

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
総合研究報告書

ヌーナン症候群関連疾患の研究

研究分担者 松原 洋一
国立研究開発法人国立成育医療研究センター 理事

研究要旨

ヌーナン症候群は、特徴的な顔貌、低身長、先天性心疾患を呈する常染色体顕性（優性）もしくは潜性（劣性）疾患である。ヌーナン症候群および類似のヌーナン様症候群では、これまでに細胞内RAS/MAPK シグナル伝達経路に関連する多くの原因遺伝子が同定されてきたが、約20%の症例では未だ病因遺伝子が不明である。本研究期間中に、新たなヌーナン症候群の病因遺伝子としてMAPK1、RREB1、SPRED2が報告された。一方、これまで病因遺伝子の一つと提唱されてきたA2ML1遺伝子については、否定的な研究報告が発表された。ヌーナン症候群の診断基準を考慮するにあたっては、原因遺伝子としてMAPK1とSPRED2を追加し、RREB1とA2ML1については当面除外しておくことが妥当と判断された。また、本疾患群に対する治療薬については、MEK阻害薬の有効性が報告された。今後も引き続き最新の研究情報および臨床情報を収集し、ヌーナン症候群の診断基準及び診療指針に取り入れていくことが重要である。

研究協力者

青木 洋子 東北大学大学院医学系研究科遺伝医療学分野 教授

A. 研究目的

本分担研究では、国際標準に立脚した奇形症候群領域の診療指針に関する学際的・網羅的検討のうち、ヌーナン症候群関連疾患について検討を行うことが目的である。

本研究開始時点において、ヌーナン症候群およびヌーナン様症候群の原因遺伝子として、PTPN11, KRAS, SOS1, RAF1, SHOC2, CBL, BRAF, NRAS, RRAS, RIT1, A2ML1, RASA2, SOS2, LZTR1, PPP1CB, MRAS, RRAS2が知られていた。しかしながらこれらの遺伝子のいずれかに変異を有する患者は約80%にとどまっており、残る20%の患者における原因遺伝子解明が課題であり、それらの最新情報を遅滞なく収集し、ヌーナン症候群の診断基準及び診療指針に取り入れていくことが肝要である。

B. 研究方法

本研究期間中に新たにヌーナン症候群の原因遺伝子として報告されたMAPK1、RREB1、SPRED2について、その臨床病型とRAS/MAPKシグナル伝達系における機能異常について文献的検討を行った。また、これまでヌーナン症候群の原因遺伝子として提唱されてきたA2ML1に関する否定的な論文報告についても検討した。さらに、新

たにヌーナン症候群の分子標的治療薬として報告されたMEK阻害薬について、文献的情報収集と検討を行った。

（倫理面への配慮）

本分担研究ではヒトの検体や個人情報を扱わないため、倫理委員会等での審査は必要ないものと考えられる。

C. 研究結果

1) MAPK1遺伝子変異の同定

2020年、イタリアの研究グループから、全エクソーム解析によって血縁関係のない7人の患者にそれぞれ異なるミスセンス変異が報告された（Motta M et al, AJHG 107:499-513, 2020）。細胞株および線虫を用いた機能試験で、刺激依存性の機能獲得型変異であることが確認された。

2) RREB1遺伝子変異の同定

カナダの研究グループが、ヌーナン症候群様の臨床症状を呈する8歳の男児において、染色体6番短腕の腕内微細欠失(6p25.1p24.3)を見出した。そこでこれまでに報告されている14名の6p腕内微細欠失患者を比較し、その最小共通欠失部分にはRREB1遺伝子しかないことを見出した（Kent OA et al, Nat Commun 11(1):4673, 2020）。モデルマウス作成により、RREB1のハプロ

不全がエピジェネティックな制御を通じてMAPK経路の活性化を引き起こすと結論した。

3) SPRED2遺伝子変異の同定

2021年、イタリアの研究グループから、ヌーナン症候群様の症状を有する患者4名（3家系）において3種類のSPRED2遺伝子変異を同定したことが報告された (Motta et al. Am J Hum Genet 108:2112-2129, 2021)。いずれの変異もホモ接合体として検出された。In vitroの実験、zebrafishにおけるmorpholinoを用いたノックダウン実験、ノックアウトマウスによる検討で、病原性が確認された。

