

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

「歌舞伎症候群の疾患レジストリ作成と  
診療ガイドライン・重症度分類の改定へむけてのデータ取得」

研究分担者 吉浦孝一郎  
原爆後障害医療研究所・教授

**研究要旨**

本年度はこれまでに遺伝子解析された症例のゲノムのメチル化状態によって亜系分類を試みた。全ゲノムメチル化解析を通して、可能な限り少ない数で重症度の分類に役立つCpGアイランドの探索によって分類することを試みた。歌舞伎症候群患者で特異的に変化している45ヶ所（ $p$ -値 $<0.01$ ）を特定し、そのメチル化率でクラスタリング分類を行うと11名（変異確定例10名と変異未同定例1名）の歌舞伎症候群だけで構成されるクラスターが形成された。

**A. 研究目的**

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の一つである歌舞伎症候群について、九州地区の成育医療施設としての支援機能、診療ガイドライン・重症度分類の改定、疾患レジストリ作成を行う。本年度は、KMT2DおよびKDM6A遺伝子変異の有無、特定領域のDNAメチル化によって症候群が細分化されるか否かの検討を行うことを目的とした。

**B. 研究方法**

本年度も含めて、これまでに収集した臨床診断歌舞伎症候群（変異確定20例、変異陰性例11例）についてメチル化解析を通して、症候群の細分化をはかった。

分類のための歌舞伎症候群患者で特異的に変異化しているメチル化部位の選択には、5名の歌舞伎症候群患者と4名の患者親のゲノムDNAを用いて、亜硫酸処理後全ゲノム塩基配列決定を行い比較検討した。その後、選択した歌舞伎症候群特異的 differentially methylated region (DMR) について、31名の歌舞伎症候群患者、非罹患者子ども11名、非罹患者おとな23名を対象として、ビオチン修飾オリゴヌクレオチドを利用したDNA濃縮法と酵素的メチル化解析法を組み合わせることで細分化を試みた。

(倫理面への配慮)

歌舞伎症候群患者試料は、KMT2D/KDM6A 遺伝子解析および全てゲノム解析およびエピゲノ

ム解析について同意を得た試料である。非罹患者DNAは、他の遺伝解析研究参加者で研究参加時に健常対照として、全てゲノム解析およびエピゲノム解析について同意を得た試料である。

**C. 研究結果**

選択したCpGアイランドのうち歌舞伎症候群患者で特異的に変化している45ヶ所（ $p$ -値 $<0.01$ ）を使って、そのメチル化率でクラスタリング分類を行うと11名（変異確定例10名と変異未同定例1名）の歌舞伎症候群だけで構成されるクラスターが形成される。その他は、歌舞伎症候群がどうもクラスタ形成する傾向はあるものの、非罹患者と似かよったクラスターとして分類された。

**D. 考察**

歌舞伎症候群は、原因遺伝子の変異を必須としない臨床診断である。それは、特異的顔貌や知的障害などがそろっても変異が無い症例や、知的障害が極めて軽度であったり、特異的な顔貌が認められなくても原因遺伝子に変異が認められたりする例が数多く認められるため妥当である。ただし、そのような多様性に富む患者群を何かのバイオマーカーによって階層化・重症度分類を行うことは、今後の臨床に重要である。それらの分類のために遺伝子DNA解析とシトシンメチル化の解析を組み合わせる分類法を確立した。

メチル化解析による分類は、分類の特異性が高い（偽陽性がない）く、変異陰性例の11名のうち1名は、歌舞伎クラスターに分類された。この1名は、変異陽性例と同等の分子遺伝学的検査による歌舞伎症候群診断がなされても良いと考える。

一方、変異が陽性でも歌舞伎症候群クラスターに分類されない例も多く、変異陰性歌舞伎症候群とメチル化解析では分類できない。我々が使った45ヶ所のCpGアイランドによる分類がどのような臨床分類と関連しているかは、今後の解析が必要であるが、遺伝子変異による分類とは異なる何らかの臨床症状による亜系分類を示唆しているように思われる。

## E. 結論

～50所程度の領域メチル化状態で多くの歌舞伎症候群を分類できるようになった。ただし、その分類から外れても当該2遺伝子の病的変異をもつ患者が多くいる。逆にイントロンも含めて変異が見つからないが、メチル化状態で歌舞伎症候群に分類される患者も存在する。このことから、現在の原因遺伝子の変異を必須としない診断基準は至極妥当であること、メチル化状態は診断バイオマーカーとなり得ること、DNA診断とメチル化診断によって歌舞伎症候群が多くの亜系に分類できることが明かである。今後、これらの亜系分類が、どのような症状や重症度と関係するか定めて行く必要がある。

## F. 研究発表

1. 論文発表  
なし

2. 学会発表

1) 吉浦孝一郎. 新しいゲノム解析技術～メチル化解析～. 第44回日本遺伝カウンセリング学会学術集会. 2020.7.3～5. 沖縄(on line 開催).

## 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