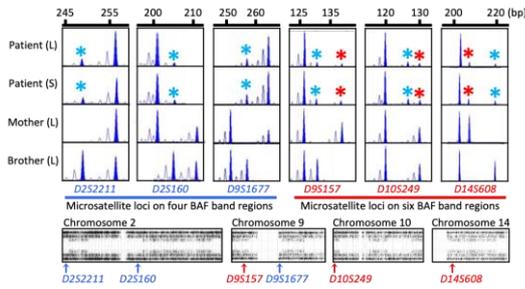


図 6. マイクロサテライト解析結果
4 BAF バンド領域上のマイクロサテライト座位は、1 個の maternao isodisomy を示す大きなピークと 1 個の父由来マイナーピークを伴う。一方、6 BAF バンド領域上のマイクロサテライト座位は、1 個の maternao isodisomy を示す大きなピークと 1 個の父由来マイナーピークと 1 個の母由来マイナーピークを伴う。

この患者は、成長障害を主徴とする典型的なシルバーラッセル症候群の表現型を呈し、これは、 $upd(7)mat$, $upd(11)mat$, $upd(1)mat$, $upd(20)mat$ がシルバーラッセル症候群を呈することに一致する。

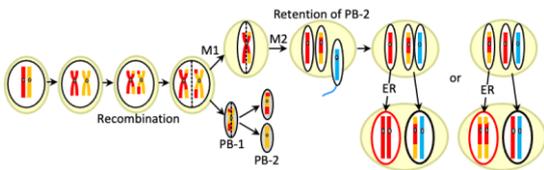


図 7. 第 2 極体の retention を介する parthenogenetic mosaicism 形成機序

D. 考察

本年度、多くのインプリンティング疾患患者の集積、第 14 番染色体父親性ダイソミー症候群 (Kagami-Ogata 症候群) の新規発症機序同定、Silver-Russell 症候群の新規発症機序同定という成果が挙げられた。われわれは、これらの成果をもとに、Kagami-Ogata 症候群、Temple 症候群、Silver-Russell 症候群の臨床診断基準や遺伝学的アプローチと共に、自然歴や合併症のデータベースを作成する予定である。

E. 結論

本年度、インプリンティング疾患患者の集積、第 14 番染色体父親性ダイソミー症候群

(Kagami-Ogata 症候群) の新規発症機序同定、Silver-Russell 症候群の新規発症機序同定がなされた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Binder G, Nakamura A, Schweizer R, Ogata T, Fukami M, Nagasaki K. Long-term Effect of Aromatase Inhibition in Aromatase Excess Syndrome. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2021;106(5):1491-500.

2) Fujisawa Y, Kitaoka T, Ono H, Nakashima S, Ozono K, Ogata T. Case Report: Efficacy of Reduced Doses of Asfotase Alfa Replacement Therapy in an Infant With Hypophosphatasia Who Lacked Severe Clinical Symptoms. Frontiers in endocrinology. 2020;11:590455.

3) Fukami M, Fujisawa Y, Ono H, Jinno T, Ogata T. Human Spermatogenesis Tolerates Massive Size Reduction of the Pseudoautosomal Region. Genome biology and evolution. 2020;12(11):1961-4.

4) Fuke T, Nakamura A, Inoue T, Kawashima S, Hara KI, Matsubara K, Sano S, Fukami M, Ogata T, Kagami M. Role of Imprinting Disorders in Short Children Born SGA and Silver-Russell Syndrome Spectrum. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2021;106(3):802-13.

5) Hara-Isono K, Matsubara K, Fuke T, Yamazawa K, Satou K, Murakami N, Saitoh S, Nakabayashi K, Hata K, Ogata T, Fukami M, Kagami, M. Genome-wide methylation analysis in Silver-Russell syndrome, Temple syndrome, and Prader-Willi syndrome. Clinical epigenetics. 2020;12(1):159.

6) Hara-Isono K, Matsubara K, Mikami M, Arima T, Ogata T, Fukami M, et al. Assisted reproductive technology represents a possible risk factor for development of epimutation-mediated imprinting disorders for mothers aged ≥ 30 years. Clinical epigenetics. 2020;12(1):111.

