

MECP2 重複症候群及びFOXG1 症候群、CDKL5 症候群の臨床調査研究

研究代表者 伊藤 雅之 国立精神・神経医療研究センター疾病研究第二部 室長

研究要旨

MECP2 重複症候群及びFOXG1 症候群、CDKL5 症候群は近年確立された疾患である。いずれも乳児期早期からの重度な精神運動発達障害と難治性てんかんを呈する。希少性が高く、疾患認知度が低いことから診断が遅れる。さらに、診断には遺伝子診断を要するが、実施施設は少なく経済的負担は大きい。本研究では、臨床調査研究と診断基準策定を行い、小児慢性特定疾病及び指定難病の登録を行なう。これらの疾患の遺伝子診断や診療支援、患者家族会の支援を行う。

MECP2 重複症候群では、成人例の臨床調査を行った。その結果、18 歳以上になると学校教育を離れ、社会的自活を求められるのに対して、疾患の重症度から患者家族の経済的、精神的、体力的な負担が大きく、相当の支援を必要としていることが明らかになった。また、MECP2 重複症候群のてんかんの時系列を解析した。乳幼児期にてんかん発作は出現せず、学童期に焦点発作で発症し、てんかん性スパズムや非けいれん性てんかん重積を呈し、難治に経過し、退行を認めた。てんかん発作の進行と退行は、MECP2 重複症候群の臨床的特徴と考えられた。これらを踏まえて、指定難病申請を行なった。FOXG1 関連症候群と CDKL5 欠損症候群では、診断基準案を作成し全国の施設に一次調査を行った。その結果、回収率 69.6%を得て、FOXG1 症候群 30 例と CDKL5 症候群 52 例の患者数であった。これらの解析結果から、診断基準を作成する。MECP2 重複症候群、FOXG1 症候群、CDKL5 症候群の臨床症状に基づく診断基準は特異性が低く、確定診断のためには遺伝子診断が必要である。MECP2 重複症候群は MECP2 遺伝子の重複を原因とし、遺伝学的検査が唯一の確定診断法である。スクリーニング的にはマイクロアレイ染色体検査が極めて有用である。しかし、マイクロアレイ染色体検査は網羅的遺伝学的検査であることから留意すべき点がある。マイクロアレイ染色体検査を本症候群の診断に用いる場合の考慮すべき点を検討した。マイクロアレイ染色体検査に加えて当該領域のプローブを用いた FISH 検査が、特に保因者診断では重要と考えられた。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

松石 豊次郎・久留米大学高次脳疾患研究所・名誉教授
黒澤 健司・神奈川県立こども医療センター遺伝科・部長

高橋 悟・旭川医科大学医学部小児科・准教授

青天目 信・大阪大学大学院医学系研究科 小児科学・講師

A. 研究目的

MECP2 重複症候群及び FOXG1 症候群、CDKL5 症候群は近年確立された疾患である。いずれも乳児期早期からの重度な精神運動発達障害と難治性てんかんを呈する。また、有効な治療法がないために対症療

法に頼らざるをえず、生後早期からの療育を必要とする。希少性が高く、疾患認知度が低いことから診断が遅れることが多く、社会生活を大きく制限する。さらに、診断には遺伝子診断を要するが、実施施設は少なく、経済的負担は大きい。

MECP2 重複症候群は、2019 年度より小児慢性特定疾病に認定されたが、指定難病認定は見送られ成人患者の支援が滞っている。FOXG1 症候群と CDKL5 症候群はレット症候群の非典型型とされていたが、世界的には独立した疾患として確立されている。各疾患とも特徴的な臨床像があり、その予後には違いがある。

MECP2 重複症候群及び FOXG1 症候群、CDKL5 症候群の診療支援に向けて、遺伝子診断体制を確立

し、疫学調査・解析を行った。MECP2 重複症候群は多くが男性であるが、女性でも軽度の知的障害から男性に見られるような表現型まで様々な所見が報告されている。確定診断のためには、スクリーニング的にはマイクロアレイ染色体検査が極めて有用である。マイクロアレイ染色体検査は網羅的遺伝学的検査であることから留意すべき点がある。マイクロアレイ染色体検査を本症候群の診断に用いる場合の考慮すべき点を検討した。

本研究では、これまでの実績をもとに調査研究や診断基準策定を行い、小児慢性特定疾病及び指定難病の登録を行なう。また、これらの疾患の遺伝子診断や診療支援、患者家族会の支援を行う。

B. 研究方法

本研究では、MECP2 重複症候群と FOXP1 症候群、CDKL5 症候群の疫学調査を行った。これらの結果から、臨床および遺伝学的実態を明らかにし、小児慢性特定疾病及び指定難病登録のためのデータを作成する。これらの解析結果を関連学会発表および公開シンポジウム開催して公表し、MECP2 重複症候群と FOXP1 症候群、CDKL5 症候群の普及と啓発に努めた。

