

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

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の把握：Reverse phenotyping
を包含したアプローチ

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・医学部・特命研究教授

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、Prader-Willi症候群コンセンサスガイドラインの作成と公開、エピ変異患者における多座位低メチル化（MLID）発症機序の解明が挙げられる。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。

本年度は、多くのインプリンティング疾患患者の集積、Prader-Willi症候群コンセンサスガイドラインの公開、エピ変異患者における多座位低メチル化（MLID）発症機序ならびに臨床像修飾効果の解明を主に行った。

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65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65例のTemple症候群患者、約450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。

<Prader-Willi症候群コンセンサスガイドラインの作成と公開>

われわれは、厚生労働科研費「性分化・性成熟異常を伴う内分泌症候群(プラダーウイリ症候群・ヌーナン症候群を含む)の診療水準向上を目指す調査研究」と連携し、31項目に及ぶCQ/Qを網羅した「プラダーウイリ症候群コンセンサスガイドライン」を作成し、それを日本小児内分泌学会ホームページから公開した(<http://jspe.umin.jp/medical/gui.html>)。これにより、プラダーウイリ症候群の診断・治療の向上や医療の均てん化が促進されると期待される。

<エピ変異患者における多座位低メチル化 (MLID) 発症機序ならびに臨床像修飾効果の解明>

1. 国際共同研究論文の公表

エピ変異とは、インプリンティング疾患発症機序の代表であり、メチル化可変領域 (DMR) が高メチル化あるいは低メチル化を示す状態を示す。これについては、しばしばモザイクが検出されること、同胞発症がほぼ見られないことから、受精後の異常であり孤発性とされてきたが、最近、低メチル化エピ変異症例において、MLID (multilocus imprinting disturbance、多座位メチル化異常)と称される比較的軽度の低メチル化が複数存在しうることが判明し、これらの症例において、卵母細胞や受精後体細胞のDMRメチル化維持を担うタンパク複合体をコードする遺伝子群に変異が同定されてきた。これについて、われわれは、世界中のインプリンティング疾患研究者と共同で現在までのデータをまとめ、このMLIDを伴う低メチル化型エピ変異が、主に卵母細胞あるいは初期接合体におけるDMRのメチル化を維持するタンパク複合体コード遺伝子の変異に起因することを明らかとした(図1)。

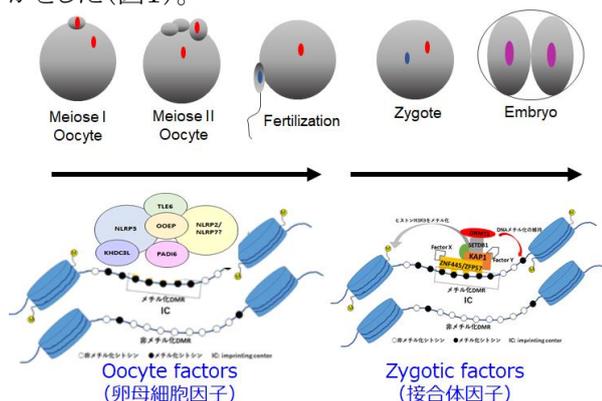


図1. DMRメチル化維持を担う卵母細胞因子と接合体因子

2. 世界初となるTemple症候群とMLIDを呈する女兒における接合体因子NF445の両アレル変異の同定

現在接合体因子としては、マウスの実験からはZFP57とZNF445が知られており、これらはほとんどのDMRにおいて強調して働いている。しかし、新生児一過性糖尿病発症責任DMRであるPLAGL1: alt-TSS DMRのメチル化はZFP57のみが、そして、Temple症候群発症責任DMRであるMEG3/DLK1:IG-DMRのメチル化はZNF445のみが担うことが知られている。これに一致して、ZFP57変異は、PLAGL1: alt-TSS DMRの低メチル化エピ変異による新生児一過性糖尿病と共にMLIDを招くことが知られている。

われわれは、上記に一致してTemple症候群と共に、図2に示すMLIDを伴う患者において、ZNF445のホモのtruncation variantstを世界で初めて同定した(図3)。