7) Hayashi T, Hosono K, Kubo A, Kurata K, Katagiri S, Mizobuchi K, Kurai M, Mamiya N, Kondo M, Tachibana T, Saitsu H, Ogata T, Nakano T, Hotta Y. Long-term observation of a Japanese mucopolipidosis IV

- patient with a novel homozygous p.F313del variant of MCOLN1. American journal of medical genetics Part A. 2020;182(6):1500-5.
- 8)Hiraide T, Kubota K, Kono Y, Watanabe S, Matsubayashi T, Nakashima M, Kaname T, Fukao T, Shimozawa N, Ogata T, Saitsu H. POLR3A variants in striatal involvement without diffuse hypomyelination. Brain & development. 2020;42(4):363-8.
- 9)Hiraide T, Watanabe S, Matsubayashi T, Yanagi K, Nakashima M, Ogata T, Saitsu H. A de novo TOP2B variant associated with global developmental delay and autism spectrum disorder. Molecular genetics & genomic medicine. 2020;8(3):e1145.
- 10)Hiraide T, Yamoto K, Masunaga Y, Asahina M, Endoh Y, Ohkubo Y, Matsubayashi T, Tsurui S, Yamada H, Yanagi K, Nakashima M, Hirano K, Sugimura H, Fukuda T, Ogata T, Saitsu H. Genetic and phenotypic analysis of 101 patients with developmental delay or intellectual disability using whole-exome sequencing. Clinical genetics. 2021.
- 11)Horikawa R, Ogata T, Matsubara Y, Yokoya S, Ogawa Y, Nishijima K, Endo T, Ozono K. Long-term efficacy and safety of two doses of Norditropin® (somatropin) in Noonan syndrome: a 4-year randomized, double-blind, multicenter trial in Japanese patients. Endocrine journal. 2020;67(8):803-18.
- 12)Igarashi M, Masunaga Y, Hasegawa Y, Kinjo K, Miyado M, Saitsu H, Kato-Fukui Y, Horikawa R, Okubo Y, Ogata T, Fukami M. Nonsense-associated altered splicing of MAP3K1 in two siblings with 46,XY disorders of sex development. Scientific reports. 2020;10(1):17375.
- 13)Imura K, Ikeya S, Ogata T, Tokura Y. Erythrokeratoderma variabilis et progressiva with a rare GJB3 mutation. The Journal of dermatology. 2020;47(4):e111-e3.
- 14)Inoue T, Nakamura A, Iwahashi-Odano M, Tanase-Nakao K, Matsubara K, Nishioka J, Maruo Y, Hasegawa Y, Suzumura H, Sato S, Kobayashi Y, Murakami N, Nakabayashi K, Yamazawa K, Fuke T, Narumi S, Oka A, Ogata T, Fukami M, Kagami M. Contribution of gene mutations to Silver-Russell syndrome phenotype: multigene sequencing analysis in 92 etiology-unknown patients. Clinical epigenetics. 2020;12(1):86.
- 15)Iwahashi-Odano M, Fujisawa Y, Ogata T, Nakashima S, Muramatsu M, Narumi S. Identification and functional characterization of a novel PAX8 mutation (p.His39Pro) causing familial thyroid hypoplasia. Clinical pediatric endocrinology : case reports and clinical investigations : official journal of the Japanese Society for Pediatric Endocrinology. 2020;29(4):173-8.
- 16)Kinjo K, Nagasaki K, Muroya K, Suzuki E, Ishiwata K, Nakabayashi K, Hattori A, Nagao K, Nozawa RS, Obuse C, Miyado K, Ogata T, Fukami M, Miyado M. Rare variant of the epigenetic regulator SMCHD1 in a patient with pituitary hormone deficiency. Scientific reports. 2020;10(1):10985.
- 17)Kinjo K, Yoshida T, Kobori Y, Okada H, Suzuki E, Ogata T, Miyado M, Fukami M. Random X chromosome inactivation in patients with Klinefelter syndrome. Molecular and cellular pediatrics. 2020;7(1):1.
- 18)Mano H, Fujiwara S, Takamura K, Kitoh H, Takayama S, Ogata T, Haga N. Treatment approaches for congenital transverse limb deficiency: Data analysis from an epidemiological national survey in Japan. Journal of orthopaedic science : official journal of the Japanese Orthopaedic Association. 2020.
- 19)Masunaga Y, Fujisawa Y, Muramatsu M, Ono H, Inoue T, Kagami M, Fukami M, Kagami M, Saitsu H, Ogata T. Insulin resistant diabetes mellitus in SHORT syndrome: case report and literature review. Endocrine journal. 2021;68(1):111-7.
- 20)Masunaga Y, Inoue T, Yamoto K, Fujisawa Y, Sato Y, Kawashima-Sonoyama Y, Morisada N, Iijima K, Ohata Y, Kagami M, Namba N, Suzumura H, Kuribayashi R, Yamaguchi Y, Yoshihashi H, Fukami M, Saitsu H, Kagami M, Kagami M, Ogata T. IGF2 Mutations. The Journal of clinical