4) A2ML1遺伝子に関する再検討

これまでA2ML1遺伝子はヌーナン症候群の原因遺伝子であるとの論文が発表されていた。しかしドイツの研究グループから、A2ML1がヌーナン症候群の原因遺伝子のひとつであるとする知見に疑問を呈する論文が報告された (Brinkman J et al, EJHG 29:524-527, 2021)。A2ML1 variantが罹患していない親から由来していたこと、以前に報告されていた患者でA2ML1以外の病因遺伝子変異が認められたこと、病因とされていた遺伝子変異が一般集団にも存在することが明らかにされた。

5) ヌーナン症候群患者に対するMEK阻害薬治療

2022年、英国、米国、デンマークの三つの独立した研究グループから、ヌーナン症候群に合併した重篤な病態に対して、RAS/MAPKシグナル伝達経路の恒常的な活性化を抑制するMEK阻害薬の経口投与が有効であったとの報告がなされた。著効を示した合併症は、リンパ管異常、肥大型心筋症、出血傾向であった。

D. 考察

ヌーナン症候群の原因遺伝子として、新たにMAPK1、RREB1、SPRED2が報告された。このうち、MAPK1、SPRED2については機能的エビデンスが示されていると判断された。これまでヌーナン症候群の病因遺伝子として同定されたもののほとんどは顕性(優性)遺伝形式をとり、潜性(劣性)遺伝形式をとるものはLZTR1のみであった。このSPRED2は潜性遺伝形式をとる2番目の病因遺伝子となる。今後、網羅的ゲノム解析によって新たなヌーナン症候群病因遺伝子を探索するに際しては、顕性のみならず潜性の可能性を念頭に置く必要があると考えられた。

RREB1 遺伝子については、微細欠失内に本遺伝子が存在する患者が同定されているものの、RREB1 遺伝子本体の部分欠失、ナンセンス変異、ミスセンス変異などを有する患者が同定されおらず、今後さらなる検討が必要と考えられる。

A2ML1遺伝子がヌーナン症候群の原因遺伝子であるか否かについては、説得力のある疑義が示された。今後の検討が必要である。

MEK 阻害薬は、これまでにがんの治療薬として様々な薬剤が開発され、臨床試験を経て臨床現場で広く用いられている。その効果のみならず、安全性と副作用も仔細に報告されており、比較的安全に長期にわたって使用できることが明らかとなっている。これらの薬剤を適応拡大という形でヌーナン症候群の治療に用いることは妥当性があるものと考えられた。

E. 結論

ヌーナン症候群の診断基準を考慮するにあたっては、原因遺伝子として新たにMAPK1、SPRED2を追加する一方、RREB1とA2ML1については当面除外しておくことが妥当と考えられた。

ヌーナン症候群患者における重篤な合併症に対してMEK阻害剤の経口投与による治療法が有効と考えられた。今後、系統的な臨床試験を実施することが必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fujita H, Sasaki T, Miyamoto T, Akutsu SN, Sato S, Mori T, Nakabayashi K, Hata K, Suzuki H, Kosaki K, Matsuura S, Matsubara Y, Amagai M, Kubo A. Premature aging syndrome showing random chromosome number instabilities with CDC20 mutation. Aging Cell. 2020;19(11):e13251.
- 2) Horikawa R, Ogata T, Matsubara Y, Yokoya S, Ogawa Y, Nishijima K, Endo T, Ozono K. Long-term efficacy and safety of two doses of Norditropin((R)) (somatropin) in Noonan syndrome: a 4-year randomized, double-blind, multicenter trial in Japanese patients. Endocr J. 2020;67(8):803-18.
- 3) Narumi-Kishimoto Y, Ozawa H, Yanagi K, Kawai T, Okamura K, Hata K, Kaname T, Matsubara Y. A novel EFTUD2 mutation identified an adult male with mandibulofacial dysostosis Guion-Almeida type. Clin Dysmorphol. 2020;29(4):186-8.
- 4) Oiso N, Kubo A, Shimizu A, Suzuki H, Kosaki K, Chikugo T, Nakabayashi K, Hata K, Yanagihara S, Ishikawa O, Matsubara Y, Amagai M, Kawada A. Epidermodysplasia verruciformis without progression to squamous cell carcinomas in an elderly man: alpha-human papillomavirus infection in the evolving verruca. Int J Dermatol. 2020;59(9):e334-e6.
- 5) Yanagi K, Morimoto N, Iso M, Abe Y, Okamura K, Nakamura T, Matsubara Y, Kaname T. A novel missense variant of the GNAI3 gene and recognisable morphological characteristics of the mandibula in ARCND1. J Hum Genet.

