

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
公立大学法人名古屋市立大学 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、臨床症状との関連を集積している。本年度はASの遺伝型臨床型連関について検討を行った。私たちの施設で遺伝学的解析を行った110例について検討した。内訳は欠失28例、片親性ダイソミーもしくは刷り込み変異35例、UBE3A変異例47例である。その結果、欠失例がそれ以外に比べて重症であることが確認された。また、知的障害は全例で認められたが、運動障害や行動学的特徴の存在しない例も存在した。これらの結果から、臨床症状のみでASの診断はできないことが明らかになり、遺伝学的解析の意義が示された。

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。本年度はASに着目し、これまでに集積した110例の患者の遺伝学的臨床的解析を行った。我が国ではASの明確な診断基準が存在しないため、今回の解析を基に診断基準の提案を行いたい。

B. 研究方法

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。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, FOXG1）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。臨床症状について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

遺伝学的に診断されたAS患者110名を集積し、遺伝学的診断と臨床症状を検討した。UPDとIDとの区別には両親の検体を用いた多型解析が必要である。しかし、両親の検体が入手できない例も存在したため、本解析ではUPDとIDとを合わせて欠失、UBE3A変異と比較検討を行った。対象患者の年齢は1～45歳（中央値7歳）であった。遺伝学的解析の結果は、欠失28例、UPDもしくはID35例、UBE3A変異47例であった。知的障害はすべての群で100%にみられた。しかし、失調性運動障害は欠失では90%であったが、UPD/IDでは77%、UBE3A変異では91%であった。歩行の未獲得は欠失で63%、UPD/IDで20%、UBE3Aで31%であった。てんかんの合併は欠失では100%であったが、UPD/IDでは66%、UBE3A変異では72%であった。また、

低色素症は欠失で82%、UPD/IDでは36%、UBE3A変異では52%と欠失が多かった。

D. 考察

ASの遺伝学的群ごとの臨床症状について110例のまとめを行った。これまでの報告では欠失例の方が非欠失例よりも臨床症状は重症であることが報告されている。また、UPDおよびIDはASとしては非典型的であり、肥満の合併が多いことも報告されている。今回の解析では、欠失例の方がUPD/IDもしくはUBE3A変異例よりも運動障害の合併率が高く、歩行獲得率が低かった。この結果は、欠失例が非欠失例より重症であるとのこれまでの報告と一致する。また、てんかんの合併率も欠失では100%であったが、それ以外では100%に満たず、非欠失例では必ずしも抗てんかん薬が必要でない例が存在することが示された。このように遺伝学的群により臨床症状に違いがあるため、管理を行う上では、遺伝学的群に応じたフォローアップが必要と考えられる。また、少数ではあるが、知的障害以外にASに特徴的な症状を示さない患者が存在することが示された。古典的にはWilliamsらの報告において知的障害、運動障害、行動学的特徴は全例で存在するとされている。しかし、特に非欠失例では症状の非典型的な例も存在する。したがって、臨床症状だけでASを否定することはできず、原因不明の知的障害の診断においては、網羅的遺伝学的解析の果たす役割は大きいと考えられる。

私たちが開発したASの次世代シーケンシングによる診断技術は2020年12月からかずさDNA研究所に技術移転が行われ、保険診療として実施可能になっている。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ていることから、小児期早期にASと他の遺伝性疾患とを区別することは困難である。原因不明の知的障害の適切な診断には網羅的遺伝子解析を適切に用いることが重要になる。

ASに対するアンチセンス核酸を用いた治療が米国では既に開始されており、我が国でも実施が計画されている。治療法が開発されれば、適切な診断を早期に実施する意義は格段に高まる。我が国においてもASの診断基準や遺伝学的解析の指針を今回の解析を踏まえて作成していきたいと考えている。

E. 結論

ASの遺伝学的臨床的解析を行い、日本人患者における遺伝型臨床型連関を報告した。非典

型的な患者が存在することから、遺伝学的診断の必要性が明らかになった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mizumoto K, Kato K, Fujinami K, Sugita T, Sugita I, Hattori A, Saitoh S, Ueno S, Tsunoda K, Iwata T, Kondo M. A Japanese boy with Bardet-Biedl syndrome caused by a novel homozygous variant in the ARL6 gene who was initially diagnosed with retinitis punctata albescens: A case report. *Medicine (Baltimore)*. 2022;101(50):e32161.
- 2) Negishi Y, Kurosawa K, Takano K, Matsubara K, Nishiyama T, Saitoh S. A nationwide survey of Schaaf-Yang syndrome in Japan. *J Hum Genet*. 2022;67(12):735-8.
- 3) Saitoh S. Endosomal Recycling Defects and Neurodevelopmental Disorders. *Cells*. 2022;11(1).
- 4) 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;67(9):505-13.
- 5) Fujimoto M, Nakamura Y, Iwaki T, Sato E, Ieda D, Hattori A, Shiraki A, Mizuno S, Saitoh S. Angelman syndrome with mosaic paternal uniparental disomy suggestive of mitotic nondisjunction. *J Hum Genet*. 2023;68(2):87-90.

2. 学会発表

- 1) Fujimoto M, Nakamura Y, Iwaki T, Sato E, Ieda D, Hattori A, Shiraki A, Mizuho S, Saitoh S, Angelman syndrome with mosaic paternal uniparental disomy caused by mitotic nondisjunction., American Society of Human Genetics Annual Meeting 2022., Los Angeles, USA, 2022.10.27, 国際
- 2) 藤本真徳、中村勇治、岩城利彦、佐藤恵美、家田大輔、服部文子、白木杏奈、水野誠司、齋藤伸治、体細胞分裂での不分離による父性片親性ダイソミーのAngelman症候群の一例、第67回日本人類遺伝学会学術集会、パシフィコ横浜、2022.12.14-17、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