- endocrinology and metabolism. 2020;105(1).
- 21) Masunaga Y, Kagami M, Kato F, Usui T, Yonemoto T, Mishima K, Fukami M, Saitsu H, Ogata T. Parthenogenetic mosaicism: generation via second polar body retention and unmasking of a likely causative PER2 variant for hypersomnia. *Clinical epigenetics*. 2021;13(1):73.
- 22) Masunaga Y, Mochizuki M, Kadoya M, Wada Y, Okamoto N, Fukami M, Kato F, Saitsu H, Ogata T. Primary ovarian insufficiency in a female with phosphomannomutase-2 gene (PMM2) mutations for congenital disorder of glycosylation. *Endocrine journal*. 2021.
- 23) Nishina S, Hosono K, Ishitani S, Kosaki K, Yokoi T, Yoshida T, Tomita K, Fukami M, Saitsu H, Ogata T, Ishitani T, Hotta Y, Azuma N. Biallelic CDK9 variants as a cause of a new multiple-malformation syndrome with retinal dystrophy mimicking the CHARGE syndrome. *Journal of human genetics*. 2021.
- 24) Omark J, Masunaga Y, Hannibal M, Shaw B, Fukami M, Kato F, Saitsu H, Kagami M, Ogata T. Kagami-Ogata syndrome in a patient with 46,XX,t(2;14)(q11.2;q32.2)mat disrupting MEG3. *Journal of human genetics*. 2021;66(4):439-43.
- 25) Saida K, Fukuda T, Scott DA, Sengoku T, Ogata K, Nicosia A, Hernandez-Garcia A, Lalani SR, Azamian MS, Streff H, Liu P, Dai H, Mizuguchi T, Miyatake S, Miyatake S, Ogata T, Miyake N, Matsumoto N. OTUD5 Variants Associated With X-Linked Intellectual Disability and Congenital Malformation. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2021;9:631428.
- 26) Shima H TE, Okamoto S, Nagamori M, Ogata T, Narumi S, Nakamura A, Izumi Y, Jinno T, Suzuki E, Fukami M. SOX10 Mutation Screening for 117 Patients with Kallmann Syndrome. *J Endocr Soc* 2021.
- 27) Tamaoka S, Suzuki E, Hattori A, Ogata T, Fukami M, Katoh-Fukui Y. NDNF variants are rare in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism. *Human genome variation*. 2021;8(1):5.
- 28) Uchiyama H, Masunaga Y, Ishikawa T, Fukuoka T, Fukami M, Saitsu H, Ogata T. TSC1 intragenic deletion transmitted from a mosaic father to two siblings with cardiac rhabdomyomas: Identification of two aberrant transcripts. *European journal of medical genetics*. 2020;63(11):104060.
- 29) Yamazawa K, Inoue T, Sakemi Y, Nakashima T, Yamashita H, Khono K, Fujita H, Fujita H, Nakabayashi K, Hata K, Nakashima M, Matsunaga T, Nakamura A, Matsubara K, Ogata T, Kagami M. Loss of imprinting of the human-specific imprinted gene ZNF597 causes prenatal growth retardation and dysmorphic features: implications for phenotypic overlap with Silver-Russell syndrome. *Journal of medical genetics*. 2020.
- 30) Yamoto K, Saitsu H, Fujisawa Y, Kato F, Matsubara K, Fukami M, Kagami M, Ogata T. Coffin-Lowry syndrome in a girl with 46,XX,t(X;11)(p22;p15)dn: Identification of RPS6KA3 disruption by whole genome sequencing. *Clinical case reports*. 2020;8(6):1076-80.

2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

該当なし