

学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	上村 淳一
<p>学位論文題目</p> <p>Identification of eight novel <i>NSDI</i> mutations in Sotos syndrome (ソトス症候群における8個の新規<i>NSDI</i>遺伝子変異の同定)</p> <p>共著者</p> <p>遠藤淑恵、黒滝直弘、木下晃、三宅紀子、霜川修、原田直樹、R Visser、大橋博文、宮川公子、J Grritsen、A M Innes、L Lagace、M Frydman、岡本伸彦、R Puttinger、S Raskin、B Resic、V Culic、吉浦孝一郎、太田亨、木住野達也、石川睦男、新川詔夫、松本直通</p> <p>Journal of Medical Genetics 掲載予定 (平成15年5月 accept)</p> <p>研究目的</p> <p>ソトス症候群 (以下SoS) は、脳性巨人症とも呼ばれ、骨年齢の促進を伴う小児期の著明な過成長、精神発達遅滞、特徴的な顔貌を主徴とする先天性奇形症候群である。1964年にSotosらが報告して以来、文献上300例以上の報告がある。遺伝形式は常染色体優性遺伝に分類され、罹患率はおよそ出生1万~2万人に1人と推定されている。2002年にSoSの主要原因は5q35に位置する<i>NSDI</i>遺伝子のハプロ不全であることが明らかになり、<i>NSDI</i>遺伝子を含む染色体微細欠失および同遺伝子の点変異が現在までに多数報告されている。日本人症例の報告では、約半数に微細欠失を認め、点変異は10%程度であるのに対し、異なる研究者によるイギリス人症例の報告では微細欠失は6%のみで58%が点変異症例であり、頻度が大きく異なっている。本研究では<i>NSDI</i>遺伝子点変異に関する新たな知見を得るため、蛍光<i>in situ</i>ハイブリダイゼーション (FISH) 解析によって<i>NSDI</i>遺伝子の微細欠失が同定されなかった30人のSoS患者において<i>NSDI</i>遺伝子の点変異解析を施行した。</p>			

材 料 ・ 方 法

対象患者は、共同研究者の協力のもとに収集した13人の日本人患者および17人の非日本人患者である。24人は孤発症例で、6人（3家系）は家族症例であった。長崎大学ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査委員会の承認を受けた後、インフォームド・コンセントを得て採取した患者血液試料から核DNAを抽出し、材料とした。NSDI遺伝子の塩基配列情報を用いて、イントロン境界領域を含む23個のエキソン領域をカバーする複数のプライマー対を設計し、PCR増幅を行った。PCR産物を精製後、ABI3100オートシーケンサーを用いたサイクルシーケンス法で塩基配列を決定し、これを野生型の塩基配列と比較して異常の有無を確認した。詳細な臨床情報の得られた症例については、（1）特徴的な顔貌異常の存在、（2）精神発達遅滞：IQまたはDQ<80、（3）過成長のエピソード：身長および体重>+2SDの3項目で臨床症状の評価を行った。

成 績

30例のうち8例（27%）にそれぞれ異なる新規NSDI遺伝子点変異を同定し、それらはいずれもヘテロ接合性変異であった。挿入が1例（4769insT）、欠失3例（1807delT、2053-2057del、3273delT）、ナンセンス変異が4例（1130G→A：W377X、3886A→T：K1296X、3964C→T：R1322X、5229G→A：W1743X）で、全てタンパクの切断をきたすことが予測された。8例中3例は両親の解析を行い*de novo*の変異であることを確認した。家族例は1症例のみ変異を同定したが、同一家系の患者である父親に変異を認めず、他の2家系は全ての患者に変異が認められなかった。解析を行った30例中臨床症状の評価が可能であった症例は22例で、そのうち変異を認めた7例はいずれも3項目の基準を満たしていたのに対し、変異を認めなかった15例中9例は1項目または2項目の基準を満たさない症例で、変異を認めなかった家族症例のうち3例がこの中に含まれていた。

考 案

同定した8種類の点変異はエキソン4からエキソン15にかけて存在し、以前に報告された点変異を含め変異のホットスポットの存在は示さなかった。点変異の頻度は日本人症例が23%（13例中3例）、非日本人症例は29%（17例中5例）で大きな差は認めなかった。

臨床症状の評価から、変異を認めなかった22症例（73%）はソトス症候群の非典型例が多く含まれている可能性が示唆され、一方で変異を認めた症例は臨床症状と強い相関を認めたことから、*NSDI*遺伝子の変異解析がSoSの診断精度の向上および他の過成長症候群との鑑別に有用であることが強く示唆された。特にSoSの主要症状である過成長のエピソードは一般に出生前から小児期に顕著で、成人になると正常化する傾向が指摘されており、成人のSoS症例における*NSDI*遺伝子変異解析の診断上の意義は大きいと考える。頻度は異なるが、以前の報告でも変異の認められない症例が少なからず存在することから、今後は遺伝的異質性の存在を含めた遺伝学的検索も必要であろう。臨床診断の精度の問題だけでなく、転写に影響を及ぼすイントロン変異や、プロモーター領域の変異など、通常の方法では同定できない領域に変異が存在している可能性もある。

これまで同一家系患者に共通の点変異が数家系で報告されているが、SoS症例のほとんどは孤発症例であり、家族症例の報告は少ない。複数の症例で妊孕能の低下が指摘されており、今後検討すべき課題である。

結 論

本研究により、SoS患者における*NSDI*遺伝子点変異の新たなデータが付加された。本結果は、今後のSoS発症機構の解明、*NSDI*遺伝子の構造や機能解析、およびSoS診断の精度の向上に貢献できるものと考えている。

