

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

「過成長を主徴とする先天異常遺伝子疾患」

研究分担者 副島英伸
佐賀大学医学部・教授

研究要旨

過成長を主徴とする先天異常遺伝子疾患、とくにウィーバー症候群とソトス症候群の類縁疾患に当たるベックウィズ・ビーデマン症候群（BWS）を対象に、臨床的あるいは分子遺伝学的に確定された症例の乳幼児期・成人期後期の臨床情報を収集・解析し、自然歴と合併症を明らかにすることを目的とした。今年度は、BWS 症例 18 例を解析した。古典的 BWS で no alteration を示した症例は、分子遺伝学的異常を示した症例に比べ、BWS_p スコアが低い傾向にあった。BWS 双胎例では、MD 双胎と DD 双胎における症状の一致性の違いは ICR2 低メチル化細胞の各臓器における分布の違いを反映していることが示唆された。また、分子遺伝学的解析の有償化により解析症例数は半減したものの、COVID-19 の影響は認められなかった。一方、ソトス症候群成人患者の臨床症状に関する先行研究では、精神発達遅滞の頻度、男女における身長差、低頻度ながら成人で新たに認められる症状が報告されていた。

研究協力者

東元 健 佐賀大学医学部・准教授
原 聡史 佐賀大学医学部・助教

A. 研究目的

過成長を主徴とする先天異常遺伝子疾患、ベックウィズ・ビーデマン症候群（BWS）とソトス症候群を対象に、臨床的あるいは分子遺伝学的に確定された症例の乳幼児期・成人期後期の臨床情報を収集・解析し、自然歴と合併症を明らかにすることを目的とした。これらの疾患は、臨床症状のオーバーラップが見られることや、一部の症例で原因となる遺伝子異常が重複することが報告されており、临床上、鑑別が重要である。

ソトス症候群は、大頭、過成長、骨年齢促進、発達の遅れ、瘻彎、心疾患、尿路異常、側彎などを呈する先天異常疾患である。原因遺伝子は、ヒストン H3 リジン 36 のモノメチル化とジメチル化（H3K36me1, H3K36me2）を触媒する酵素 NSD1 である。

BWS は、過成長、巨舌、腹壁欠損、片側肥大、顔面の単純性母斑、耳垂の線状溝・耳輪後縁の小窩、一過性低血糖、腎肥大や肝腫大などを呈し、Wilms 腫瘍、肝芽種などの胎児性腫瘍が高頻度に発生する先天異常疾患である。原因

は、11p15.5-p15.4 のジェネティックあるいはエピジェネティックな変化で生じるインプリンティング異常である。

BWS の原因は、ICR1 高メチル化

（ICR1-GOM）、ICR2 低メチル化（ICR2-LOM）、父性片親性ダイソミー（paternal uniparental disomy: patUPD）、CDKN1C 機能喪失変異、11p15.5 copy number variation（CNV）の五つに大別できるが、およそ 20% の患児ではこれらの異常を検出することができない。多様な表現型を示すことおよび既知の遺伝子異常を検出できない症例が存在することから、

Beckwith-Wiedemann スペクトラム（BWSp）という呼称と表現型に基づくスコアリングシステムが提唱され、4 以上は古典的 BWS、2 点～3 点以下は分子遺伝学的解析による診断の可能性があり、1 以下は別疾患と判断される（Brioude F, et al.: Nat Rev Endocrinol, 2018）。BWS の分子遺伝学的解析については、2012 年度から有償化している。有償化前、有償化後の解析検体数について調査した。

一方、これらの疾患は rare disease であることから、成人期での臨床情報の収集には長期フォローが必要である。しかし、成長ともに医療的フォローから脱落する症例も多く、成人期での症状を収集することは困難な場合が多い。そこで、先行する研究成果や最近の海外研究を参照し、成人期の臨床症状や合併症の頻度を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1. BWSp スコアリングシステムを用いたスコア別分類と原因遺伝子異常および臨床症状の比較

令和3年度に当研究室で収集・解析した BWS 症例を対象とした。BWSp スコアリングシステムに基づき、4 以上を古典例、2 または 3 を疑い例、1 以下を非該当例とした。それぞれの症例群において、上述の分子遺伝学的異常別の症例数を解析した。

2. BWS 双胎例の解析

BWS は、一般集団に比べて女兒の一卵性双胎が多いことから、これまでに当研究室で解析した症例の中から双胎例を抽出し、BWSp スコアおよび分子遺伝学的解析結果について解析した。

3. BWS 解析有償化による解析数の推移

2012 年度から BWS の分子遺伝学的解析を有償化（トリオ解析で 5 万円）している。金額は、解析に用いる消耗品の実費に基づいており、解析機器の減価償却、人件費は含まれていない。有償化前、有償化後の解析検体数について調査した。加えて、COVID-19 パンデミック前後の解析検体数について調査した。

4. ソトス症候群成人患者の臨床症状に関する先行研究

ソトス症候群の成人期の症状、合併症について報告された論文を検索し、成人期の臨床症状や合併症の頻度をまとめた。

(倫理面への配慮)

本研究は、佐賀大学医学部倫理委員会、佐賀大学医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会の承認を受けて実施した。人権擁護上の配慮、不利益・危険性の排除などの詳細な説明を行い、書面により同意を得たうえで検体収集を行った。

C. 研究結果

1. BWSp スコアリングシステムを用いたスコア別分類と原因遺伝子異常および臨床症状の比較

令和3年度に当研究室で収集・解析した症例は 18 例で、古典例（スコア ≥ 4 ）14 例、疑い例（ $2 \leq$ スコア ≤ 3 ）4 例、非該当例（スコア ≤ 1 ）0 例であった（表 1）。

古典例（スコア ≥ 4 ）と疑い例（ $2 \leq$ スコア ≤ 3 ）の遺伝子異常の症例数と頻度を表 2 に示す。古典例 14 例中分子遺伝学的な異常を認めた 10 例の平均スコアと no alteration 例 4 例の平均スコアは、それぞれ 6.9 と 3.5 であり、有意差はなかったものの、no alteration 例で低い傾向が見られた（Wilcoxon 順位和検定、 $p = 0.089$ ）。

表 1 古典例と疑い例の遺伝子異常別症例数

異常のタイプ	古典例 (n = 14)	疑い例 (n = 4)
ICR1-GOM	0	0
ICR2-LOM	8	0
patUPD	2	0
CDKN1C 変異	0	0
11p15.5 CNV	0	0
No alteration	4	4
合計数	14	4

2. BWS 双胎例の解析

一絨毛膜二羊膜双胎（MD 双胎）は 5 組、二絨毛膜二羊膜双胎（DD 双胎）は 1 組で、すべて女兒であった。生殖補助医療については、MD 双胎で顕微授精 1 組、体外受精 1 組、DD 双胎の 1 組は体外受精であった。発症原因は全例 ICR2-LOM であった。

MD 双胎は、一方の児は BWSp スコアが 4 以上で古典的 BWS と診断できたが、他方の BWSp スコアは 1 または 2 で、双胎間で解離を認めた（表 2）。しかしながら、ICR2 のメチル化の程度は双胎間で差はなかった。一方、DD 双胎では、BWSp スコアは同じであったが、ICR2 のメチル化は患児で低メチル化、健常児で正常メチル化であった。

表 2 BWS 双胎の BWSp スコアと ICR2 メチル化状態 (n.a.: not available)

ID	膜性	妊娠	Twin A (患児) BWSp スコア ICR2 メチル化	Twin B BWSp スコア ICR2 メチル化
BWS-019	MD	自然	4 41%	1 39%
BWS-156	MD	人工授精	7 15%	1 n.a.
BWS-176	MD	ICSI	4 27%	n.a. 28%
BWS-177	MD	自然	5 41%	2 40%
BWS-251	MD	IVF	6 35%	1 30%
BWS-179	DD	IVF	5 7.3%	5 50%

3. BWS 解析有償化による解析数の推移

年間平均解析症例数は、無償解析（2009年～2011年）では37.7例、有償化後（2012年～2019年）は18.4例で、有償後に有意に解析件数が減少した（Wilcoxon 順位和検定、 $p = 0.0139$ ）。一方、COVID-19 パンデミック前後で比較すると、パンデミック前（2012年～2019年）18.4例に対し、パンデミック後（2020年～2021年）18.0例で、有意差はなかった（Wilcoxon 順位和検定、 $p = 1.00$ ）。

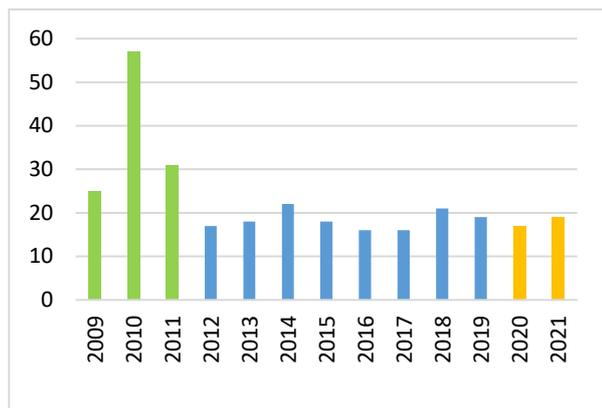


図1 BWS 解析症例数の年度別推移
2011年度まで無償（緑）。2012年度以降有償。2020年度、2021年度はCOVID-19 パンデミック。

4. ソトス症候群成人患者の臨床症状に関する先行研究

英国のソトス症候群成人症例44名を解析した論文が報告されていた（Foster A, et al.: *Am J Med Genet Part C*, 181C: 502-508, 2019）。平均年齢30歳（18～48歳、男：女 = 17：27）の解析の結果、以下の項目が報告されている。

- 1) 36名（82%）の患者で軽症以上の精神発達遅滞を認め、約半数（17名）は自己管理が困難であった。また、中程度以上の精神発達遅滞のある患者の20%に自閉症スペクトラムを認めた。
- 2) 身長は、女性が+1.9 SD、男性が+0.5 SDであった。
- 3) ソトス症候群に特徴的な顔貌は成人でも認められたが、小児患者に見られる頬部紅潮と狭い顎のラインは成人患者では見られなかった。
- 4) 女兒の初潮年齢、男児の変声時期は一般集団と差はなかった。4名の女性が出産し、計9人の子供のうち2人がソトス症候群であった。
- 5) 成人で新たに認められた症状として、歯科的問題（16%）、難聴（16%）、大動脈拡大（9%）、関節拘縮（9%）、下肢のリンパ浮腫（7%）、進行性振戦（7%）が見られた。
- 6) 24名（55%）の患者で側彎症または脊柱後湾症を認め、このうち23名が16歳以下で診断されていた。また、11名が外科的治療を必要とした。

7) 8名（18%）の患者に先天性腎奇形があり、このうち2名が成人後に高血圧を発症した。

D. 考察

1. BWSp スコアリングシステムを用いたスコア別分類と原因遺伝子異常および臨床症状の比較

古典的 BWS においても分子遺伝学的に no alteration を示した症例は、分子遺伝学的異常を示した症例に比べ、BWSp スコアが低い傾向にあった。BWS の原因のうち、メチル化異常と patUPD は原則としてモザイクであることから、no alteration 症例では、末梢血中の有核細胞におけるモザイク率が極めて低いと思われる。同様に、各臓器のモザイク率も低いため BWSp スコアが低い傾向になると考えられた。

2. BWS 双胎例の解析

MD 双胎では、双胎間で BWSp スコアの差異を認めるが、ICR2 のメチル化に差は認めなかった。MD 双胎の Twining は、胚盤胞以降に生じる。この時期に生じた ICR2 低メチル化細胞が造血幹細胞として骨髄に分布すること、および共通胎盤での血管吻合により双胎間で共有されるものの、各臓器への分布は双胎間で異なることが考えられる。一方、DD 双胎では、双胎間で BWSp スコアは同じだが、ICR2 のメチル化に明らかな差を認めた。DD 双胎の Twining は MD 双胎よりも早い時期に生じるため、ICR2 低メチル化細胞の分布は各臓器間で似通っていると考えられる。ただし、造血幹細胞への分布のみが双胎間で大きく異なると推測される。

3. BWS 解析有償化による解析数の推移

年間平均解析症例数は、消耗品実費相当の費用にもかかわらず、有償化により半減した。また、COVID-19 パンデミックは解析症例数に影響なかった。全国的に受診の減少もあったが、分子遺伝学的解析の需要は底堅いと考えられた。

4. ソトス症候群成人患者の臨床症状に関する先行研究

英国のソトス症候群成人症例の解析から成人期の症状の詳細が明らかとなった。頻度は低いものの、成人以降に新たに出現する症状があることが明らかとなった。この先行研究は 18～48 歳の患者を解析していることから、今後は 50 代以降の患者の症状の解析が肝要と考えられた。

E. 結論

BWS 症例 18 例を解析した。古典的 BWS で no alteration を示した症例は、分子遺伝学的異常を示した症例に比べ、BWSp スコアが低い傾向

にあった。BWS 双胎例の解析では、MD 双胎と DD 双胎における症状の一致性の違いは ICR2 低メチル化細胞の各臓器における分布の違いを反映していることが示唆された。また、分子遺伝学的解析を有償化すると、解析症例数は半減したものの、COVID-19 の影響は認められなかった。ソトス症候群成人患者の臨床症状に関する先行研究により、その特徴が明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Higashimoto K, Watanabe H, Tanoue Y, Tonoki H, Tokutomi T, Hara S, Yatsuki H, Soejima H. Hypomethylation of a centromeric block of ICR1 is sufficient to cause Silver-Russell syndrome. J Med Genet. 2021;58(6):422-5.
2. Kodera C, Aoki S, Ohba T, Higashimoto K, Mikami Y, Fukunaga M, Soejima H, Katabuchi H. Clinical manifestations of placental mesenchymal dysplasia in Japan: A multicenter case series. J Obstet Gynaecol Res. 2021;47(3):1118-25.
3. Sun F, Hara S, Tomita C, Tanoue Y, Yatsuki H, Higashimoto K, Soejima H. Phenotypically concordant but epigenetically discordant monozygotic dichorionic diamniotic twins with Beckwith-Wiedemann syndrome. Am J Med Genet A. 2021;185(10):3062-7.
4. 副島 英伸. 臨床遺伝学・人類遺伝学誌上講義 エピゲノム. 遺伝子医学. 2021;11(4):108-15.

2. 学会発表

1. Soejima H, Sun F, Yatsuki H, Higashimoto K, Hara S. ,Phenotypically concordant but epigenetically discordant monozygotic dichorionic diamniotic twins with Beckwith-Wiedemann syndrome.,European Society of Human Genetics Conference, 2021 ,Virtual Conference.,2021.8.28-31.,国際
2. 副島英伸, エピゲノム異常疾患とゲノム異常 ,第3回 Chubu Cytogenetics Conference,オンライン開催,2022.3.19 ,国内
3. 副島英伸, エピゲノム異常疾患—基礎、解析、診断—,第28回臨床細胞遺伝学セミナー,オンライン開催,2021.12.3-2022.1.11, 国内
4. 東元健, 渡邊英孝, 三宅紀子, 森田純代, 堀居拓郎, 畑田出穂, 松本直通, 副島英伸, IGF2-DMR0 は DNA メチル化依存的な IGF2 P0 プロモーター特異的エンハンサーである—ソトス症候群のインプリント DMR の DNA メチル化解析から— ,第14回日本エピジェネティクス研究会年会,Web 開催,2021.3.30-31,国内

5. 原聡史, 孫菲菲, 富田知世子, 田上由香, 八木ひとみ, 東元健, 副島英伸, 表現型は一致するが DNA メチル化状態が一致しない Beckwith-Wiedemann 症候群双胎 (二絨毛膜二羊膜) の 1 例 ,日本人類遺伝学会第 66 回大会・第 28 回日本遺伝子診療学会大会,ハイブリッド開催,2021.10.13-16,国内
6. 八木弘子, 佐藤知彦, 神尾卓哉, 東元健, 副島英伸, 照井君典, Beckwith-Wiedemann 症候群に合併した副腎性クッシング症候群の一例,第 29 回特定非営利活動法人東北内分泌研究会・第 41 回日本内分泌学会東北地方会,Web 開催,2021.9.11,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