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

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、患者との双方向的協調に基づく先天異常症の自然歴の収集とrecontact可能なシステムを構築することである。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、Kagami-Ogata症候群とPrader-Willi症候群における効率的な遺伝子診断法を樹立と、Kagami-Ogata症候群を招く遺伝学的原因の頻度の解明が挙げられる。これらの成果は、Kagami-Ogata症候群やPrader-Willi症候群の同定を促進し、多くの患者を同定することに繋がり、次年度からの自然歴の集積に役立つと考えられる。

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、患者との双方向的協調に基づく先天異常症の自然歴の収集とrecontact可能なシステムを構築することである。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。

本年度は、Kagami-Ogata症候群とPrader-Willi症候群における効率的な遺伝子診断法を樹立と、Kagami-Ogata症候群を招く遺伝学的原因の頻度の解明を主に行った。

B．研究方法

遺伝子診断法の樹立：本邦において保険収載された遺伝学的解析方法から、現在までに報告されたKagami-Ogata症候群とPrader-Willi症候群の中核となる発症原因を最も効率的に検出する方法を考案した。また、この限界について明らかとした。

Kagami-Ogata症候群を招く遺伝学的原因の頻度の解明：われわれは、世界中の症例の約2/3を報告している。そのデータと文献データを集積し、遺伝学的原因の相対頻度を明らかとした。

（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

Kagami-Ogata症候群における効率的な遺伝子診断法の樹立：われわれは、１回のMS-MLPA検査で現在までに報告されている患者のほぼ100％を同定できる図１に示す方法を推奨する。

なお、その留意点ならびに限界は以下の通りである。

- MS-MLPAは、施設基準（遺伝カウンセリング加算の施設基準）を満たした保険医療機関が診断を目的として登録衛生検査所に遺伝学的検査を委託した場合に保険請求可能である。
- 欠失は全て母由来染色体上に存在する。
- ME032 probe mixでは、*MEG3*/*DLK1*:IG-DMR のコピー数は解析できるが、メチル化パターンは解析できない。

(1) 母由来インプリンティング領域におい

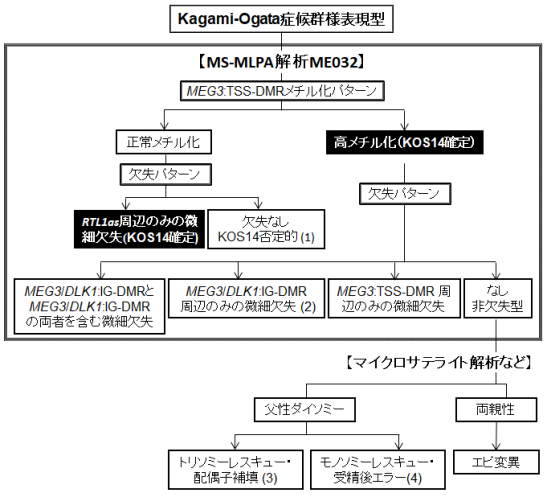

図 1．Kagami-Ogata 症候群における効率的な遺伝子診断法

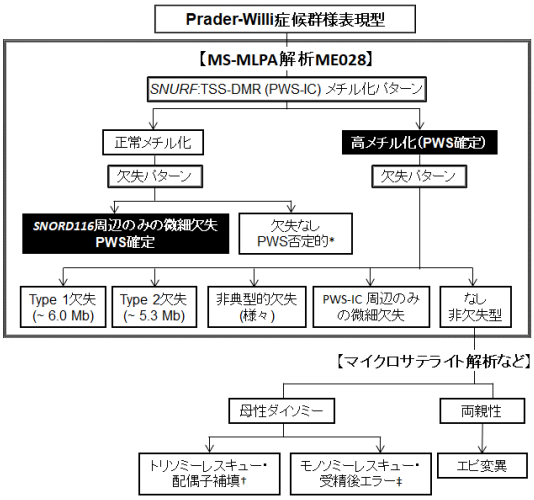

図 2．Prader-Willi 症候群における効率的な遺伝子診断法

て、ホスト遺伝子 *MEG3*)と*RTL1as*の連続性を破壊する切断点を有する転座（および理論的には逆位も相当）が報告されている。ホスト遺伝子である*MEG3*発現を阻害するプロモーターや遺伝子変異は報告されていないが、その可能性は否定できない。これらの検出には染色体検査やシークエンス解析が必要である。なお、転座・逆位の検出は通常のGバンド法で実施でき、*MEG3*は遺伝子パネルに含まれている。

