

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

「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Prader-Willi症候群（PWS）、Angelman症候群（AS）、およびSchaaf-Yang症候群（SYS）の体系的遺伝学的解析を実施した。累計として、PWS疑い173例を解析し、片親性ダイソミー25例、刷り込み変異3例を集積した。AS疑いは190例を解析し、片親性ダイソミー12例、刷り込み変異4例、UBE3A変異31例を集積した。2020年からUBE3Aの解析はかずさDNA研究所に技術移転を行い、解析結果の支援を行った。SYSは全国から25例を集積した。これらの患者のデータベースを構築し、患者データの蓄積と自然歴の把握を行っている。

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・合併症の把握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。さらに、15q11-q13に関連するSchaaf-Yang症候群（SYS）の診断支援を実施している。これら、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の体系的な遺伝学的診断を実施し、疾患データベースを構築し、データ蓄積を行うことで診断能力の向上、治療法開発、自然歴の把握を目的としている。

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。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。UBE3Aのパネル解析は2020年12月からかずさDNA研究所に技術移転を行い、保険診療として実施可能になった。解析結果について解釈の支援を実施している。SYSが疑われた例についてはMAGEL2をSanger法で解析し、メチル化感受性制限酵素で前処理を行うことで、親由来の判定を実施した。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、さらにSYSの解析を実施した。累計として、PWS疑い173例を解析し、片親性ダイソミー25例、刷り込み変異3例を集積した。AS疑いは190例を解析し、片親性ダイソミー12例、刷り込み変異4例、UBE3A変異31例を集積した。かずさDNA研究所に技術移転を行ったUBE3Aのパネル解析は55例の解析支援を行い、5例のUBE3A

変異例が診断された。UBE3A以外にもMECP2やTCF4の変異例も同定され、パネル解析の意義が確認された。SYSは全国調査を実施し、遺伝子解析にて確定診断された25例を集積した。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に加えてSYSの診断支援を確立したことで、15q11-q13 関連インプリンティング疾患全ての診断支援を確立することができた。既に、DNAメチル化テストおよびFISH法によりPWSの98%程の診断が商業的に可能になっている。ASではDNAメチル化テストとFISH法では診断率が80%に止まり、UBE3A変異解析が必要であった。今回、かずさDNA研究所に技術移転ができたことでASの90%以上が商業的に診断可能になった。しかし、UPDと刷り込み変異を区別するための両親検体を用いた多型解析は保険収載されていないため、一部の症例では研究対応の必要性が残っている点が課題である。

かずさDNA研究所で実施されたUBE3Aパネル解析ではUBE3Aの変異の他に、MECP2やTCF4の変異例が同定された。ASを臨床的に診断することは困難であり、特に乳児期には臨床症状が重なる疾患が複数存在する。そのため、よく似た疾患の原因遺伝子を同時に解析することには価値がある。一方、ASのように知的障害とてんかんを主たる症状とする疾患では、原因遺伝子は多彩であり、将来的にはエクソーム解析のような網羅的解析が望ましいと考えられる。バーチャルエクソーム解析のようにデータ解析においてターゲット遺伝子を絞ることも有用と思われる。

これまで、私たちの研究室で解析した症例はデータベースとして蓄積してきた。しかし、技術移転により商業検査センターで解析がされると、症例データベースの蓄積を行うことができない。稀な遺伝性疾患は症例の蓄積が極めて重要であることを考えると、商業検査センターでの解析は気軽に検査はできるものの、問題点を有しているとも言える。また、私たちのデータベースも維持管理の上では脆弱であり、十分に利用できているとは言えない。安定した希少疾患のレジストリーを構築し、自然歴研究を実施するための支援が急務であると考えられる。

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

(PWS、AS、SYS)の体系的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. Ohashi K, Fukuhara S, Miyachi T, Asai T, Imaeda M, Goto M, Kurokawa Y, Anzai T, Tsurusaki Y, Miyake N, Matsumoto N, Yamagata T, Saitoh S. Comprehensive Genetic Analysis of Non-syndromic Autism Spectrum Disorder in Clinical Settings. J Autism Dev Disord. 2021;51(12):4655-62.
2. Saitoh S. Endosomal Recycling Defects and Neurodevelopmental Disorders. Cells. 2022;11(1).
3. Takahashi Y, Date H, Oi H, Adachi T, Imanishi N, Kimura E, Takizawa H, Kosugi S, Matsumoto N, Kosaki K, Matsubara Y, IRUD Consortium, 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.
4. 齋藤 伸治. 【小児遺伝子疾患事典】II.神経・筋疾患 UBE3A(関連疾患:Angelman症候群). 小児科診療. 2021;84(11):1505-6.

2. 学会発表

1. 大橋圭、川岡奈緒実、谷合弘子、三宅紀子、松本直通、齋藤伸治,NAA15遺伝子の変異に伴う重度知的発達症ならびに自閉スペクトラム症の男児の一例, 第63回日本小児神経学会学術集会,オンライン,2021.5.27, 国内
2. Otsuji S, Kato K, Lequesne CH, Mizuno S, Rio M, Miyatake S, Nishio Y, Matsumoto N, Cormier-Daire V, Saitoh S,Biallelic VPS35L pathogenic variants cause 3C/Ritscher-Scinzel-like syndrome: Description of two novel cases confirming the pathogenicity and clinical diversity.,American Society of Human Genetics Virtual Meeting 2021.,USA(web) ,2021.10.18-22.,国際

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