

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

国立大学法人佐賀大学 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の一つであるインプリンティング疾患ベックウィズ・ビーデマン症候群（BWS）を対象に、患者の臨床情報および遺伝学的検査情報を収集することを目的とした。BWSは、多様な表現型を示すことから、ベックウィズ・ビーデマン スペクトラム（BWSp）という呼称と症状に基づくスコアリングシステムが臨床診断に使用されているが、本邦の患者における有用性については検証されていない。これまで収集した312例についてBWSpスコアリングシステムに基づき、2または3を非典型的BWSあるいは片側肥大単独例（aBWS/ILO）、4以上を古典的BWS（cBWS）と分類し、発症原因別の症例数、BWSpスコアを解析した。aBWS/ILOは45例、cBWSは267例であった。aBWS/ILOでは遺伝学的検査陰性例が約70%を占めた一方、cBWSでは遺伝学的検査陽性例が約77%存在することから、遺伝学的検査の判定にスコアリングシステムが有用であることが示唆された。さらに、遺伝学的検査陰性例に他の過成長症候群が含まれている可能性があることから、遺伝学的検査陰性69例を対象にWhole exome sequencing（WES）を行った。10例（14.5%）に他疾患の原因遺伝子バリエーションあるいは染色体構造異常を認めた。臨床症状を比較したところ、他疾患群において出生時体重、出生時身長が有意に大きく、腎奇形を高頻度に認めた。遺伝学的検査陰性例には一定程度の他疾患が含まれており、その鑑別に臨床症状とWESが有用であることが明らかとなった。

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
一丸 武作志・佐賀大学医学部・助教
渡邊 弥生・佐賀大学医学部・技術補佐員

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）を対象に、患者の自然歴・ジェノタイプの収集と患者とのリコンタクトを可能とする研究システムを構築するため、患者の臨床情報および遺伝学的検査情報を収集することを目的とした。

BWSはインプリンティング疾患であり、エピジェネティックに制御されているインプリント遺伝子の発現異常や変異等で発症する。多様な表現型を示すことから、ベックウィズ・ビーデマン スペクトラム（BWSp）という呼称と症状に基づくスコアリングシステムが臨床診断に使用されている（表1）。分子遺伝学的異常の有無にかかわらず4以

上は古典的BWS（cBWS）と診断され、2-3は非典型的BWSあるいは片側肥大単独例（aBWS/ILO）と診断され、分子遺伝学的解析が推奨される。このスコアリングシステムは、欧米人患者データを元に提唱されており、本邦の患者における有用性については検証されていない。主要な発症原因は5種類あり（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（upd(11)pat）、CDKN1C機能喪失病的バリエーション（CDKN1C PV）、11p15.5 copy number variation（CNV））、発症原因別に特徴的な症状や腫瘍リスクが異なる。腫瘍リスクは、ICR1-GOMが最も高く、次いでupd(11)patが続く。ICR2-LOMの腫瘍リスクは低い、一般集団における小児固形腫瘍のリスクに比べると十分に高い。

表1. BWSpスコアリングシステム

主要症状（2点）
・巨舌
・臍帯ヘルニア

・片側肥大
・多発性/両側性のWilms腫瘍またはnephroblastomatosis
・高インスリン血症（1週間以上持続し且つ強度の治療が必要）
・病理所見（副腎皮質細胞腫大、間葉性異形成胎盤、膵臓腺腫症）
副症状（1点）
・出生時体重 > 2 SDS
・顔面の単純性母斑
・羊水過多または腫大胎盤
・耳垂線状溝または小窩
・一過性低血糖（1週間未満）
・腫瘍（神経芽腫、横紋筋肉腫、片側性Wilms腫瘍、肝芽腫、副腎皮質癌、褐色細胞腫）
・腎腫大または肝腫大
・臍ヘルニアまたは腹直筋離開

B. 研究方法

1. BWSpスコアリングシステムを用いた解析

これまで収集したBWS全症例に令和5年度に収集・解析したBWS症例に加え、BWSpスコアリングシステムに基づき、4以上をcBWS、2または3をaBWS/ILO、1以下を非該当例とした。発症原因別の症例数、BWSpスコアを解析した。

2. 遺伝学的検査陰性 (no alteration) 症例における他疾患原因遺伝子の探索

約80%のBWSp症例で上述の5種類の発症原因のいずれかを検出できるが、約20%の症例ではこれらの原因を認めない。この遺伝学的検査陰性例に他の過成長症候群が含まれている可能性がある。そこで、遺伝学的検査陰性の69例を対象にWhole exome sequencing (WES) を行い、臨床的特徴の統計解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、佐賀大学医学部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解析

令和5年度に当研究室で収集・解析した症例は6例であった。これまでに収集したB

WSp症例で、BWSpスコアが2-3のaBWS/ILOは45例、BWSpスコアが4以上のcBWSは267例であった。発症原因別の症例数、頻度、BWSpスコアを表2、表3に示す。cBWSでは、遺伝学的検査陰性 (no alteration) 例のBWSp scoreが、ICR2-LOMとupd(11)patに比べて有意に低いという結果であった (それぞれ $p < 0.01$, nonparametric Steel-Dwass test)。

