

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
分担研究報告書

「Noonan症候群の診療ガイドラインの作成に関する研究」

研究分担者 青木洋子
東北大学大学院医学系研究科 遺伝医療学分野 教授

研究要旨

ヌーナン症候群症候群は、低身長、心疾患・骨格異常・軽度の精神遅滞や発達障害を示す先天異常症候群である。ヌーナン症候群の原因としてRAS/MAPKシグナル伝達経路の複数の分子に変異が同定されてきたが、現在も新規原因遺伝子が同定され報告されている。本研究では、日本における遺伝子陽性患者の表現型の検討を行いながら、ヌーナン症候群の診断基準の改定と診療ガイドライン策定をめざす。本年度は現在日本で保険収載遺伝子には含まれていない新規原因遺伝子についてその病原性について文献的考察を行うと共に、ヌーナン症候群の診断・診療ガイドライン作成のためにCQの設定を行った。

A. 研究目的

ヌーナン症候群は、低身長、心疾患・骨格異常・軽度の精神遅滞や発達障害を示す先天異常症候群である。ヌーナン症候群の原因としてRAS/MAPKシグナル伝達経路の複数の分子に変異が同定されてきたが、まだ原因不明の患者は存在し、現在も新規原因遺伝子が同定され報告されている。本研究では、日本における遺伝子診断による表現型の検討を行いながら、ヌーナン症候群の診断基準の改定と診療ガイドライン策定をめざす。

B. 研究方法

1) 最近同定された原因遺伝子陽性患者の表現型の検討と文献的考察

日本における保険収載されている Noonan 症候群の原因遺伝子は以下の9個になっている

(PTPN11,SOS1,RAF1,RIT1,KRAS,NRAS,SHOC2,CBL,BRAF)、遺伝学的検査に組み込まれていない遺伝子、あるいはごく最近同定された新規原因遺伝子について、日本人における遺伝子同定状況と、ClinGen Expert Panel における検討結果と (Grant et a. Human Mutat, 2018) 照らし合わせて文献的な考察を行った。

2) CQ の設定

ヌーナン症候群の診断基準や診療ガイドラインの改訂に必要と考える CQ を設定した。

(倫理面への配慮)

本研究は、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2020-1-166）。

C. 研究結果

1) 最近同定された原因遺伝子陽性患者の表現型の検討と文献的考察

LZTR1: LZTR1 は 2015 年に Yamamoto らが常染色体優性遺伝 Noonan 症候群の原因として報告し、2018 年には Johnston らが常染色体劣性 Noonan 症候群の原因として同定した。その後、研究分担者らを含めたグループから次々と変異が同定された。常染色体劣性遺伝形式のバリエーションでは Loss-of-function 変異であるが ClinGen Expert Panel においても「Limited」としている。常染色体優性遺伝形式と考えられるミスセンス変異についてはその変異一つで病因となりうるのかまだ明らかでないものの報告数は多いため、ClinGen Expert Panel において「strong」となっている。

日本においては LZTR1 バリエーションについては劣性遺伝形式、優性遺伝形式の双方の患者が同定されているが、特に優性遺伝が示唆される1つのバリエーションが同定されている患者においてバリエーションの病原性が明らかになっていないものもあり、遺伝子診断の正確性は高くない。

LZTR1 変異陽性患者においては悪性腫瘍の合併が2例報告されている。一例目は p.R210*/c.2 s 220-17C>A をもつ家系の一人であ

り急性骨髄性白血病を発症し2歳で死亡した。もう一人は LZTR1 p.R284C をもつ 26 歳の患者は脳腫瘍 (ganlioblastoma) を合併した。患者は 15 歳から 17 歳の間に成長ホルモン投与を受けていた。LZTR1 はがん抑制遺伝子でその somatic 変異が膠芽腫に同定される他、germline の変異が Schwannomatosis にも同定されるため、Noonan 症候群においても易発がん性の有無について今後の症例の蓄積が望まれる。PPP1CB: SHOC2 変異陽性の Noonan 症候群様症候群に類似した表現型を示す。ClinGen Expert Panel において「strong」とされている。SOS2: SOS1 と同等のアミノ酸に変異が同定されるほか、リンパ管異形成の表現型を示すことが報告されたが、まだ症例数は少ない。ClinGen Expert Panel において「moderate」。MRAS: 2017 年に Mayo Clinic の Ackerman らが肥大型心筋症を伴うヌーナン症候群 2 例に MRAS 変異を同定した。Ackerman らは MRAS 変異の生化学的解析や、iPS 細胞の解析を報告している。ClinGen Expert Panel において「limited」。RRAS: 2014 年に研究分担者らも含むヨーロッパのグループが RASopathy の表現型を含む 2 人に変異を同定したが、その後報告はない。ClinGen Expert Panel において「limited」。RASA2: RASA2 は RAS p21 protein activator 2 をコードする遺伝子である。内在性の RAS GTPase を活性化する分子としてすでに NF1 は神経線維腫症の原因として知られている。RASA2 の変異は 2014 年の Chen らの論文にて 3 種類の変異の Noonan 症候群との関連が示唆されているが、その後の報告はない。ClinGen Expert Panel において「limited」。A2ML1: A2ML1 は alpha-macroglobulin という protease をコードするタンパク質であり、細胞膜外に局在する。2015 年に Vissers は A2ML1 の変異が Noonan 症候群に関連していることを報告した。ClinGen Expert Panel において「disputed」とされていたが、その後、2021 年に Zenker らが A2ML1 バリエントが Noonan 症候群の原因遺伝子である強い証拠はなく、A2ML1 を RASopathy の遺伝子検査に含めることへの疑問を呈した。RASA1: RASA1 は RAS p21 protein activator 1 (p21 GAP) をコードする遺伝子である。hereditary capillary malformations (CM) with or without arteriovenous malformations (AVM) と Parkes Weber 症候群の原因遺伝子として知られている。ClinGen Expert Panel において「disputed」。