(2) 母由来*MEG3*/*DLK1*:IG-DMR の欠失は、メチル化パターンの階層的制御のために*MEG3*:TSS-DMR の高メチル化を招く。

(3) 父がRobertsonian translocationを有するとき、trisomy rescueを介して同じRobertsonian translocation を持つ父性ダイソミー発症が繰り返される可能性がある。

(4) 母がRobertsonian translocationを有するとき、分離異常でnullisomic oocyteが形成され、その結果、monosomy rescueを介して父性ダイソミー発症が繰り返される可能性がある。

Prader-Willi症候群における効率的な遺伝子診断法の樹立：われわれは、１回のMS-MLPA検査で現在までに報告されている患者のほぼ100%を同定できる図2に示す方法を推奨する。

なお、その留意点ならびに限界は以下の通りである。

- MS-MLPAは、施設基準（遺伝カウンセリング加算の施設基準）を満たした保険医療機関が診断を目的として登録衛生検査所に遺伝学的検査を委託した場合に保険請求可能である。

* 父由来インプリンティング領域において、 *SNORD116*より近位部のホスト遺伝子内に切断点を持つ転座 （逆位も同じ効果を有する）ならびに位*SNORD116*より近位部のホスト遺伝子*SNRPN*変異が報告されている。転座・逆位の検出は通常のGバンド法で実施でき、*SNRPN*は遺伝子パネルに含まれている。また、TS14も乳児期にはPWS様の筋緊張低下を示すことから、鑑別疾患として挙げられる。なお、

† 母がRobertsonian translocationやi(15q) = rob(15;15)(q10;q10)を有するとき、trisomy rescueを介して同じRobertsonian translocation を持つ母性ダイソミー発症が繰り返される可能性がある。特に、母がi(15q) = rob(15;15)(q10;q10)を有するときには、同胞再発率はほぼ100%となる。

‡ 父がRobertsonian translocationやi(15q) = rob(15;15)(q10;q10)を有するとき、分離異常でnullisomic spermが形成され、その結果、monosomy rescueを介して母性ダイソミー発症が繰り返される可能性がある。

Kagami-Ogata症候群を招く遺伝学的原因の頻度：世界中の症例約100例（うち76例はわれわれの報告）の発症頻度は以下のとおりである。

(1) 第14染色体父性片親性ダイソミー：約50％
(2) 母由来第14染色体上の*MEG3*/*DLK1*:IG-DMRと*MEG3*:TSS-DMRのエピ変異：約25％
(3) 母由来第14染色体上の*MEG3*/*DLK1*:IG-DMRまたは*MEG3*:TSS-DMRを含む微細欠失：約20％
(4) 母由来第14染色体上の*MEG3*/*DLK1*:IG-DMRおよび*MEG3*:TSS-DMRを含まない微細欠失：約5％
(5) その他：*MEG3*プロモーターとRTL1asの連続性を破断する染色体異常：1例のみ

Ｄ．考察

これらの成果は、Kagami-Ogata症候群やPrader-Willi症候群の同定を促進し、多くの患者を同定することに繋がり、次年度からの自然歴の集積に役立つと考えられる。

Ｅ．結論

本年度、Kagami-Ogata症候群とPrader-Willi症候群における効率的な遺伝子診断法の樹立と、Kagami-Ogata症候群を招く遺伝学的原因の頻度の解明を行った。

Ｆ．研究発表

１．論文発表

1) Fujisawa Y, Masunaga Y, Tanikawa W, Nakashima S, Ueda D, Sano S, Fukami M, Saitsu H, Yazawa T, Ogata T. Serum steroid metabolite profiling by LC-MS/MS in two phenotypic male patients with HSD17B3 deficiency: Implications for hormonal diagnosis. J Steroid Biochem Mol Biol. 2023;234:106403.
2) Fukahori K, Yamoto K, Saitsu H, Ogata T, Nagasaki K. PORCN-related microphthalmia with limb anomalies: Case report and literature review. Am J Med Genet A. 2023;191(2):636-9.
3) Hara-Isono K, Matsubara K, Nakamura A, Sano S, Inoue T, Kawashima S, Fuke T, Yamazawa K, Fukami M, Ogata T, Kagami M. Risk assessment of assisted reproductive technology and parental age at childbirth for the development of uniparental disomy-mediated imprinting disorders caused by aneuploid gametes. Clin Epigenetics. 2023;15(1):78.
4) Hara-Isono K, Matsubara K, Nakamura A, Sano S, Inoue T, Kawashima S, Fuke T, Yamazawa K, Fukami M, Ogata T, Kagami M. Risk assessment of assisted reproductive technology and parental age at childbirth for the development of uniparental disomy-mediated imprinting disorders caused by aneuploid gametes. Clin Epigenetics. 2023;15(1):78.
5) Hiraide T, Shimizu K, Okumura Y, Miyamoto S, Nakashima M, Ogata T, Saitsu H. A deep intronic TCTN2 variant activating a cryptic exon predicted by SpliceRover in a patient with Joubert syndrome. J Hum Genet. 2023;68(7):499-505.
6) Kawai M, Muroya K, Murakami N, Ihara H, Takahashi Y, Horikawa R, Ogata T. A questionnaire-based survey of medical conditions in adults with Prader-Willi syndrome in Japan: implications for transitional care. Endocr J. 2023;70(5):519-28.
7) Komatsu K, Sakaguchi K, Shimizu D, Yamoto K, Kato F, Miyairi I, Ogata T, Saitsu H. Characterization of KMT2A::MATR3 fusion in a patient with acute lymphoblastic leukemia and monitoring of minimal residual disease by nanoplate digital PCR. Pediatr Blood Cancer. 2023;70(4):e30120.
8) Masunaga Y, Fujisawa Y, Massart F, Spinelli C, Kojima Y, Mizuno K, Hayashi Y, Sasagawa I, Yoshida R, Kato F, Fukami M, Kamatani N, Saitsu H, Ogata T. Microdeletion at ESR1 Intron 6 (DEL_6_75504) Is a Susceptibility Factor for Cryptorchidism and Hypospadias. J Clin Endocrinol Metab. 2023;108(10):2550-60.
9) Masunaga Y, Ono H, Fujisawa Y, Taniguchi K, Saitsu H, Ogata T. Sotos syndrome with marked overgrowth in three Japanese patients with heterozygous likely pathogenic NSD1 variants: case reports with review of literature. Endocr J. 2024;71(1):75-81.
10) Pinto EM, Fridman C, Figueiredo BC,

Salvador H, Teixeira MR, Pinto C, Pinheiro M, Kratz CP, Lavarino C, Legal E, Le A, Kelly G, Koeppe E, Stoffel EM, Breen K, Hahner S, Heinze B, Techavichit P, Krause A, Ogata T, Fujisawa Y, Walsh MF, Rana HQ, Maxwell KN, Garber JE, Rodriguez-Galindo C, Ribeiro RC, Zambetti GP. Multiple TP53 p.R337H haplotypes and implications for tumor susceptibility. HGG Adv. 2024;5(1):100244.

11) Pinto EM, Fridman C, Figueiredo BC, Salvador H, Teixeira MR, Pinto C, Pinheiro M, Kratz CP, Lavarino C, Legal E, Le A, Kelly G, Koeppe E, Stoffel EM, Breen K, Hahner S, Heinze B, Techavichit P, Krause A, Ogata T, Fujisawa Y, Walsh MF, Rana HQ, Maxwell KN, Garber JE, Rodriguez-Galindo C, Ribeiro RC, Zambetti GP. Multiple TP53 p.R337H haplotypes and implications for tumor susceptibility. HGG Adv. 2024;5(1):100244.
12) Pintus E, Chinn AF, Kadlec M, Garcia-Vazquez FA, Novy P, Matson JB, Ros-Santaella JL. Correction to: N-thiocarboxyanhydrides, amino acid-derived enzyme-activated H(2)S donors, enhance sperm mitochondrial activity in presence and absence of oxidative stress. BMC Vet Res. 2023;19(1):71.
13) Urakawa T, Sano S, Kawashima S, Nakamura A, Shima H, Ohta M, Yamada Y, Nishida A, Narusawa H, Ohtsu Y, Matsubara K, Dateki S, Maruo Y, Fukami M, Ogata T, Kagami M. (Epi)genetic and clinical characteristics in 84 patients with pseudohypoparathyroidism type 1B. Eur J Endocrinol. 2023;189(6):590-600.
14) Yamoto K, Kato F, Yamoto M, Fukumoto K, Shimizu K, Saitsu H, Ogata T. TBX5 pathogenic variant in a patient with congenital heart defect and tracheal stenosis. Congenit Anom (Kyoto). 2024;64(1):23-7.

２．学会発表

1) 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, 大宮, 2023.10.19-2023.10.21, 国内
2) Tsutomu Oata, Shinji Saitoh, Hidenobu Soejima, Masayo Kagami4, Proposal of genetic diagnosis approach for Prader-Willi syndrome and Kagami-Ogata-syndrome, Human Genetics Asia 2023, 東京, 2023.10.11-2023.10.14, 国内
3) 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, 那覇, 2023.12.8-2023.12.9, 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