表2. aBWS/ILO (BWSp score = 2 or 3 (単胎))

発症原因	症例数	頻度	BWSpスコア平均
ICR2-LOM	8	17.8%	3.00
ICR1-GOM	1	2.2%	3.00
upd(11)pat	5	11.1%	2.80
CDKN1C PV	0	0.0%	0.00
11p CNV	0	0.0%	0.00
no alteration	31	68.9%	2.65
合計	45		

表3. cBWS (BWSp score ≥ 4 (単胎))

発症原因	症例数	頻度	BWSp score 平均
ICR2-LOM	98	36.7%	6.72*
ICR1-GOM	19	7.1%	6.32
upd(11)pat	58	21.7%	7.38*
CDKN1C PV	21	7.9%	6.67
11p CNV	9	3.4%	6.00
no alteration	62	23.2%	5.66*
合計	267		

2. 遺伝学的検査陰性例 (no alteration) における他疾患原因遺伝子の探索

遺伝学的検査陰性 (no alteration) 69例のうち10例 (14.5%) に他疾患の原因遺伝子バリエーションあるいは染色体構造異常を認めた。内訳は、aBWS/ILO 19例中1例 (5.3%)、cBWS 50例中9例 (18.0%) であった。表4に他疾患名とバリエーションの一覧を示す。cBWS、aBWS/ILO、他疾患群で臨床症状を比較したところ、他疾患群において出生時体重、出生時身長が有意に大きく (それぞれ $p < 0.01$, nonparametric Steel-Dwass test)、腎奇形を高頻度に認めた ($p < 0.01$, Benjamini-Hochberg法 (false discovery rate = 0.05) で補正したFisher's exact test)。

表 4. 遺伝学的検査陰性BWSp症例のWES解析結果

疾患名	遺伝形式	遺伝子/核型	バリエント	塩基/アミノ酸変化c	親由来	BWSp
Simpson-Golabi-Behmel syndrome	XLR	GPC3	nonsense	c.1228C>T:p.R410*	母由来	4
			splicing	c.1236-2A>C: exon7	母由来	4
			nonsense	c.1357G>T:p.E453*	母由来	5
			nonsense	c.1563C>A:p.C521*	母由来	5
			nonsense	c.760C>T:p.R254*	不明	7
Sotos syndrome	AD	NSD1	missense	c.6413G>A:p.C2138Y	父由来 ¹	8
			missense	c.6457C>T:p.P2153S	新規	3
Imagawa-Matsumoto syndrome	AD	SUZ12	missense	c.1829A>T:p.E610V	父由来 ²	6
Glycosylphosphatidylinositol Biosynthesis Defect 11	AR	PIGW	missense frameshift	c.173T>C:p.L58P; c.615_618del:p.V206Gfs*3	母由来 父由来	6
8q duplication and 9p deletion	AD	46,XX,der(9)t(8;9)(q24.1;p22.3)pat		NC_000008.10:g.125574984_146279543dup NC_000009.11:g.154730_14801836del	父由来 ³	10

1: 父が軽症例、2: 父に低頻度モザイクを認める、3: 父の核型:46,XY,t(8;9)(q24.1;p22.3)

D. 考察

1. BWSpスコアリングシステムを用いた解析

BWSpスコアリングシステムに基づきaBWS/ILOとcBWSに区別して、それぞれの発症原因別の頻度を明らかにした。aBWS/ILOでは、遺伝学的検査陰性 (no alteration) 例が約70%を占めることから、スコアが低いときには、BWSp以外の疾患を考慮すべきであろう。一方で、遺伝学的検査陽性例が約30%存在することから、遺伝学的検査は実施すべきである。また、cBWSにおいては、遺伝学的検査陽性例が約77%存在すること、遺伝学的検査陰性 (no alteration) 例のBWSp scoreが有意に低いこと、から遺伝学的検査の判定にスコアリングシステムが有用であることが示唆された。総じて、本邦患者においてもBWSpスコアリングシステムの有用性が示唆された。

2. 遺伝学的検査陰性例 (no alteration) における他疾患原因遺伝子の探索

遺伝学的検査陰性例 (no alteration) には一定程度他疾患が含まれており、その鑑別に腎奇形の有無が有用である可能性が示唆された。また、確定診断の上でWESが有用であることが明らかとなった。

E. 結論

1. BWSpスコアリングシステムを用いた解析

BWSpスコアリングシステムに基づき、発症原因別の頻度とBWSp scoreを明らかにし、スコアリングシステムの有用性を示唆する結果を得た。

2. 遺伝学的検査陰性例 (no alteration) における他疾患原因遺伝子の探索

遺伝学的検査陰性例 (no alteration) には一定程度他疾患が含まれており、その鑑別に臨床症状とWESが有用であることを明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Higashimoto K, Sun F, Imagawa E, Saïda K, Miyake N, Hara S, Yatsuki H, Kubiura-Ichimarū M, Fujita A, Mizuguchi T, Matsumoto N, Soejima H. Whole-exome sequencing reveals causative genetic variants for several overgrowth syndromes in molecularly negative Beck with-Wiedemann spectrum. *J Med Genet*. 2024.
- 2) Yamamoto Y, Higashimoto K, Ohkawa

Y, Soejima H, Kaneko K, Ohmi Y, Furukawa K, Furukawa K. Possible regulation of ganglioside GD3 synthase gene expression with DNA methylation in human glioma cells. *Glycoconj J.* 2023;40(3):323-32.

2. 学会発表

- 1) 副島英伸. インプリンティング疾患. 日本遺伝子診療学会第23回臨床遺伝情報検索講習会, Web配信, 2023.6.27-7.27, 国内
- 2) Tatsuki Urakawa, Kaori Yamoto, Kaori Hara-Isono, Keiko Matsubara, Maki Fukami, Shinji Saitoh, Hidenobu Soejima, Tsutomu Ogata, Masayo Kagami. Comprehensive molecular and clinical analysis in 30 cases with multilocus imprinting disturbance., *Human Genetics Asia* 2023., Tokyo, Japan, 2023.10.11-14., 国際
- 3) Tsutomu Ogata, Shinji Saito, Hidenobu Soejima, Masayo Kagami. Proposal of genetic diagnosis approach for Prader-Willi syndrome and Kagami-Ogata syndrome., *Human Genetics Asia* 2023., Tokyo, Japan, 2023.10.11-14., 国際
- 4) Satoshi Hara, Fumikazu Matsuhisa, Shuji Kitajima, Hitomi Yatsuki, Musashi Ichimaru, Ken Higashimoto, Hidenobu Soejima. Exploration of a responsible sequence for aberrant hypermethylation at maternal H19-ICR and BWS-like phenotypes in mice. , *Human Genetics Asia* 2023., Tokyo, Japan, 2023.10.11-14., 国際
- 5) Ken Higashimoto, Keizo Takao, Fumikazu Matsuhisa, Yoshichika Yoshioka, Yuzo Murata, Takehisa Sakumoto, Satoshi Hara, Musashi Ichimaru, Hitomi Yatsuki, Shuji Kitajima, Shigehisa Aoki, Koh-ichiro Yoshiura, Hidenobu Soejima. Establishment of a mouse model of Sotos syndrome and its phenotypic analysis. , *Human Genetics Asia* 2023., Tokyo, Japan, 2023.10.11-14., 国際
- 6) 原聡史、松久葉一、北嶋修司、八木ひとみ、東元健、副島英伸. BWS様表現型を伴う母性H19-ICRの異常高メチル化を引き起こす責任配列の探索. 第16回日本エピジェネティクス研究会年会, 東京, 2023.6.19-20. 国内
- 7) 東元健、高雄啓三、松久葉一、吉岡芳親、村田祐造、佐久本孟寿、原聡史、北嶋修司、青木茂久、吉浦孝一郎、副島英伸. Sotos症候群モデルマウスの樹立と表現型解析. 第16回日本エピジェネ

- ティクス研究会年会, 東京, 2023.6.19-20. 国内
- 8) 浦川立貴、矢本香織、原香織、松原圭子、副島英伸、齋藤伸治、緒方勤、深見真紀、鏡雅代. Multilocus imprinting disturbances症例におけるメチル化可変領域の異常パターン、遺伝型、表現型の検討. 第56回日本小児内分泌学会学術集会, 大宮, 2023.10.19-21, 国内
 - 9) 緒方勤、齋藤伸治、副島英伸、鏡雅代、川井正信. インプリンティング疾患の遺伝子診断法の提唱: Prader-Willi 症候群とKagami-Ogata 症候群をモデルとして. 第56回日本小児内分泌学会学術集会, 大宮, 2023.10.19-21, 国内
 - 10) 村瀬絢香 (医学科4年)、東元健、大場隆、三嶋博之、吉浦孝一郎、副島英伸. 両親性間葉性異形成胎盤の原因遺伝子探索. 第31回日本胎盤学会学術集会, 博多, 2023.11.3-4, 国内
 - 11) 緒方勤、齋藤伸治、副島英伸、鏡雅代、川井正信. インプリンティング疾患の遺伝子診断法の提唱: Prader-Willi 症候群とKagami-Ogata 症候群をモデルとして. 第46回日本小児遺伝学会学術集会, 那覇, 2023.12.8-9. 国内
 - 12) 山本徒子、副島英伸. 佐賀県の出生前遺伝カウンセリングの現状と問題点. 第29回出生前から小児期にわたるゲノム医療フォーラム. 久留米, 2023.11.5, 国内
 - 13) 副島英伸、東元健、今川英里、才田謙、三宅紀子、原聡史、八木ひとみ、一丸武作志、藤田京志、水口剛、松本直通. 分子遺伝学的検査陰性Beckwith-Wiedemann症候群患者における他疾患の探索. 第29回出生前から小児期にわたるゲノム医療フォーラム. 久留米, 2023.11.5, 国内
 - 14) 村瀬絢香、東元健、大場隆、三嶋博之、吉浦孝一郎、副島英伸. 両親性間葉性異形成胎盤の原因遺伝子探索. 西日本医学生学術フォーラム2023, 熊本, 2023.12.2, 国内

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし