

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

ヌーナン症候群関連疾患の研究

研究分担者 松原 洋一  
国立研究開発法人 国立成育医療研究センター 理事

**研究要旨**

ヌーナン症候群は、特徴的な顔貌、低身長、先天性心疾患を呈する常染色体優性もしくは劣性疾患である。ヌーナン症候群および類似のヌーナン様症候群では、これまでに、細胞内RAS/MAPKシグナル伝達経路に関連する20種類の原因遺伝子が同定され、約80%の症例で病因遺伝子が明らかにされている。しかしながら、そのほかの症例では未だ病因遺伝子は不明である。本年度、新たなヌーナン症候群の病因遺伝子としてSPRED2が、欧米の研究室から3家系報告された。In vitro, in vivoの機能解析によって、患者で同定されたSPRED2変異がRAS/MAPK経路を活性化させ、機能的・形態学的異常を引き起こすことが示された。今後、さらに患者とその臨床情報を収集し、ヌーナン症候群の診断基準及び診療指針に取り入れていくことが重要である。

**A. 研究目的**

本分担研究では、国際標準に立脚した奇形症候群領域の診療指針に関する学際的・網羅的検討のうち、ヌーナン症候群関連疾患について検討を行うことが目的である。

これまでに、ヌーナン症候群およびヌーナン様症候群の原因遺伝子として、PTPN11, KRAS, SOS1, RAF1, SHOC2, CBL, BRAF, NRAS, RRASが知られている。さらにエクソーム解析の導入によって、RIT1, A2ML1, RASA2, SOS2, LZTR1, PPP1CB, MRAS, RRAS2の各遺伝子も病因遺伝子であることが報告された。しかしながらこれらの遺伝子のいずれかに変異を有する患者は約80%にとどまっており、残る20%の患者における原因遺伝子解明が課題であり、それらの最新情報を遅滞なく収集し、ヌーナン症候群の診断基準及び診療指針に取り入れていくことが肝要である。

**B. 研究方法**

本年度は新たにヌーナン症候群の原因遺伝子として報告された SPRED2 について、その臨床病型と RAS/MAPK シグナル伝達系における機能異常について文献的検討を行った。

(倫理面への配慮)

本分担研究ではヒトの検体や個人情報を扱わないため、倫理委員会等での審査は必要ないと考えられる。

**C. 研究結果**

2021年、イタリアの研究グループから、ヌーナン症候群様の症状を有する患者4名（3家系）において3種類のSPRED2遺伝子変異を同定したことが報告された（Motta et al. Am J Hum Genet 108:2112-2129, 2021）。人種はトルコとチュニジアであった。同定された変異は、

c.1142\_1143delTT (p.Leu381Hisfs\*95)

c.299T>C (p.Leu100Pro)

c.187C>F (p.Arg63\*)

で、いずれの変異もホモ接合子として検出された。

患者に認められた身体の外表面所見は、両耳側間距離狭小、眼間解離、眼瞼斜下、眼瞼下垂、耳介低位・後方回転、突出した対耳珠、広い鼻底、後頭部毛髪線低位、翼状短頸、胸郭変形で、ヌーナン症候群様顔貌を呈していた。そのほかの臨床所見として、発達遅滞（3/4）、知的障害（4/4）、言語発達遅滞（3/4）、学習障害（4/4）、先天性奇形（3/4）、肥大型心筋症（3/4）、関節弛緩（3/4）などが認められた。

In vitroの実験では、変異SPRED2タンパクは不安定で半減期が短縮するとともに、EGF刺激によるRAF1, MEK, ERKのリン酸化を負に制御する機能が失われていた。また、EGF刺激に対するMAPKカスケードの増強・遷延が認められた。

さらに、zebrafishにおけるmorpholinoを用いたSPRED2ノックダウン実験では原腸形成の遅延

が認められ、野生型*SPRED2*の導入でレスキューされたものの、変異型*SPRED2*ではレスキューされなかった。

また、すでに2005年に作成されていた*SPRED2*ノックアウトマウス (Bundschi et al. J Biol Chem 280:28572-28580, 2005) を仔細に解析したところ、骨格異常、頭蓋顔面骨異常、心重量増加、不整脈などが観察された。

#### D. 考察

*SPRED2*の変異が、ヌーナン(様)症候群の原因のひとつであることが明らかになった。*SPRED2*タンパクは RAS/MAPK 伝達経路を負に制御することが知られており、その機能が失われることによってヌーナン症候群の発症機序となるRAS/MAPK 経路の活性化が促進するものと考えられる。

ヌーナン症候群の病因遺伝子の多くは機能獲得型変異を有しており、機能喪失型の変異によるものは稀である。また、これに関連してこれまでヌーナン症候群の病因遺伝子として同定されたもののほとんどは顕性(優性)遺伝形式をとるものであった。潜性(劣性)遺伝形式をとるものは *LZTR1* のみであり、この *SPRED2* は2番目となる。今後、網羅的ゲノム解析によって新たなヌーナン症候群病因遺伝子を探索するに際しては、顕性(優性)のみならず潜性(劣性)の可能性を念頭に置く必要がある。

#### E. 結論

ヌーナン症候群の遺伝子パネル検査に、新たに *SPRED2* を追加する必要がある。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kanno M, Suzuki M, Tanikawa K, Numakura C, Matsuzawa SI, Niihori T, Aoki Y, Matsubara Y, Makino S, Tamiya G, Nakano S, Funayama R, Shirota M, Nakayama K, Mitsui T, Hayasaka K. Heterozygous calcyclin-binding protein/Siah1-interacting protein (CACYBP/SIP) gene pathogenic variant linked to a dominant family with paucity of interlobular bile duct. J Hum Genet. 2022.
2. Takahashi Y, Date H, Oi H, Adachi T, Imanishi N, Kimura E, Takizawa H, Kosugi S, Matsumoto N, Kosaki K, Matsubara Y, Consortium I, Mizusawa H. Six years' accomplishment of the Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases: nationwide project in Japan to discover causes, mechanisms, and cures. J Hum Genet. 2022.
3. Yanagi K, Morimoto N, Iso M, Abe Y, Okamura K, Nakamura T, Matsubara Y, Kaname T. A novel missense variant of the

GNAI3 gene and recognisable morphological characteristics of the mandibula in ARCND1. J Hum Genet. 2021;66(10):1029-34.

##### 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。)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし