

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：
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
国立大学法人浜松医科大学 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、世界初となるSVAレトロトランスポゾンのインプリンティングドメイン内挿入による偽性副甲状腺機能低下症IB型の同定、KCNQ1OT1:TSS-DMRの低メチル化エピ変異によるBeckwith-Wiedemann症候群患者86例中7例おける多座位低メチル化（MLID）の同定、MLID患者における世界初のTLE6変異を含む複数のメチル化DMR維持タンパク構造遺伝子変異の同定が挙げられる。これらの成果は、インプリンティング疾患の発症機序や臨床像を理解する上で重要な知見を与えるものである。

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、世界初となるSVAレトロトランスポゾンのインプリンティングドメイン内挿入による偽性副甲状腺機能低下症IB型の同定、KCNQ1OT1:TSS-DMRの低メチル化エピ変異によるBeckwith-Wiedemann症候群患者86例中7例おける多座位低メチル化（MLID）の同定、MLID患者における世界初のTLE6変異を含む複数のメチル化DMR維持タンパク構造遺伝子変異の同定を主に行った。

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・遺伝子解析研究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

<SVAレトロトランスポゾンのインプリンティングドメイン内挿入による偽性副甲状腺機能低下症IB型の同定>

偽性副甲状腺機能低下症IB型は、STX16遺伝子内の微細欠失とAB-DMRの低メチル化により発症することが知られている。われわれは、STX16遺伝子内の微細欠失を伴うことなく発症したAB-DMRの低メチル化に起因する偽性副甲状腺機能低下症IB型の家系例を見出した(図1, 2)。

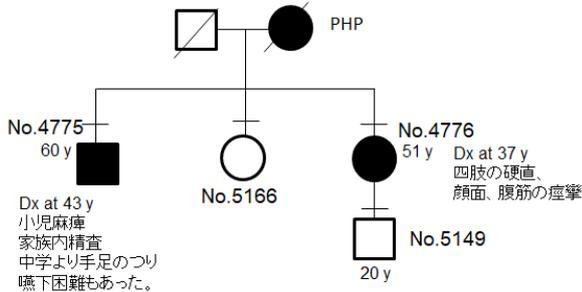


図1. 偽性副甲状腺機能低下症IB型家系図

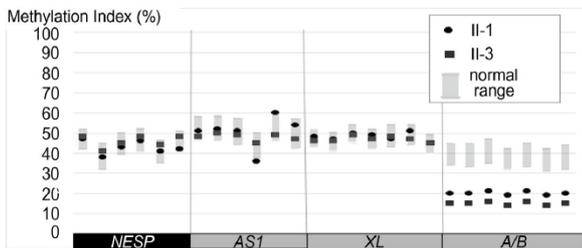


図2. AB-DMRの低メチル化

この家系では、一般的な異常が同定されなかったため、全ゲノム解析を行い、GNASインプリンティングドメインの詳細な構造を解析した。その結果、A/B上流にSVAレトロトランスポゾン

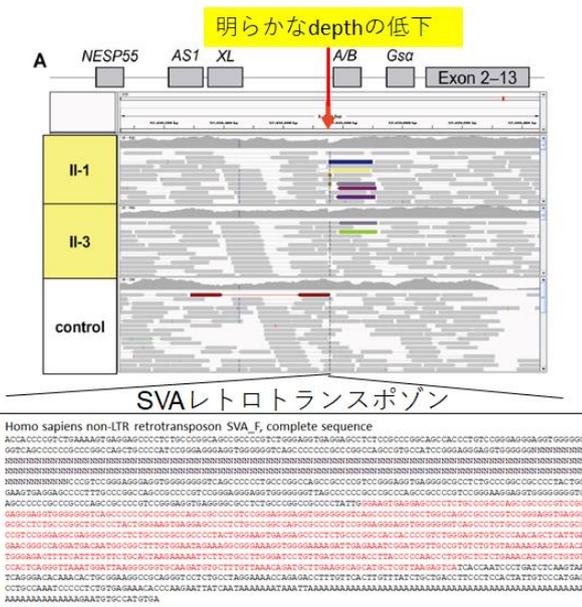


図3. A/B上流へのSVAレトロトランスポゾンの挿入

の挿入が同定され、また、NESP55の低発現も同定された(図3)。

この成果は、レトロトランスポゾン挿入が発現異常を招く機序は明確ではないが、世界初のSVAレトロトランスポゾンのインプリンティングドメイン内挿入による偽性副甲状腺機能低下症IB型として受理された。

<KCNQ1OT1:TSS-DMRの低メチル化エピ変異によるBeckwith-Wiedemann症候群患者86例中7例における多座位低メチル化(MLID)の同定> MLIDは、その少なくとも一部が、卵母細胞や接合体におけるメチル化DMR維持タンパク複合体をコードする遺伝子異常に起因することが判明してきた病態である。われわれは、既に多くの患者でMLIDを同定してきたが、本年度はKCNQ1OT1:TSS-DMRの低メチル化エピ変異によるBeckwith-Wiedemann症候群患者86例を、ME034 MLIDというMS-MLPAプローブを用いて集中的に解析した。その結果、7例においてMLIDを同定した(図4)。この結果は、MLIDが一定の頻度で存在することを示すものである。

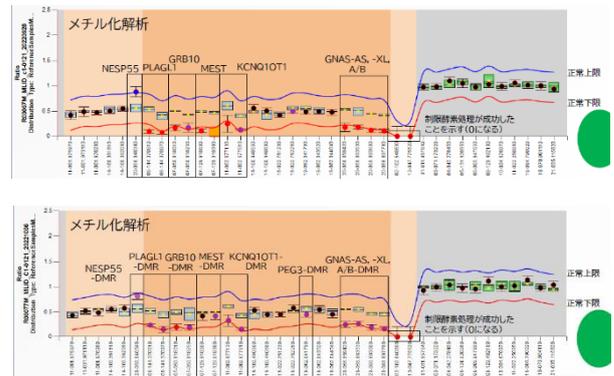


図4. MLIDを示す代表的な2例

<MLID患者における世界初のメチル化DMR維持タンパク構造遺伝子TLE6変異の同定> われわれは、昨年度ZNF445の両アレル性変異を含め、複数のMLID陽性患者においてメチル化DMR維持タンパク構造遺伝子変異を同定してきた。本年度は、候補とされてきたTLE6変異を同定した(図5)。これは、複数の遺伝子変異がMLIDに関与することを示すデータである。

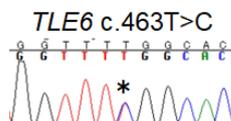


図5. 同定されたTLE6変異

公共のデータベースと病的予測スコアの詳細

TLE6: NM_001143986.2:c.463T>C,p.(Trp155Arg)

Frequency

| gnomAD | HGVD | 14KJPN | In-house |
|--------|------|--------|----------|
| - | - | - | - |

Predictionscore

| CADD PHRED | PP2_HVAR | SIFT | Mutation Taster |
|-------------------------------|------------------|--------------------|-----------------|
| 10% most deleterious 19.89 | Damaging 0.99 | Tolerated 0.093 | Benign |

D. 考察

本年度の成果は、偽性副甲状腺機能低下症 IB 型の原因が多岐に亘ること、MLID が稀ではないこと、MLID の少なくとも一部がチル化 DMR 維持タンパク構造遺伝子変異に起因することを示すものである。

E. 結論

本年度の成果は、インプリンティング疾患の発症機序や臨床像を理解する上で重要な知見を与えるものである。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Eggermann T, Yapici E, Blik 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 14(1)41 2022
- 2) 緒方 勤. 【知っておくべき周産期・新生児領域の遺伝学的検査を展望する】 Silver-Russell 症候群とその周辺. 周産期医学. 2022;52(5):761-4.
- 3) Fuke T, Nakamura A, Inoue T, Kawashima S, Hara-Isono K, Matsubara K, Sano S, Yamazawa K, Fukami M, Ogata T, Kagami M. Frequency and clinical characteristics of distinct etiologies in patients with Silver-Russell syndrome diagnosed based on the Netchine-Harbison clinical scoring system J Hum Genet, 67(10):607-11, 2022
- 4) Hara-Isono K, Nakamura A, Fuke T, Inoue T, Kawashima S, Matsubara K, Sano S, Yamazawa K, Fukami M, Ogata T, Kagami M. Pathogenic Copy Number and Sequence Variants in Children Born SGA With Short Stature Without Imprinting Disorders J Clin Endocrinol Metab, 107(8):e3121-e33;2022
- 5) Kawashima S, Yuno A, Sano S, Nakamura A, Ishiwata K, Kawasaki T, Hosomichi K, Nakabayashi K, Akutsu H, Saitsu H, Fukami M, Usui T, Ogata T, Kagami M. Familial Pseudohypoparathyroidism Type IB Associated with an SVA Retrotransposon Insertion in the

GNAS Locus, J Bone Miner Res:37(10):1850-9,2022

- 6) Mackay D, Blik J, Kagami M, Tenorio-Castano J, Pereda A, Brioude F, Netchine I, Papingi D, de Franco E, Lever M, Sillibourne J, Lombardi P, Gaston V, Tauber M, Diene G, Bieth E, Fernandez L, Nevado J, Tumer Z, Riccio A, Maher ER, Beygo J, Tannorella P, Russo S, de Nanclares GP, Temple IK, Ogata T, Lapunzina P, Eggermann T. First step towards a consensus strategy for multi-locus diagnostic testing of imprinting disorders, Clin Epigenetics 14(1):143,2022
- 7) Tachibana N, Hosono K, Nomura S, Arai S, Torii K, Kurata K, Sato M, Shimakawa S, Azuma N, Ogata T, Wada Y, Okamoto N, Saitsu H, Nishina S, Hotta Y. Maternal Uniparental Isodisomy of Chromosome 4 and 8 in Patients with Retinal Dystrophy: SRD5A3-Related Congenital Disorders of Glycosylation and RPI-Related Retinitis Pigmentosa, Genes (Basel) 13(2), 2022
- 8) 緒方 勤. Genetics in CKD, インプリンティング. 腎と透析. 2023;94(3):339-45.

2. 学会発表

- 1) 緒方 勤, 生殖補助医療とインプリント異常: シンポジウムにより誕生した児の健康. , 第 67 回日本生殖医学会学術講演会・総会, 横浜, 2022.11.3-4, 国内
- 2) Ogata T, Plenary Lecture: Genomic imprinting and its clinical relevance: lesson from Kagami-Ogata syndrome and Temple syndrome., 11th International Meeting of Pediatric Endocrinology, Buenos Aires, March 4-7, 2023, 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