Clingen Expert panel で検討されていない新規原因遺伝子として RRAS2 などがある。

<参考文献>

1. Aoki Y, Niihori T, Inoue SI, Matsubara Y. Recent advances in RASopathies. **J Hum Genet**, 61(1):33-9, 2016.
2. 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
3. Niihori T, Nagai K, Fujita A, Ohashi H, Okamoto N, Okada S, Harada A, Kihara H, Arbogast T, Funayama R, Shiota 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.
4. Grant AR, Cushman BJ, Cavé H, Dillon MW, Gelb BD, Gripp KW, Lee JA, Mason-Suares H, Rauen KA, Tartaglia M, Vincent LM, Zenker M. Assessing the gene-disease association of 19 genes with the RASopathies using the ClinGen gene curation framework. **Hum Mutat**. 39(11):1485-1493, 2018
5. Higgins EM, Bos JM, Mason-Suares H, Tester DJ, Ackerman JP, MacRae CA, Sol-Church K, Gripp KW, Urrutia R, Ackerman MJ. Elucidation of MRAS-mediated Noonan syndrome with cardiac hypertrophy. **JCI Insight**. 2(5):e91225, 2017

2) CQ の設定

ヌーナン症候群の診断基準や診療ガイドラインの改訂に必要と考えられる CQ を設定した。これらの CQ は AMED エビデンス創出班「ヌーナン症候群類縁疾患の診断・診療ガイドライン作成に向けたエビデンス創出研究(研究代表者 青木洋子)」で立てているものと同様であり、共同して論文考察を行っていく。

CQ1: ヌーナン症候群の診断基準にどの遺伝子をいれるべきか？

CQ2: ヌーナン症候群の診断基準において臨床診断として必要な臨床症状は何か？

D. 考察

現在、日本においては Noonan 症候群遺伝学的検査において、9 遺伝子 (PTPN11, SOS1, RAF1, RIT1, KRAS, NRAS, SHOC2, CBL, BR

AF) を解析対象としている。これらの遺伝子は原因遺伝子同定から7年以上経過しており、世界的にも十分な症例数とその臨床症状の評価が行われてきた。2018年に発表された ClinGen Expert Panel においても CBL を除く8遺伝子の評価は「definitive」であり、これらの遺伝子を遺伝子診断を用いる臨床的妥当性、臨床的有用性は得られていると考えられる。

今回の研究ではそれ以外の遺伝子について主に ClinGen Expert Panel の報告とそれ以降の報告をもとに検討を行った。最も報告数が多いのは LZTR1 である。ClinGen Expert Panel の論文が出版された2018年の段階では常染色体劣性遺伝形式の患者の報告数が少なかったが、その後、報告数は増えており、劣性遺伝形式で loss-of-function の変異が両親から一つずつ伝播している場合は病因と結論づけることが可能ではないかと考える。一方、常染色体優性遺伝形式の変異で頻度が多いものは数個程度であり、両親の表現型や新生突然変異かどうか、あるいは劣性遺伝形式のうち一つのバリエントしか同定されていないかどうかを検討する必要がある。LZTR1 ではイントロンの病的変異も同定されていることにも留意が必要である。

LZTR1 以外の変異についてはまだ報告が少なく今後の検討が必要であるが、A2ML1 については分担研究者の施設での解析においても病因として結論できないバリエントが多数同定されており、A2ML1 については病因と考えづらいつという Zenker 達の報告に同意する。RASA1 については他疾患で同定されているため、Noonan 症候群の原因とは考えづらい。

E. 結論

現在日本で保険収載されている原因遺伝子については患者数や機能的な解析が十分と考えら

れるが、それ以外の遺伝子の病原性については引き続き検討が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
1. 新堀哲也、永井康貴、大橋博文、岡本伸彦、岡田賢、木原裕貴、青木洋子 RRAS2 の活性化変異はヌーナン症候群を引き起こす 第123回日本小児科学会学術集会 2020年4月10日~2020年4月12日、(ハイブリッド開催、国内)
2. 梅木郁美、新堀哲也、阿部太紀、井上晋一、岡本伸彦、水野誠司、黒澤健司、長崎啓祐、吉田真、松原洋一、藤原幾磨、呉繁夫、青木洋子 Noonan 症候群における LZTR1 変異の分子学的機能解明と GH 治療効果を含む臨床的特徴の解析 2020年日本小児内分泌学会特別集会 2020年10月1日(木)~31日(土)(Web開催)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