2021;66(10):1029-34.

- 6) Kanno M, Suzuki M, Tanikawa K, Numakura C, Matsuzawa SI, Niihori T, Aoki Y, Matsubara Y, Makino S, Tamiya G, Nakano S, Funayama R, Shirota M, Nakayama K, Mitsui T, Hayasaka K. Heterozygous calcyclin-binding protein/Siah1-interacting protein (CACYPB/SIP) gene pathogenic variant linked to a dominant family with paucity of interlobular bile duct. *J Hum Genet.* 2022;67(7):393-7.
- 7) Takahashi Y, Date H, Oi H, Adachi T, Imanishi N, Kimura E, Takizawa H, Kosugi S, Matsumoto N, Kosaki K, Matsubara Y, Consortium I, 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.
- 8) Takeuchi I, Yanagi K, Takada S, Uchiyama T, Igarashi A, Motomura K, Hayashi Y, Nagano N, Matsuoka R, Sugiyama H, Yoshioka T, Saito H, Kawai T, Miyaji Y, Inuzuka Y, Matsubara Y, Ohya Y, Shimizu T, Matsumoto K, Arai K, Nomura I, Kaname T, Morita H. STAT6 gain-of-function variant exacerbates multiple allergic symptoms. *J Allergy Clin Immunol.* 2023;151(5):1402-9 e6.
- 9) Yanagi K, Coker J, Miyana K, Aso S, Kobayashi N, Satou K, Richman A, Indupuru S, Matsubara Y, Kaname T. Biallelic CC2D2A variants, SNV and LINE-1 insertion simultaneously identified in siblings using long-read whole-genome sequencing and haplotype phasing. *J Hum Genet.* 2023.

2. 学会発表

- 1) Yanagi K, Toguchi S, Sato K, Inoue M, Naritomi K, Matsubara Y, Kaname T. "A Japanese girl with a novel variant of PIK3R1 showed deterioration of insulin resistance to biguanide treatment."(ポスター) , European

Human Genetics Conference,(Web), 2020/6/6-9, 国際

- 2) Kaname T, Yanagi K, Takeshita M, Omata M, Kobayashi N, Abe Y, Naritomi K, Matsubara Y. "A novel deletion in ZEB2 and biallelic frameshift variants in CNKSR1 identified in a patient dysmorphologically diagnosed with Mowat-Wilson syndrome."(Virtual Conference), ESHG2020. ,(Web), 2020/6/6-9, 国際
- 3) 要 匡、成富 研二、松原洋一「AIを応用した希少・難病の診断支援システムの開発」(シンポジウム) , 第 123 回日本小児科学会学会集會,(Web), 2020/8/21-23, 国内
- 4) 松原洋一「遺伝性疾患研究の進歩とともに、My odyssey of research on genetic diseases」(学会賞 受賞講演) , 日本人類遺伝学会第 65 回大会 ,(Web), 2020/11/20, 国内
- 5) 松原洋一「IRUD 解析センターの経過、現状と課題」(口頭) , 2020 年度 IRUD 班会議 IRUD とりまとめ機関 解析センター,(Web), 2020/12/18, 国内
- 6) 松原洋一「遺伝子・健康・社会」検討委員会 (Zoom 参加) , 日本医学会 ,(Web), 2021/01/19, 国内
- 7) 松原洋一「ゲノム医療の現況と課題」(特別講演) , 第 20 回関西出生前診療研究会、第 50 回臨床細胞分子遺伝研究会学会集會合同集會,(Web), 2021/03/06, 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