引用文献




1. Sotos JF, Dodge PR, Muirhead D, Crawford JF, Talbot NB. Cerebral gigantism in childhood: a syndrome of excessively rapid growth with acromegalic features and non progressive neurologic disorder. *New England Journal of Medicine* 271卷 109-116 1964年
2. Kurotaki N, Imaizumi K, Harada N, Masuno M, Kondoh T, Nagai T, Ohashi H, Naritomi K, Tsukahara M, Makita Y, Sugimoto T, Sonoda T, Hasegawa T, Chinen Y, Tomita Ha HA, Kinoshita A, Mizuguchi T, Yoshiura Ki K, Ohta T, Kishino T, Fukushima Y, Niikawa N, Matsumoto N. Haploinsufficiency of *NSD1* causes Sotos syndrome. *Nature Genetics* 30卷 365-366 2002年
3. Douglas J, Hanks S, Temple IK, Davies S, Murray A, Upadhyaya M, Tomkins S, Hughes HE, Cole TR, Rahman N. *NSD1* mutations are the major cause of Sotos syndrome and occur in some cases of Weaver syndrome but are rare in other overgrowth phenotypes. *American Journal of Human Genetics* 72卷 132-143 2003年

参考論文

1. Cole TR, Hughes HE. Sotos syndrome: a study of the diagnostic criteria and natural history. *Journal of Medical Genetics* 31卷 20-32 1994年
2. Opitz JM, Weaver DW, Reynolds JF, Jr. The syndromes of Sotos and Weaver: reports and review. *American Journal of Medical Genetics* 79卷 294-304 1998年

3. Kurotaki N, Harada N, Yoshiura K, Sugano S, Niikawa N, Matsumoto N. Molecular characterization of *NSD1*, a human homologue of the mouse *Nsd1* gene. *Gene* 279巻 197-204 2001年
4. Imaizumi K, Kimura J, Matsuo M, Kurosawa K, Masuno M, Niikawa N, Kuroki Y. Sotos syndrome associated with a de novo balanced reciprocal translocation t(5;8)(q35;q24.1). *American Journal of Medical Genetics* 107巻 58-60 2002年
5. Hoglund P, Kurotaki N, Kytola S, Miyake N, Somer M, Matsumoto N. Familial Sotos syndrome is caused by a novel 1 bp deletion of the *NSD1* gene. *Journal of Medical Genetics* 40巻 51-54 2003年

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士 (医学)	氏 名	上村 淳一
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p>審査委員長</p> <p>藤 坂 寛</p> </div> <div style="text-align: center;">  </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;"> <p>審査委員</p> <p>塩 野 寛</p> </div> <div style="text-align: center;">  </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;"> <p>審査委員</p> <p>石 川 隆 男</p> </div> <div style="text-align: center;">  </div> </div>			
<p>学 位 論 文 題 目</p> <p>Identification of eight novel <i>NSD1</i> mutations in Sotos syndrome. (ソトス症候群における 8 個の新規 <i>NSD1</i> 遺伝子変異の同定)</p>			
<p>ソトス症候群は、脳性巨人症とも呼ばれ、骨年齢の促進を伴う小児期の著明な過成長、精神発達遅滞、特徴的な顔貌を主徴とする先天性奇形症候群である。遺伝形式は常染色体優性遺伝であり、罹患率はおよそ出生 1 万～2 万人に 1 人と推定されている。2002 年に本症の主要原因は 5q35 に位置する <i>NSD1</i> 遺伝子のハプロ不全であることが明らかにされ、<i>NSD1</i> 遺伝子を含む染色体微細欠失および同遺伝子の点変異が現在まで多数報告されている。遺伝子異常に関して人種差が存在し、日本人では微細欠失の頻度が高く、欧米人では点変異の頻度が高いことが報告されている。本論文の研究目的は、<i>NSD1</i> 遺伝子点変異に関して新たな知見を得るために微細欠失が同定されない症例を対象に点変異の同定を試みた。</p>			

論文提出者らは、その解明のために蛍光 in situ ハイブリダイゼーション解析によって *NSD1* 遺伝子の微細欠失が同定されない 30 症例(13 人の日本人患者、17 人の非日本人患者；24 人の孤発例、6 人(3 家系)の家族例)を対象に点変異の有無を PCR-ダイレクトシーケンス法にて解析し、8 つの新規の遺伝子変異を同定した。同定した変異は挿入変異が 1 例、欠失変異が 3 例、ナンセンス変異が 4 例である。変異の有無と臨床症状との関係を解明するために、1)特徴的な顔貌異常の存在、2)精神発達遅滞：IQ または $DQ < 80$ 、3)過成長のエピソード：身長および体重 $> +2SD$ の 3 項目の臨床症状を指標として検討したところ、評価が可能であった 22 例中変異を認めた 7 例ではいずれも 3 項目の基準を満たしていた。しかし変異を認めなかった 15 例中 9 例では 1 項目または 2 項目の基準しか満たさない症例であることが明らかにされた。これらの結果は、変異を認めない症例には本症の非典型例が多く含まれていること、一方変異を認めた症例では臨床症状と強い相関が認められることから、*NSD1* 遺伝子の変異解析がソトス症候群の診断精度の向上および他の過成長症候群との鑑別に有用であることを示唆した。

本論文はソトス症候群における *NSD1* 遺伝子点変異に新たなデータを付加するとともに、また今後の本症の発症機構の解明、*NSD1* 遺伝子の構造や機能解析、および本症診断精度の向上に貢献できる結果を与えたものと言える。

なお、論文提出者に対し、本論文及び関連分野に関する試問を行い適切な解答が得られた。従って、本論文は学位論文に値するものと判断した。