

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の遺伝学的臨床的検討」

研究分担者 齋藤伸治
名古屋市立大学・大学院医学研究科新生児・小児医学分野・教授

研究要旨

15q11-q13のインプリンティングに関連する疾患としてプラダー・ウィリ症候群（PWS）及びアンジェルマン症候群（AS）の体系的遺伝学的解析を実施した。累計として、PWS疑い172例を解析し、片親性ダイソミー24例、刷り込み変異3例を集積した。AS疑いは185例を解析し、片親性ダイソミー10例、刷り込み変異4例、UBE3A変異30例を集積した。PWS疑いの172例中116例（67%）は遺伝学的にはPWSが否定された。その中には、Temple症候群、Schaaf-Yang症候群及び染色体微細欠失症候群が含まれていた。AS疑いの185例中126例（68%）は遺伝学的にASが否定され、その中に、Rett症候群、Pitt-Hopkins症候群、Christianson症候群が含まれていた。これらの患者のデータベースを構築した。

A. 研究目的

インプリンティング異常を主徴とする先天異常症候群の診断及び自然歴・合併症の治験の構築を目的として遺伝学的臨床的解析を行った。私たちは全国からPrader-Willi症候群（PWS）及びAngelman症候群（AS）疑い例の遺伝学的解析を依頼され、長年にわたり提供している。毎年10～20例の解析依頼がある。そこで、インプリンティング異常を主徴とする先天異常症候群プロトタイプである15q11-q13関連インプリンティング疾患に注目した。体系的な遺伝学的診断法を確立し、疾患データベースを構築するとともに、既存の疾患の類縁疾患を集積し、分類と疾患概念の確立を図る。

B. 研究方法

PWS及びASの遺伝学的診断はまず、SNURF-SNRPN領域のDNAメチル化テストを実施した。メチル化テストが異常の場合は両親の検体を用いて15q11-q13領域の多型マーカーにて親由来を判定した。両親の検体が得られなかった時は片親性ダイソミー（UPD）/刷り込み変異（ID）と分類した。PWSではメチル化テスト正常の場合は、MEG3のメチル化解析を行い、Temple症候群を診断した。次にMAGEL2の変異解析を実施した。さらに、染色体アレイ解析を行った。ASではメチル化テスト正常の場合はUBE3Aの翻訳領域をSanger法で解析した。UBE3Aに変異が同定

されなかった場合は、7遺伝子（UBE3A, SLC9A6, TCF4, MBD5, CDKL5, MECP2, FOXP1）のエクソン領域をAmpliSeq™ Custom Panel (Life Technologies)にてライブラリを作成し、次世代シーケンサー（Ion GeneStudio S5）にて塩基解読を行った。臨床症状は主治医に記載していただいた臨床症状提供用紙に基づき検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は名古屋市立大学大学院医学研究科倫理審査委員会にて承認され、両親から書面による同意を得た。

C. 研究結果

15q11-q13のインプリンティングに関連する疾患としてPWS及びASの体系的遺伝学的解析を実施した。累計として、PWS疑い172例を解析し、片親性ダイソミー24例、刷り込み変異3例を集積した。AS疑いは185例を解析し、片親性ダイソミー10例、刷り込み変異4例、UBE3A変異30例を集積した。PWS疑いの172例中116例（67%）は遺伝学的にはPWSが否定された。その中には、Temple症候群、Schaaf-Yang症候群及び染色体微細欠失症候群が含まれていた。AS疑いの185例中126例（68%）は遺伝学的にASが否定され、その中に、Rett症候群、Pitt-Hopkins症候群、Christianson症候群が含まれ

ていた。これらの患者のデータベースを構築した。

D. 考察

15q11-q13 関連インプリンティング疾患である PWS と AS とはインプリンティング疾患のプロトタイプである。インプリンティング疾患の遺伝学的診断には DNA メチル化テストのようなエピジェネティクス検査が必須であり、重要な役割をはたす。しかし、それだけでは不十分であり体系的な遺伝学的解析が求められる。2020 年に私たちが開発した AS 関連疾患のパネル解析がはずさ DNA 研究所に技術移転されたことで、これらの体系的な遺伝学的検査の大部分が保険診療として商業的に実施することが可能になっている。しかし、一部の補完的な検査は研究対応が必要である。例えば、刷り込み変異はインプリンティングメカニズムの異常により起こり、科学的に重要なグループである。臨床的にも 10%ほどに遺伝性があるために重要である。しかし、刷り込み変異の確定診断は MLPA 法や多型解析の組み合わせが必要であり、私たちの研究室を含めた一部の研究室での研究対応が必要である。このように、インプリンティング関連疾患の遺伝学的診断を商業的に全て実施するには問題が残る。研究機関と商業検査センターが有機的に連携できるシステムの構築が求められる。また、商業的に診断されるだけでは、稀なインプリンティング関連疾患の症例集積が図れない。私たちの研究室で診断できた症例はデータベースとして経験が蓄積されるが、商業移転が進むと症例の把握が困難となる。そのため、安定した稀少疾患のレジストリーの構築のシステムが求められる。

E. 結論

インプリンティング異常を主徴とする先天異常症候群の遺伝学的臨床的解析のプロトタイプとして 15q11q13 関連インプリンティング疾患の体系的な遺伝学的解析を実施し、患者集積とデータベースの構築を行った。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Abe J, Takeda A, Saitoh S. A case of tricuspid atresia with Prader-Willi syndrome. *Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society*. 2020;62(9):1105-6.
- 2) Egawa K, Saitoh S, Asahina N, Shiraishi H. Short-latency somatosensory-evoked potentials demonstrate cortical dysfunction

in patients with Angelman syndrome. *eNeurologicalSci*. 2021;22:100298.

- 3) Egawa K, Saitoh S, Asahina N, Shiraishi H. Variance in the pathophysiological impact of the hemizyosity of gamma-aminobutyric acid type A receptor subunit genes between Prader-Willi syndrome and Angelman syndrome. *Brain & development*. 2021;43(4):521-7.
 - 4) 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.
 - 5) Ieda D, Negishi Y, Miyamoto T, Johmura Y, Kumamoto N, Kato K, Miyoshi I, Nakanishi M, Ugawa S, Ugawa S, Saitoh S. Two mouse models carrying truncating mutations in Magel2 show distinct phenotypes. *PloS one*. 2020;15(8):e0237814.
 - 6) Kondo Y, Aoyama K, Suzuki H, Hattori A, Hori I, Ito K, Yoshida A, Koroki M, Ueda K, Kosaki K, Saitoh S. De novo 2q36.3q37.1 deletion encompassing TRIP12 and NPPC yields distinct phenotypes. *Human genome variation*. 2020;7:19.
- ##### 2. 学会発表
- 1) Yuji Nakamura, Kana Hosoki, Daisuke Ieda, Ikumi Hori, Yutaka Negishi, Ayako Hattori, Shinji Saitoh. Mild Phenotypic features associated with non-truncating UBE3A mutations in Angelman syndrome. 第62回日本小児神経学会学術集会. 2020.8. (オンライン)
 - 2) 堀いくみ, 宮冬樹, 中島光子, 中村勇治, 家田大輔, 大橋圭, 根岸豊, 服部文子, 安藤直樹, 角田達彦, 才津浩智, 金村米博, 小崎健次郎, 齋藤伸治. 当院でエクソーム解析を実施した小児神経疾患症例の臨床的検討. 第62回日本小児神経学会学術集会. 2020.8. (オンライン)

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