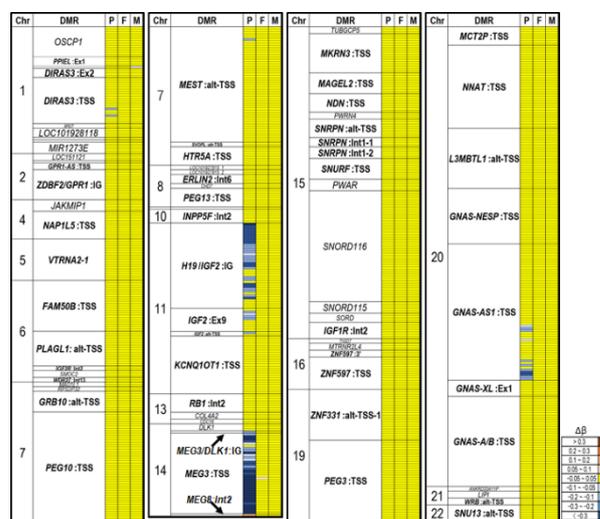


図2. Temple症候群発症 MEG3/DLK1:IG-DMRの高度低メチル化とMLIDが認められる患者

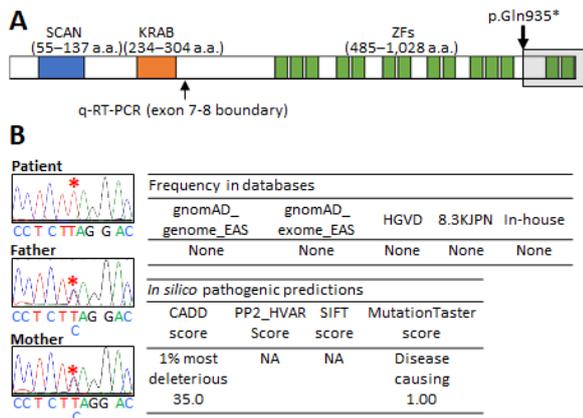


図 3. 上記患者で同定された変異

3. 非典型的シルバーラッセル症候群とMLIDを呈する女児における卵母細胞因子NLRP2の片アレル変異の同定

われわれは、非典型的シルバーラッセル症候群患者においてシルバーラッセル症候群発症に関連するH19/IGF2:IG-DMRの低メチル化とMLIDを呈する患者において（図4）、卵母細胞因子NLRP2の片アレル変異を同定した（図5）。

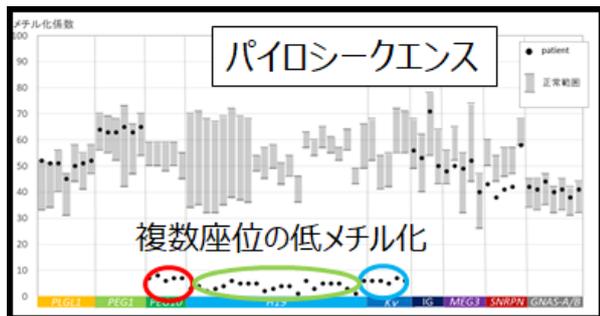


図 4. 上記患者で同定された MLID.

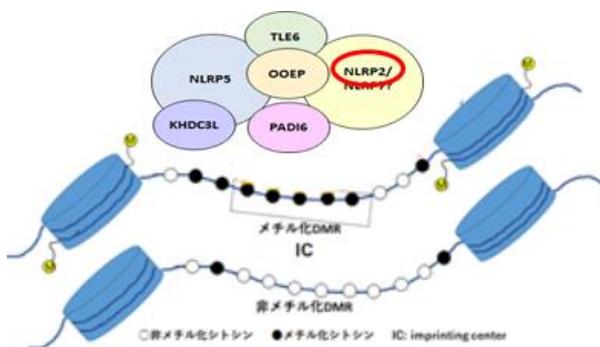


図 5. 変異が同定された NLRP2 は、卵母細胞における DMR のメチル化維持を担うタンパク複合体を形成する。

D. 考察

多くのインプリンティング疾患患者の集積は、患者データベースの元となるものであり、インプリンティング疾患研究の有用な情報として活用されると考えられる。

Prader-Willi 症候群コンセンサスガイドラインの作成と公開は、間違いなく、プラダーウイリ症候群の診断・治療の向上や医療の均てん化に貢献すると考えられる。

エピ変異患者と多座位低メチル化 (MLID) 発症機序の解明は、長年その発症機序が不明であったエピ変異において、MLID の有無や遺伝子変異の関与を明らかとすることから、インプリンティング研究分野の発展のみならず、遺伝カウンセリングなどにおいて臨床的に有用な情報をもたらすと期待される。

E. 結論

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、Prader-Willi 症候群コンセンサスガイドラインの作成と公開、エピ変異患者における多座位低メチル化 (MLID) 発症機序の解明が挙げられる。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。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Eggermann T, Yapici E, Blied J, Pereda A, Begemann M, Russo S, Tannorella P, Calzari L, de Nanclares GP, Lombardi P, Temple IK, Mackay D, Riccio A, Kagami M, Ogata T, Lapunzina P, Monk D, Maher ER, Tumer Z. Trans-acting genetic variants causing multilocus imprinting disturbance (MLID): common mechanisms and consequences. Clin Epigenetics. 2022;14(1):41.
2. Fuke T, Nakamura A, Inoue T, Kawashima S, Hara KI, Matsubara K, Sano S, Yamazawa K, Fukami M, Ogata T, Kagami M. Role of Imprinting Disorders in Short Children Born SGA and Silver-Russell Syndrome Spectrum. J Clin Endocrinol Metab. 2021;106(3):802-13.
3. Hara-Isono K, Matsubara K, Hamada R, Shimada S, Yamaguchi T, Wakui K, Miyazaki O, Muroya K, Kurosawa K, Fukami M, Ogata T, Kosho T, Kagami M. A patient with Silver-Russell syndrome with multilocus imprinting disturbance, and Schimke immuno-osseous dysplasia unmasked by uniparental isodisomy of chromosome 2. J Hum Genet. 2021;66(11):1121-6.

4. Kagami M, Hara-Isono K, Matsubara K, Nakabayashi K, Narumi S, Fukami M, Ohkubo Y, Saitsu H, Takada S, Ogata T. ZNF445: a homozygous truncating variant in a patient with Temple syndrome and multilocus imprinting disturbance. Clin Epigenetics. 2021;13(1):119.
5. Masunaga Y, Kagami M, Kato F, Usui T, Yonemoto T, Mishima K, Fukami M, Aoto K, Saitsu H, Ogata T. Parthenogenetic mosaicism: generation via second polar body retention and unmasking of a likely causative PER2 variant for hypersomnia. Clin Epigenetics. 2021;13(1):73.
6. 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. J Hum Genet. 2021;66(4):439-43.
7. Yamazawa K, Inoue T, Sakemi Y, Nakashima T, Yamashita H, Khono K, Fujita H, Enomoto K, 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. J Med Genet. 2021;58(6):427-32.

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