疫学調査とその解析では、日本小児科学会と日本重症心身障害学会の協力のもと、患者の有無とその診療状況について全国調査を行った。MECP2 重複症候群と FOXP1 症候群、CDKL5 症候群の各疾患の文献資料 (NIH、GeneReviews など) と患者家族会の協力により診断基準案を作成し、調査結果と合わせて診断基準を作成する。一次調査として診断基準案に合致する患者の有無について全国の施設にアンケート調査を行った。

遺伝子解析は、MECP2 重複症候群では、MLPA 法とアレイ CGH 法を用いて解析した。転座が疑われる場合には、FISH 法を行った。FOXP1 症候群と CDKL5 症候群では、サンガー法あるいは MLPA 法で行い、変異が同定されなかった場合には、次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析を行った。また、マイクロアレイ染色体検査は Agilent 社製マイクロアレイシステムを使用し、解析プラットフォームは SurePrint G3 シリーズを用いた。FISH 解析で用いる BAC クローンは、CHORI 32K plate から選択し、通常法で抽出・ラベリング後、Carl Zeiss 製蛍光顕微鏡と MetaSysrwsms 製 Isis で観察をおこなった。hg19 に準拠した UCSC Genome Browser に従って検討した。ISCA データ、および DECIPHER データなどのデータベースを参照して検出された copy number variations (CNV) の意義を検討した。

(倫理面への配慮)

全ての対象疾患において、各施設に設置されている倫理委員会において承認されたのちに、承認内容に準拠して調査研究及び遺伝子解析等を行なった。

C. 研究結果

MECP2 重複症候群では、成人患者 5 例について患者家族会を介して詳細な問診を行なった。その結果、18 歳以上になると学校教育を離れ、社会的自活を求められるのに対して、疾患の重症度から患者家族の経済的、精神的、体力的な負担が大きく、相当の支援を必要としていることが明らかになった。これらを踏まえて、指定難病申請を行なった。

FOXP1 症候群と CDKL5 症候群では、全国 674 施設を対象に一次調査を行なった。回収率 69.6% を得て、FOXP1 症候群 30 例と CDKL5 症候群 52 例の患者数であった。有病率は、FOXP1 症候群が 38.72 (27.83-49.61 (95%信頼区間)) 人、CDKL5 症候群が 70.73 (51.57-81.90 (95%信頼区間)) 人であった。

遺伝子診断の実績は、MECP2 重複症候群の遺伝子診断の依頼は 1 件であり、その症例は MLPA 法により Xq28 領域の数的異常が検出され、array CGH 法により重複範囲が決定された。FOXP1 症候群の遺伝子診断の依頼も 1 件であったが、その臨床像は診断基準を満たしておらず、FOXP1 遺伝子に病的バリエーションも検出されなかった。CDKL5 症候群の遺伝子診断依頼のあった 2 症例は、診断基準を満たしていたが、CDKL5 遺伝子に病的バリエーションは検出されなかった。MECP2 重複症候群の遺伝子解析では、重複領域は Xq28 領域の MECP2 を中心として 0.3Mb から数 Mb におよび、腕内重複および転座逆位由来の再構成 (rec) 症例も見られた。Xqter を重複領域に含む症例では Xq subtelomere プローブによる FISH 検査が有用であったが、中間部の重複では、当該領域にマップされる BAC clone などを用いた FISH が必要であった。定量 PCR では、常染色体への挿入転座の判定は困難であった。今回の解析集団でも常染色体への転座重複例が認められたことから、慎重な解析が必要である。

D. 考察

MECP2 重複症候群の成人患者の調査では、高等学校卒業後の療育訓練の機会が減ること、てんかんや感染症などによる医療受診の機会が増えること、介護度が上がることと介護者の年齢が上がることによる介護負担が重くなることがわかった。

FOXP1 症候群と CDKL5 症候群の全国調査では、一次調査として 469 施設からの回答 (回答率 69.6%) を得た。この結果から、有病率、推定患者数を明らか

にした。二次調査において、遺伝子診断の出来た患者について、家族歴、発症年齢、臨床経過、治療・療育歴等の調査結果から、診断基準を作成した。また、各疾患の自然歴と実態解析を進めた。

CDKL5 症候群の遺伝子診断を行った 2 例は、臨床症状の診断基準を満たしていたが、CDKL5 遺伝子に病的変異は検出されなかった。本症の診断には、遺伝子検査が必須であると考えられた。また、MECP2 重複症候群と FOXP1 症候群についても、臨床症状と遺伝子診断結果の蓄積により、感度・特異度の高い診断基準策定の必要がある。

MECP2 重複症候群は X 連鎖性の遺伝形式をとり、罹患男性の大多数はヘテロ接合体の母親から MECP2 重複を受け継いでいるが、de novo の遺伝子変化もある。マイクロアレイ染色体検査は有用であるが、再構成の位置的情報は限界がある。マイクロアレイ染色体検査による診断では十分留意すべき事項であった。

E. 結論

MECP2 重複症候群の成人患者で顕在化する問題点が明らかになった。指定難病登録の早期実現が必要である。

FOXP1 症候群と CDKL5 症候群は、これまでレット症候群の亜型とされていたが、近年の臨床研究から独立した疾患であるとの認識が欧米豪諸国から定着されてきている。世界的な疾患認識を踏まえて、本邦での調査結果から医療・介護の適正なあり方を提唱し、病態解明と治療法開発に寄与することが求められている。

MECP2 重複症候群、FOXP1 症候群、CDKL5 症候群の臨床症状に基づく診断基準は、特異性が低く、確定診断のためには遺伝子診断が必要である。今後、症例の蓄積によって、診断基準の感度・特異度を評価する必要がある。一方、MECP2 重複症候群のマイクロアレイ染色体検査では、転座・組換えによる発症例もあり慎重な対応が必要である。

F. 健康危険情報

該当情報はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Takeguchi R, Takahashi S, Akaba Y, Tanaka R, Nabatame S, Kurosawa K, Matsuishi T, Itoh M. Early diagnosis of MECP2 duplication syndrome: insights from a nationwide survey in Japan. J Neurol Sci 2021; 422: 117321.

2. 伊藤雅之. MECP2 Rett 症候群. 小児遺伝子疾患辞典. 小児科診療特集. vol.84 (11), 診断と治療社. 東京. 1484-1486pp, 2021.

3. 伊藤雅之. Rett 症候群. 遺伝子医学 37 巻. メディカルドゥ. 112-119pp, 東京. 2021 年 7 月.

4. Ohashi I, Kuroda Y, Enomoto Y, Murakami H, Masuno M, Kurosawa K. 6p21.33 Deletion encompassing CSNK2B is associated with relative macrocephaly, facial dysmorphism, and mild intellectual disability. Clin Dysmorphol 2021; 30(3): 139-141.

5. 黒澤健司 遺伝学的検査 小児保健ガイドブック 診断と治療社 秋山千枝子、五十嵐隆、岡岡、平岩幹夫編集 p197-200. 2021.4.22.

6. Wakabayashi T, Fukumura S, Takahashi S, Kurosawa K, Miyamoto S, Tsuchida K, Kato S, Tsugawa T, Sakai Y, Kawasaki Y. Stereotyped upper limb movement in MECP2 duplication syndrome. Neurology 2021; 97: 92-94,

2. 学会発表

1. 黒澤健司 榎本友美 鶴崎美徳 SET および SPTAN1 を含む 9q34.11 欠失症候群は地歴障害と特徴的顔貌を示す 第 61 回日本先天異常学会学術集会 2021.8.7-8. 東京 ウェブ ポスター

2. 高橋悟、竹口諒、田中亮介、黒田真実、鈴木菜生、発達性てんかん性脳症 CDKL5 欠損症における変異アレル頻度と臨床像との関係、日本てんかん学会第 28 回北海道地方会、2022 年 2 月 19 日 (札幌市、オンライン開催) .

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

MECP2 重複症候群患者家族会との交流会 (2021 年 10 月 10 日) を開催した (オンライン)。シンポジウム開催を 2022 年 2 月 27 日開催した (オンライン)。FOXP1 症候群家族会との交流会と CDKL5 症候群家族会との交流会 (2021 年 12 月 5 日) をオンラインで行った。

(資料 1)

FOXG1 症候群 診断基準 (案)

この疾患群は、14 番染色体にある FOXG1 遺伝子異常に基づく疾患であり、FOXG1 欠損症候群と FOXG1 重複症候群がある。両疾患の症状は異なるので、FOXG1 欠損症候群と FOXG1 重複症候群は個別に扱う。

①FOXG1 欠損症候群

除外基準

原因が明らかな脳障害 (周産期の脳損傷、神経代謝性疾患、感染による脳炎・脳症など)

主項目

1. 運動発達の遅れ (2 歳までに独歩できない)
2. 言語発達の遅れ (有意語の表出ない)
3. 常同性のある不随意運動 (上肢の激しい不規則な動き/反復する舌突出/手を口に入れる)
4. 1 歳までに明らかとなる小頭症
5. 特徴的な頭部 MRI 所見 (脳梁低形成ないし欠損/前頭葉低形成/髄鞘化遅延/単純脳回)

副項目

1. てんかん
2. 筋緊張低下
3. 視力障害、眼球運動障害 (斜視、眼振)
4. 睡眠障害 (中途覚醒して泣き止まないなど)
5. 小奇形 (口蓋裂、軸後性多趾症、指趾癒合など)

検査

14 番染色体上の FOXG1 遺伝子領域の配列異常あるいは構造異常。(染色体検査、サンガー・シーケンス検査、MLPA 法、アレイ CGH 検査)。

診断

確定診断：主要項目全て + 副項目のうち 3 項目以上、および FOXG1 遺伝子検査で異常を認めたもの。

疑い診断：主要項目全て + 副項目のうち 3 項目以上。

②FOXG1 重複症候群

FOXG1 重複症候群の症状は、乳児期早期からの重度から中等度の発達障害及び言語発達障害をきたし、West 症候群を主とした難治性てんかん、睡眠中に中途覚醒して泣き止まないなどをみる。これらの症状は非特異的で難治

性てんかんを有する発達障害患者に広範にみられるものである。FOXG1 重複症候群に特徴的な症状群を見出すことが困難であるために、遺伝子診断による確定診断に依らざるを得ない。

検査

14 番染色体上の FOXG1 遺伝子領域の配列異常あるいは構造異常。(染色体検査、サンガー・シーケンス検査、MLPA 法、アレイ CGH 検査)。

診断

確定診断： FOXG1 遺伝子検査で量的異常を認めたもの。

参考文献

1. Hettige NC, Ernst C. *Front Pediatr.* 2019;7:482.
2. Seltzer LE, et al. *Epilepsia.* 2014;55(8):1292-300.
3. Pontrelli G, et al. *Pediatr Neurol.* 2014;50(5):530-5.
4. Florian C, et al. *Mol Syndromol.* 2012;2(3-5):153-163.
5. Brunetti-Pierri N, et al. *Eur J Hum Genet.* 2011;19(1):102-7.
6. Wong LC, et al. *Int J Mol Sci.* 2019 Aug;20(17):4176.

(資料2)

FOXG1 症候群 推定患者数

推計患者数	標準誤差	患者数の 95%信頼区間	
35.07526882	5.034233552	25.21	44.94
3.649122807	0.524749768	2.62	4.67
38.72439162	5.55898332	27.83	49.61

(資料3)

CDKL5 症候群 診断基準 (案)

この疾患群は、Xp22 にある CDKL5 遺伝子異常に基づく疾患で、CDKL5 欠損症候群と CDKL5 重複症候群がある。両疾患の症状は大きく異なるので、CDKL5 欠損症候群と CDKL5 重複症候群は個別に扱う。

①CDKL5 欠損症候群

除外基準

原因が明らかな脳障害 (周産期の脳損傷、神経代謝性疾患、感染による脳炎・脳症など)

主項目

1. 運動発達の遅れ (生後早期からの)
2. 知的発達の遅れ (中等度～重度)
3. 乳児期発症難治性てんかん (1 歳未満)
4. 筋緊張低下
5. 手の巧緻性、手操作の遅れ
6. 常同運動 (指しゃぶり、足組みなど)
7. 視覚障害 (固視・追視なし、眼振)

副項目

1. 嚥下・摂食障害
2. 脳に構造的異常なし (画像: CT あるいは MRI)
3. 睡眠障害 (夢中遊行症、入眠障害、覚醒障害、睡眠時呼吸障害、過眠ないし日中の過度の眠気)
4. 消化器症状 (便秘、胃食道逆流、呑気)
5. 呼吸器症状 (無呼吸・過呼吸)
6. 小頭

検査

X 染色体上の CDKL5 遺伝子領域の配列異常あるいは構造異常。(染色体検査、サンガー・シーケンス検査、MLPA 法、アレイ CGH 検査)。

診断

確定診断: 主要項目のうち 6 項目以上、および CDKL5 遺伝子検査で配列異常を認めたもの。

疑い診断: 主要項目のうち 6 項目以上 + 副項目のうち 3 項目以上。

参考文献

1. Data source: International CDKL5 Disorder Database
2. Heather E. et al. *Pediatr Neurol* 2019;97:18-25 (Review)
3. Jakimiec M, et al. *Brain Sci* 2020;10:107 (Review)
4. Fehr S, et al. *J Neurodev Disord* 2015;7:2
5. Demarest ST, et al. *Epilepsia* 2019;60:1733-174
6. Szafranski P, et al. *Eur J Hum Genet* 2015;23(7):915-21.

(資料4)

CDKL5 症候群 推定患者数

推計患者数	標準誤差	患者数の95%信頼区間	
57.62365591	4.586442225	48.63	66.51
9.122807018	3.201655199	2.948	15.39
70.72839506	6.625486108	51.57	81.90