

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：35309

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09607

研究課題名(和文)メビウス症候群の病因解明と病態解明のための基盤整備

研究課題名(英文)Clinical and molecular genetic study of elucidation of a cause of Moebius syndrome

研究代表者

升野 光雄(MASUNO, Mitsuo)

川崎医療福祉大学・医療福祉学部・教授

研究者番号：00389024

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：1. メビウス症候群不全型の中樞神経画像を含めた臨床像の確立：メビウス症候群不全型(incomplete form)とは外転神経麻痺を伴わない以外、メビウス症候群と類似の所見を示す症候群と定義し、両側顔面神経麻痺を呈する4例の臨床像、中枢画像所見を明らかにした。

2. メビウス症候群の候補責任遺伝子探索：全エクソーム解析をメビウス症候群典型例9例(トリオ解析6家系を含む)、不全型(単胎)2例を含む非典型例7例(トリオ解析4家系を含む)に行ったが、責任遺伝子同定には至っていない。非典型例2例にメディカルエクソーム解析を行い、各々にTUBB3既報告変異とCHD7未報告変異を検出した。

研究成果の概要(英文)：1. Identification of an incomplete form of Moebius syndrome: We present 4 patients with an incomplete form of Moebius syndrome, characterized by congenital bilateral facial nerve paralysis and other cranial nerves involvements without abducens nerve paralysis. Cranial MRI of the patients showed hypoplasia of the brainstem and facial nerves but normal abducens nerves.

2. Genomic analyses on the patients with Moebius syndrome: Whole exome sequencing analyses were performed on 9 patients with typical Moebius syndrome, 2 patients with an incomplete form of Moebius syndrome, and 5 patients with atypical Moebius syndrome. No candidate gene responsible for Moebius syndrome has been identified. Medical exome sequencing analyses performed on 2 patients with atypical Moebius syndrome revealed a de novo known TUBB3 mutation and a de novo novel CHD7 mutation, respectively.

研究分野：小児科

キーワード：メビウス症候群 ゲノム解析 病因

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) はじめに

メビウス症候群は先天性・非進行性顔面神経麻痺および先天性・非進行性外転神経麻痺（片側性も含む）を特徴とし、他の脳神経麻痺や四肢形態異常を伴うこともある。

生後間もなく呼吸障害を生じる例から、顔面神経麻痺と外転神経麻痺に限局される例まで症状には幅がある。多くは孤発例であるが、30家系ほどの家族例の報告がある。原因は不明で、脳幹（菱脳）の発生障害と考えられている。原因として胎生期の血流障害や遺伝要因が推定されているが、根本的治療法の開発には病因解明が不可欠である。遺伝子座は、染色体相互転座例から 13q12.2-q13、1p22 が推定されている。

### (2) メビウス症候群の診断基準および自然歴に基づく健康管理指針作成

研究代表者らは、①全国基幹病院の新生児科・小児科を過去5年間に受診した症例の調査により、27例の臨床像と医療管理の実態を検討した。呼吸・嚥下障害をはじめとし合併症は多岐にわたり、重症で比較的均一な臨床像を示す例が多いこと、NICU入院例では死亡例（2例）もあること（*Pediatr Neurol* 51:781-789, 2014）、外転神経麻痺を欠く不全型（7例）も少なからず存在することを明らかにした。②研究分担者の小児専門医療機関受診例から発生頻度は少なくとも8万出生に1人と推定した。③さらに日本小児遺伝学会の承認を得た診断基準を公表し、健康管理指針を作成した。④患者生体試料の収集と保存（リンパ芽球様細胞株7例、培養皮膚線維芽細胞1例、ゲノムDNA19例）による将来の病態解明・治療法開発への基盤も整備した。

### (3) メビウス症候群のゲノム解析

研究代表者と研究分担者は、これまでに責

任遺伝子の同定に向けて、①19例で全ゲノムアレイ CGH 解析によるスクリーニングを終え、有意なゲノムコピー数異常は認めていない。②さらに、メビウス症候群類縁疾患である Congenital cranial dysinnervation disorders で確認されている8個の責任遺伝子とその関連遺伝子を GenomeNet で検索して選定した、計52候補遺伝子を HaloPlex・次世代シーケンサー（ターゲットシーケンス）で17例解析したが、病因変異を認めていない。

[平成23年度-平成25年度 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）メビウス症候群の自然歴に基づく健康管理指針作成と病態解明]

## 2. 研究の目的

(1) メビウス症候群不全型の中枢神経画像を含めた臨床像の確立

(2) メビウス症候群候補責任遺伝子の解明

## 3. 研究の方法

(1) メビウス症候群不全型の中枢神経画像を含めた臨床像の確立

メビウス症候群は先天性・非進行性顔面神経麻痺および先天性・非進行性外転神経麻痺（片側性も含む）を特徴とし、他の脳神経麻痺を伴うこともある。メビウス症候群不全型（incomplete form）とは外転神経麻痺を伴わない以外、メビウス症候群と類似の所見を示す症候群と定義し、両側顔面神経麻痺を呈する4例の臨床像、中枢神経MRI（CISS法による顔面神経・外転神経の形態、脳幹低形成の計測評価）による中枢画像所見を検討した。

(2) メビウス症候群の候補責任遺伝子の探索

① メビウス症候群（典型例）10例（トリオ解析7家系を含む）の全エクソーム解析

② 不全型（単胎）2例の全ゲノムアレイ CGH

解析、52 候補遺伝子ターゲットシーケンス解析

③ 不全型（単胎）2 例を含む非典型例 7 例（トリオ解析 4 家系を含む）の全エクソーム解析

不全型の一卵性二絨毛膜性双胎 2 例では、ともに双胎の 1 方だけの罹患であり、胎生期の血流障害（典型例より遅い 12 週以降）が原因と考えられたため、単胎 2 例のゲノム解析を行った。

④ 非典型例 2 例（トリオ解析 2 家系）のメディカルエクソーム解析

#### 4. 研究成果

(1) メビウス症候群不全型の中脳神経画像を含めた臨床像の確立

対象は男児 1 例、女児 3 例、年齢 1 歳～18 歳、早産児 1 例、一卵性二絨毛膜性双胎 2 例（ともに双胎の 1 方が罹患）。NICU 入院 4 例、Apgar score 5 点以下 3 例、出生時蘇生 3 例、補助呼吸 3 例、哺乳障害 4 例、在宅チューブ栄養 4 例（胃瘻 2 例）、吸引器 4 例、1 例は 1 歳 4 か月時に誤嚥・窒息で死亡した。DQ35 未満は 4 例であった。中脳神経 MRI 画像は thin slice (CISS 法) で評価し、第 7 脳神経は 4 例全例で低形成を認め（両側 2 例、片側 2 例）、第 6 脳神経は 4 例全例で正常であった。脳梁菲薄化 2 例、橋延髄低形成 2 例、延髄低形成 2 例、橋被蓋 T2WI 高信号 1 例、両側視床 T2WI 高信号 1 例であった。

(2) メビウス症候群の候補責任遺伝子の探索

① メビウス症候群（典型例）9 例（トリオ解析 6 家系を含む）の全エクソーム解析により、責任遺伝子同定には至っていない。既報の遺伝子 *PLXND1* と *REV3L* の変異 (*Nat Commun* 6:7199, 2015) も認めなかった。メビウス症候群（典型例）1 例（トリオ解析 1 家系）は全エクソーム解析中である。

② 不全型（単胎）2 例の全ゲノムアレイ CGH

解析、52 候補遺伝子ターゲットシーケンス解析により、責任遺伝子同定には至っていない。

③ 不全型（単胎）2 例を含む非典型例 7 例（トリオ解析 4 家系を含む）の全エクソーム解析により、責任遺伝子同定には至っていない。

④ 非典型例 2 例（トリオ解析 2 家系）のメディカルエクソーム解析により、各々に *TUBB3* 既報告変異と *CHD7* 未報告変異を検出した。特に *TUBB3* 既報告変異例は、顔面神経麻痺と眼球運動障害を伴い、臨床的にメビウス症候群と類似しており、鑑別診断上重要であることが確認された。患児（8 歳）は、顔面神経麻痺、外斜視、遠視があり、上方視は頭を動かして追視する。外転神経麻痺はない。声帯麻痺があり、3 歳まで気管切開し、現在は睡眠時無呼吸があり、在宅酸素療法を行っている。ABR：左 40dB、右 55dB。頭部 MRI：脳梁低形成・部分欠損。3 歳時 DQ は 60。

*TUBB3* 変異は、Congenital fibrosis of the extraocular muscles 3、Tubulinopathy、cortical development malformations and neuronal migration defects などの臨床症状を呈し、メビウス症候群と共通する症状を認める。今回検出された変異は複数の論文で報告されている recurrent 変異である。*TUBB3* はベータ Tubulin タンパクファミリーをコードし、ヘテロダイマーにより微小管 (microtubules) を構成する。その機能は、中脳神経における神経発生や軸索の伸長に関連すると考えられている。今後、メビウス症候群のゲノム解析を進める、あるいは解析データの再評価では微小管構成タンパクないしはそれに関連したタンパクを念頭に置くことが重要かもしれない。

#### <引用文献>

① [Kiyoshi Matsui](#), Ai Kataoka, Atsuko Yamamoto, Koji Tanoue, [Kenji Kurosawa](#), Jun Shibasaki, Makiko Ohyama, [Noriko](#)

Aida: Clinical Characteristics and Outcomes of Möbius Syndrome in a Children's Hospital. *Pediatr Neurol* 51: 781-789, 2014

② 升野 光雄: Möbius 症候群. 別冊 日本臨床 新領域別症候群シリーズ No29, 神経症候群 (第2版) IV-その他の神経疾患を含めて-, 日本臨床社, 大阪, 609-612, 2014

③ Tomas-Roca L, Tsaalbi-Shtylik A, Jansen JG et al: *De novo* mutations in *PLXND1* and *REV3L* cause Möbius syndrome. *Nat Commun* 6:7199, 2015

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 2件)

① Mitsuo Masuno, Kiyoshi Matsui, Koji Tanoue, Noriko Aida, Yuta Fujii, Makiko Ohyama, Jun Shibasaki, Yasuko Yamanouchi, Kenji Kurosawa: Clinical and neuroimaging findings of an incomplete form of Moebius syndrome. The 13th International Congress of Human Genetics, April 4, 2016 in Kyoto, ICHG 2016 program, 110, Mon(2)-P-148

② Yuta Fujii, Noriko Aida, Kumiko Nozawa, Mikako Enokizono, Kiyoshi Matsui, Mitsuo Masuno, Tomio Inoue: Brain imaging analysis in Möbius syndrome. The 15th Annual Meeting of Asian & Oceanic Society for Pediatric Radiology, The 51st Annual Meeting of Japanese Society for Pediatric Radiology, June 12, 2015 in Tokyo, Japan, *Journal of Japanese Society of Pediatric Radiology* 31(Supple.): 83, 2015

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

升野 光雄 (MASUNO, Mitsuo)  
川崎医療福祉大学・医療福祉学部・教授  
研究者番号: 00389024

##### (2) 研究分担者

黒澤 健司 (KUROSAWA, Kenji)  
神奈川県立こども医療センター・遺伝科・部長  
研究者番号: 20277031

##### (3) 連携研究者

相田 典子 (AIDA, Noriko)  
神奈川県立こども医療センター・放射線科・部長  
研究者番号: 20586292

松井 潔 (MATSUI, Kiyoshi)

神奈川県立こども医療センター・総合診療科・部長  
研究者番号: 30601984

##### (4) 研究協力者

藤井 裕太 (FUJII, Yuta)  
神奈川県立こども医療センター・放射線科・医長